

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

MANYETİK BİYOPOLİMERİK NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE  
KARAKTERİZASYONU

TANER BABACAN

Nisan 2020

Kimya Anabilim Dalında Taner BABACAN tarafından hazırlanan MANYETİK BİYOPOLİMERİK NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Sevil ÇETİNKAYA

Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün yeterlilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Doç. Dr. Ayşegül Ülkü METİN

Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan :Doç.Dr. Tayfun ARSLAN

Üye : Doç.Dr. Ayşegül Ülkü METİN

Üye : Doç.Dr. Zülfikar TEMOÇİN

.../.../2020

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

**Sevgili Eşime ve Minik Kızım Zeynep'e**

## ÖZET

### MANYETİK BİYOPOLİMERİK NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

BABACAN, Taner

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Ayşegül Ülkü METİN

Nisan 2020, 73 Sayfa

Bu tez çalışmasında, nano boyutta manyetik özellikteki kitosan-aşı-poli(glisidil metakrilat) partikülleri radikalik polimerizasyon yöntemi ile sentezlendi ve yapısal ve morfolojik özellikleri FTIR, SEM-EDS, VSM, XRD ve TGA yöntemleri ile aydınlatıldı. Daha sonra, manyetik özellikteki nanopartiküller iki farklı yol kullanılarak anyonik boyaların (RR-120 ve IC) giderilmesinde kullanıldı. İlk bölümde, manyetik nanopartikül yapısındaki fonksiyonel epoksi grubu 1,6-diaminohekzan kullanılarak amin gruplarına dönüştürüldü ve adsorpsiyon yolu ile anyonik boyaların uzaklaştırılmasında etkinliği araştırıldı. Adsorpsiyon koşullarının (pH, adsorpsiyon denge süresi, iyonik şiddet, sıcaklık, başlangıç boya derişimi gibi) manyetik nanopartiküllerin boyaları adsorplama performansına etkisi incelendi. Bununla birlikte, adsorpsiyon kinetiği ve izoterm modeli ile manyetik nano partiküllerin yeniden kullanılabilirliği gibi parametreler de belirlendi.

Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidil metakrilat) nanopartiküllerinin RR-120 ve IC için maksimum adsorpsiyon kapasiteleri sırası ile pH 5.0 ve 3.0'de 241 mg/g ve 185 mg/g olarak belirlendi. Manyetik nanopartiküllerin adsorpsiyon kapasitesinde önemli bir azalma olmadan adsorpsiyon-desorpsiyon işlem döngülerinde yeniden kullanılabilir olduğu belirlendi.

Tez çalışmasının ikinci bölümünde, manyetik kitosan-aşı-poli(glisidil metakrilat) nanopartiküllerinin, *m*CHT-PGMA, epoksi grupları EDA kullanılarak amin gruplarına dönüştürüldü. Lakkaz enzimi, GA kullanılarak kovalent bağlanma yöntemi ile immobilize edildi ve immobilize edilen enzim miktarı  $70 \pm 0,21$  mg/g olarak hesaplandı. İmmobilize enzimin aktivitesine pH ve sıcaklık gibi parametrelerin etkisi belirlenerek, serbest enzim ile karşılaştırıldı ve lakkaz immobilize *m*CHT-PGMA nanoküreleri RR-120 ve IC boyalarının giderilmesinde kullanıldı.

**Anahtar Kelimeler:** Manyetik Nanopartikül, Kitosan, Aşı Kopolimer.

## ABSTRACT

### SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MAGNETIC BIOPOLYMERIC NANOPARTICLES

BABACAN, Taner

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Chemistry, Master's Thesis

Advisor: Assoc. Prof. Dr. Ayşegül Ülkü METİN

Nisan 2020, 73 Pages

In this thesis, nano-size magnetic chitosan-graft-poly (glycidyl methacrylate) particles were synthesized by radical polymerization method and determined structural and morphological properties by FTIR, SEM-EDS, VSM, XRD and TGA methods. Then, magnetic nanoparticles were used to remove anionic dyes (RR-120 and IC) using two different ways. In the first part, the functional epoxy groups of the magnetic nanoparticles were converted into amine groups using 1,6-diaminohexane and its effectiveness was investigated in removing anionic dyes by adsorption. The effect of adsorption conditions (such as pH, adsorption equilibrium time, ionic strength, temperature, initial dye concentration) on adsorption performance of magnetic nanoparticles were examined. However, parameters such as adsorption kinetics and isotherm model and reusability of magnetic nanoparticles were also determined. Maximum adsorption capacities of magnetic chitosan-graft-poly (glycidyl methacrylate) nanoparticles for RR-120 and IC were determined as 241 mg/g and 185 mg/g at pH 5.0 and 3.0, respectively. It was determined that the magnetic nanoparticles can be reused in adsorption-desorption process cycles without a significant reduction in its adsorption capacity.

In the second part of the thesis, magnetic chitosan-graft-poly (glycidylmethacrylate) nanoparticles, *m*CHT-PGMA, epoxy groups were converted into amine groups using EDA. The laccase enzyme was immobilized by the covalent bonding method using GA and the amount of immobilized enzyme was calculated to be  $70 \pm 0.21$  mg / g. The effect of parameters such as pH and temperature on the activity of the immobilized enzyme was determined and compared with the free enzyme. The laccase enzyme immobilized *m*CHT-PGMA nanoparticles was used to degrade RR-120 and IC dyes.

**Keywords:** Magnetic Nanoparticles, Chitosan, Graft Copolymer.



## TEŞEKKÜR

Hazırlamış olduğum bu tez çalışmasının her evresinde baőından sonuna kadar benden desteğini esirgemeyen, çalıőmaya teővik eden, bana faydalı olmak için bilgi birikimini ve deneyimini benden esirgemeyen, benim için elinden gelenin fazlasını yapan ve en önemlisi kendi kurumumdan umudumu kestiğim anda bile benden umudunu kesmeyen çok değerli danışman hocam **Doç. Dr. Ayşegül Ülkü METİN'e** canı gönülden sonsuz teşekkür ederim.

Çalıőmalarım boyunca bilgi ve birikimlerini benden esirgemeyen ve ellerinden gelen yardımı yapmaya hazır olan değerli hocam Gökben KANKILIÇ BAŐARAN ve değerli arkadaőım Araştırma Görevlisi Deniz DOĞAN'a teőekkürlerimi sunarım.

Ayrıca beni yüksek lisans yapmaya yönlendiren ve bana her anlamda destek sağlayan, sürekli yaptığım iőlerde arkamda duran, kendileri ile ilgilenemediğim zamanlarda bile benimle olduğunu bildiğim baőımın tacı olan **Sevgili Eőim Firdevs GÜNGÖR BABACAN'a** ve Minik Kızım **Zeynep'e** sonsuz teşekkür ederim.



İÇİNDEKİLER DİZİNİ	Sayfa
ÖZET .....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR .....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	xii
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Boyar Maddelerin Giderim Yöntemleri.....	4
1.1.1. Adsorpsiyon.....	4
1.1.2. Kitosan.....	5
1.1.3. Manyetik Nanopartiküller.....	8
1.1.4. Enzimler.....	9
1.1.4.1. Enzim İmmobilizasyon Yöntemleri.....	10
1.1.4.2. Lakkaz Enzimi.....	12
1.2. Literatür Özeti.....	12
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	15
2.1.Materyaller.....	15
2.1.1. Kimyasal Malzemeler.....	15
2.1.2. Cihazlar.....	15
2.1.2.1.UV-VIS Spektrofotometre.....	15
2.1.2.2.FT-IR Sepktrofotometre.....	16
2.1.2.3.Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	16
2.1.2.4.Termogravimetrik Analiz (TGA).....	16
2.1.2.5. Titreşimli örnek Manyetometrisi (VSM).....	16
2.1.2.6.X-Işını Difraktometresi(XRD).....	16
2.1.2.7.Kullanılan Diğer Cihazlar.....	16

2.2.YÖNTEM.....	:16
2.2.1. Manyetik poli(glisidil metakrilat)-aşı-kitosan	
Nanopartiküllerinin Sentezi .....	:16
2.2.1.1Manyetik poli(glisidil metakrilat)-aşı-kitosan	
nanopartiküllerinin Modifikasyonu.....	:17
2.2.2. Manyetik poli(glisidil metakrilat)-aşı-kitosan	
Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu.....	:18
2.2.2.1.Partikül Boy ve Boyut Dağılımı Tayini .....	:18
2.2.2.2.Aşılama Verimliliği .....	:18
2.2.2.3. FT-IR Spektrumu .....	:19
2.2.2.4.Amin Grubu Tayini .....	:19
2.2.2.5.Manyetik poli(glisidil metakrilat)-aşı-kitosan	
Nanopartiküllerinin Titreşimli Örnek Manyotometri	
(VSM) Analizi.....	:20
2.2.2.6.Manyetik poli(glisidil metakrilat)-aşı-kitosan	
Nanopartiküllerinin XRD analizi.....	:20
2.2.2.7.Manyetik poli(glisidil metakrilat)-aşı-kitosan	
Nanopartiküllerinin TGA analizi.....	:20
2.2.3. Boya Adsorpsiyon Çalışmaları.....	:20
2.2.3.1.pH Etkisi .....	:21
2.2.3.2.Zamanın Etkisi .....	:21
2.2.3.3.İyonik Şiddet Etkisi .....	:21
2.2.3.4.Başlangıç Boya Konsantrasyonu Etkisi .....	:22
2.2.3.5.Sıcaklığın Etkisi .....	:22
2.2.3.6.Adsorpsiyon İzotermi .....	:22
2.2.3.7.Adsorpsiyon Kinetikleri.....	:23
2.2.3.8.Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirlik .....	:24
2.2.4. Enzimatik Degredasyon ile Boya Giderimi Çalışmaları.....	:24
2.2.4.1.Serbest ve İmmobilize Lakkazın Aktivite Analizleri.:24	
2.2.4.2.Enzim Kinetiği.....	:25
2.2.4.3.Boya Degredasyon Çalışmaları.....	:25

3. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	:26
3.1. Manyetik Polimerik Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu.....	:28
3.1.1. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektrumu.....	:28
3.1.2. Taramalı Elektron Mikroskop (SEM) Analizi.....	:29
3.1.3. X-Işınları Kırınımı (XRD) Analizi.....	:30
3.1.4. Termogravimetrik Analiz (TGA).....	:31
3.1.5. Titreşimli Örnek Manyetometre (VSM) Analizi.....	:32
3.1.6. Partikül Boyut Dağılımı Analizi.....	:34
3.2. Anyonik Boya Adsorpsiyonu.....	:35
3.2.1. pH Etkisi.....	:35
3.2.2. Adsorbent Miktarının Etkisi.....	:37
3.2.3. Başlangıç Boya Derişimin Etkisi ve İzoterm Modelleri.....	:38
3.2.4. İyonik Şiddetin Etkisi.....	:41
3.2.5. Adsorpsiyon Süresinin Etkisi ve Kinetik Modeller.....	:42
3.2.6. Sıcaklığın Etkisi ve Termodinamik Hesaplamalar.....	:45
3.2.7. Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirlik.....	:47
3.3. Lakkaz İmmobilize m-CHT-PGMA Naopartikülleri ile Anyonik Boya Giderimi.....	:49
3.3.1. İmmobilize Enzimin Karakterizasyonu.....	:50
3.3.1.1. İmmobilize Enzimin Aktifliğine pH'ın Etkisi.....	:50
3.3.1.2. İmmobilize Enzimin Aktifliğine Sıcaklığın Etkisi.....	:51
3.3.1.3. Enzim Kinetiği.....	:52
3.3.1.4. Depolama Kararlılığı.....	:53
3.3.2. İmmobilize Lakkaz ile Boya Degredasyonu.....	:53
3.3.2.1. Boya Giderimi Üzerine Zamanın Etkisi.....	:54
3.3.2.2. Boya Konsantrasyonunun Etkisi.....	:55
4. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	:56
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>:60</b>

## ÇİZELGELER DİZİNİ

TABLO 3.1. RR-120 ve IC adsorpsiyonu izoterm modellerinden elde edilen sabitler.....	:41
TABLO 3.2. Birinci ve İkinci mertebe kinetik eşitliklere ait sabitler.....	:44
TABLO 3.3. Termodinamik Sabitler.....	:47



## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Kitinin moleküler yapısı.....	6
Şekil 1.2. Kitosanın moleküler yapısı.....	6
Şekil 1.3. Enzim İmmobilizasyon Teknikleri.....	10
Şekil 2.1. Reaktif Kırmızı 120 ve İndigokarmin Anyonik Boyalarının Moleküler Yapıları.....	20
Şekil 3.1. Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidilmetakrilat) nanopartiküllerinin sentezi (a) ve önerilen kopolimerizasyon reaksiyon mekanizması (b).....	26
Şekil 3.2. Glisidilmetakrilat (GMA) miktarının aşılama verimliliğine etkisi.....	27
Şekil 3.3. <i>m</i> CHT-PGMA nanopartiküllerinin FTIR Spektrumu.....	29
Şekil 3.4. <i>m</i> CHT-PGMA nanopartiküllerinin farklı büyütmelede Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüleri (a-b), Enerji dağılımlı X-ışını haritası (c) ve spektrumu (EDS) (d).....	30
Şekil 3.5. <i>m</i> CHT-PGMA nanopartiküllerinin X-ışını Kırınım Deseni .....	31
Şekil 3.6. <i>m</i> CHT-PGMA nanopartiküllerinin Termogramı.....	32
Şekil 3.7. <i>m</i> CHT-PGMA nanopartiküllerinin Titreşimli Örnek Manyetometresi (VSM).....	33
Şekil 3.8. <i>m</i> CHT-PGMA nanopartiküllerinin boyut dağılım grafiği.....	34
Şekil 3.9. Adsorpsiyon çözeltisinin pH değerinin RR-120'nin adsorplanma miktarına etkisi (Başlangıç boya derişimi: 50 mg/L; adsorbent miktarı: 50 mg; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat).....	36
Şekil 3.10. pH değerinin <i>m</i> CHT-PGMA ve <i>m</i> CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin IC adsorpsiyon kapasitesine etkisi (Başlangıç boya derişimi: 10 mg/L; adsorbent miktarı: 50 mg; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat).....	37
Şekil 3.11. Adsorbent miktarının etkisi (Başlangıç boya derişimi: 50mg/L; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi:4 saat; pH: RR-120 için 5.0 IC için 3.0).....	38

Şekil 3.12. Başlangıç boya derişiminin etkisi (Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi:4 saat; pH: RR-120 için 5.0 IC için 3.0; Adsorbent Miktarı:150mg).....	39
Şekil 3.13. İyonik şiddetin etkisi (Başlangıç boya derişimi:25mg/L; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi:4 saat; pH: RR-120 için 5.0 IC için 3.0; Adsorbent Miktarı:150mg).....	42
Şekil 3.14. RR-120 adsorpsiyon kapasitesine zamanın etkisi (Çözelti Hacmi:25 ml; pH: 5.0; Adsorbent Miktarı:150mg).....	42
Şekil 3.15. IC adsorpsiyon kapasitesine zamanın etkisi (Çözelti Hacmi:25 ml; pH: 3.0; Adsorbent Miktarı:150mg).....	43
Şekil 3.16. Sıcaklığın adsorpsiyon kapasitesine etkisi (Başlangıç Boya Derişimi: 50mg/L; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi:4 saat; pH: RR-120 için 5.0 IC için 3.0; Adsorbent Miktarı:150mg).....	46
Şekil 3.17. <i>m</i> CHT-PGMA-DAH NPs'lerinin tekrar kullanılabilirliği ( <b>Adsorpsiyon:</b> Başlangıç Boya Derişimi: 50mg/L; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi:4 saat; pH: RR-120 için 5.0 IC için 3.0; Adsorbent Miktarı:100mg; <b>Desorpsiyon:</b> 0,1M NaCl çözeltisi, 25ml).....	48
Şekil 3.18. <i>m</i> CHT-PGMA-DHA NPs'lerinin desorpsiyon davranışına manyetik alan etkisi ( <b>Desorpsiyon:</b> 0.1 M NaCl çözeltisi, 25ml, Frekans:10KHz, Alan:50mT, Uygulama Süresi:4 saat).....	49
Şekil 3.19. Serbest ve İmmobilize lakkaz enziminin aktivitesine pH'ın etkisi.....	51
Şekil 3.20. Serbest ve immobilize lakkaz enziminin aktivitesine sıcaklığın etkisi....	52
Şekil 3.21. Serbest ve immobilize enzimin Depolama Kararlılığı.....	53

Şekil 3.22. Reaksiyon süresinin immobilize lakkazın boya giderimine etkisi  
(Koşullar: Boya Derişimi 10 mg/L, 25ml, pH6.0, 14 µg immobilize enzim içeren  
*m*CHT-PGMA-EDA-Lac nanopartikül, Sıcaklık 37°C)  
.....:54

Şekil 3.23. Boya konsantrasyonunun immobilize lakkazın boya giderimine etkisi  
(Koşullar: 25 ml boya çözeltisi, pH 6.0, 14 µg immobilize enzim içeren *m*CHT-  
PGMA-EDA-Lac nanopartikül, Sıcaklık 37°C, reaksiyon süresi 5 saat).....:56



## SİMGELER DİZİNİ

R	:Gaz Sabiti
T	:Sıcaklık
K	:Denge Sabiti

## KISALTMALAR DİZİNİ

CHT	: Kitosan
GMA	: Glisidil Metakrilat
EDA	: Etilen Diamin
GA	: Glutaraldehit
DAH	: Diaminoheksan
( <i>m</i> CHT-PGMA)	: Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidil metakrilat)
NPs	: Nanopartiküller
RR 120	: Reaktif Kırmızı 120
IC	: İndigokarmin
ml	: Mililitre
g	: Gram
µg	: Mikrogram
°C	: Santigrat Derece
KPS	: Potasyum Persülfat
XRD	: X-Işınları Toz Difraksiyonu
FTIR	: Fourier Dönüşüm Kızılötesi Spektroskopisi
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TGA	: Termal Gravimetrik Analiz
VSM	: Titreşimli Örnek Manyetometresi



## 1. GİRİŞ

Hızla artan dünya nüfusuna paralel olarak oluşan hava, su ve toprak kirliliği canlı hayatını tehdit edecek boyutlara ulaşmıştır. Endüstriyel ve evsel atıklardan dolayı çevreye yayılan kirleticiler arasında olan ağır metal iyonları ve reaktif boyalar ciddi bir çevre kirliliğine yol açmakta ve her türlü canlı organizmaya etki ederek kısa ve uzun dönemde çevreyle ilgili, fizyolojik ve ekonomik sorunların ortaya çıkmasına yol açmaktadır. Sularda bulunan hemen hemen her türlü madde belirgin bir miktarı aştığı zaman insan sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır. Su içerisinde çok az seviyede olsa bile bulunan ağır metal iyonları (Krom (Cr), Kadmiyum (Cd), Mangan (Mn), Nikel (Ni), Kobalt (Co), Kurşun (Pb), Arsenik (As)) hem çevre hem de insan sağlığı açısından tehlike oluşturmaktadır. Bu nedenle, sulardan hem ağır metal iyonlarının hem de organik kirleticilerin uzaklaştırılması hala önemini koruyan araştırma konuları arasındadır. Atık sulardan kirleticilerin uzaklaştırılması için adsorpsiyon, iyon değiştirme yöntemi, kimyasal çöktürme, filtrasyon, elektroliz gibi kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmıştır (Bilgin, 2009).

Son yıllarda, biyoteknolojik ve biyomedikal uygulamalara yönelik araştırmaların üzerinde yoğunlaştığı nano yapıları malzemeler arasında manyetik özellik taşıyan malzemeler oldukça önemli bir yer tutmaktadır.  $Fe_3O_4$  ya da  $\gamma-Fe_2O_3$  gibi demir oksit nano parçacıkları içeren doğal ya da sentetik polimerler; kontrollü ilaç salım sistemlerinde, doku onarımında, manyetik rezonans görüntüleme, proteinler ve enzimler gibi biyomoleküllerin saflaştırılmasında, enzimlerin ve proteinlerin immobilizasyonunda, atık sulardan boyar madde ve ağır metal iyonları gibi kirleticilerin uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. (Liu ve ark., 2009; Safarik ve ark., 2002).

Enzimler, hücrede meydana gelen biyokimyasal tepkimelerin hızını düzenleyen biyomoleküllerdir ve çoğu kez ilaç, deterjan, gıda ve tekstil endüstrisindeki uygulamalar ve organik sentezler gibi hücre dışı uygulamalarda da kullanılmaktadır. Enzimlerin bu tür uygulamaları genellikle çözelti ortamında yürütülmektedir. Bu koşullar, ortamdaki enzimlerin herhangi bir zamanda uzaklaştırılmasını veya geri kazanılmasını zorlaştırmaktadır. Öte yandan, enzimlerin bulunduğu kaynaktan izolasyonu ve saflaştırılması işlemlerinin zorluğu ve maliyeti, enzimlerin endüstriyel ölçekte kullanımlarını kısıtlayan diğer nedenlerdendir.

Bu kısıtlamaları ortadan kaldırmak amacıyla, immobilizasyon olarak tanımlanan, enzimlerin çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılarak bir katı destek üzerinde hareketinin sınırlandırılması işlemi sıklıkla kullanılmaktadır. Böylece enzimler, tepkime ortamından istenildiğinde ayrılabilir ve katalizledikleri tepkimelerde tekrar tekrar kullanılabilir (Buchholz ve ark., 2005; Sheldon, 2007). Enzimlerin immobilize edilmesi amacıyla, doğal ya da sentetik polimerler veya inorganik maddelerden çeşitli geometri ve boyutlarda hazırlanan destek materyaller kullanılmaktadır. Bu kapsamda, son yıllarda manyetik özellik gösteren destek malzemeleri yaygın bir şekilde kullanılmıştır (Bayramoğlu ve ark., 2008).

Manyetik malzemeler, immobilize enzimin tepkime ortamından santrifüjleme, süzme gibi herhangi bir ek işleme gerek kalmadan, bir mıknatıs yardımıyla kolaylıkla uzaklaştırılmasını sağlayarak, işlem süresinin kısalmasına ve uygulamanın daha ekonomik hale gelmesine olanak tanır. Bugüne kadar, farklı boyut ve geometrilerde hazırlanan manyetik malzemeler enzim immobilizasyonunda kullanılmıştır (Bilkova ve ark., 2002; Konwarh ve ark., 2009; Liao ve ark., 2002; Liu ve ark., 2005; Tanyolaç ve ark., 2000; Yong ve ark., 2008; Wu ve ark., 2009; Zhang ve ark., 2010; Zhao ve ark., 2008).

Manyetik özellikteki malzemelerin diğer bir önemli uygulaması, sulu ortamdaki boyarmaddeler gibi kirleticilerin adsorpsiyon yöntemi ile uzaklaştırılmasıdır. Adsorpsiyon, iyon ya da moleküllerin bir yüzey üzerinde birikmesi ve derişiminin yüzey üzerinde artmasıdır. Adsorpsiyon, kirleticilerin atık sulardan uzaklaştırılmasında yaygın olarak kullanılan yöntemlerden verimli, ekonomik ve çevre dostu bir yöntemdir (Alver ve Metin, 2012; Toor ve ark., 2012). Yöntem genel anlamda, bir yüzey veya ara kesit üzerinde iyon ya da moleküllerin birikmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu ara yüzey bir sıvı ile bir gaz, katı veya bir başka sıvı arasındaki temas yüzeyi olabilmektedir. Sentetik ve doğal pek çok malzeme adsorpsiyon yönteminde yüzey olarak kullanılmaktadır (Banat ve ark.,2003).

Nano ya da mikron boyutlu doğal ya da sentetik polimerler lif, elyaf veya partikül gibi farklı geometrilerde adsorbent olarak hazırlanabilmektedir. Bugüne kadar geliştirilmiş çeşitli organik (sentetik veya doğal) veya inorganik malzemeler mevcut olmakla birlikte, bu alanda özellikle düşük maliyetli, yenilenebilir kaynaklı adsorbentlerin geliştirilmesi için çalışmalar devam etmektedir.

Son yıllarda, manyetik özellikteki malzemelerin adsorpsiyon proseslerinde kullanımı önem kazanmıştır. Manyetik özellik kazandırılmış materyaller, yüksek kütle transfer hızı, hızlı işlem süresi, kolay ayırım ve yüksek verimliliğe sahiptir. Bunun yanı sıra, kolay geri kazanım, kararlılık ve güçlü fiziksel ve kimyasal özellikler, düşük maliyet ve aktif fonksiyonel grup çeşitliliği sayesinde uygulamalarda avantajlar sunmaktadır (Metin, 2008).

Bu çalışmada, manyetik özellik gösteren  $Fe_3O_4$  nanoparçacıkları içeren kitosan nanopartiküllerine, fonksiyonel bir monomer olan GMA ile aşılansak, manyetik *m*CHT-PGMA kopolimer nanopartikül elde edilmiştir. Elde edilen *m*CHT-PGMA kopolimer nanopartikülleri enzim immobilizasyonunda ve boyar madde adsorpsiyonunda destek malzemesi olarak kullanılmıştır. Sentezlenen *m*CHT-PGMA NPs'lerin yapısal, morfolojik ve manyetik özellikleri, Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM), Fourier Dönüşümlü Infrared Spektroskopisi (FTIR), X-ışınları Kırınımı Yöntemi (XRD), Termogravimetrik Analiz (TGA), Zeta Potansiyel Analizi ve Titreşimli Örnek Manyetometresi (VSM) yöntemleri ile belirlendi. *m*CHT-PGMA NPs'nin, çevresel kirleticilerin giderilmesindeki etkinliği anyonik boyaların enzimatik yolla giderilmesi ve adsorpsiyon yoluyla uzaklaştırılmasında destek malzemesi olarak kullanılabilirliği araştırıldı. Enzimatik yolla boyar madde giderimi için, lakkaz enzimi (E.C.1.10.3.2) manyetik nanopartiküllere kovalent bağlanma ile immobilize edildi. Bu amaçla, öncelikle *m*CHT-PGMA NPs'inin yüzeyindeki fonksiyonel epoksi grupları EDA ile aminlenerek, GA modifiye edildi ve ardından lakkaz enzimi kovalent bağlanma yöntemi ile bağlandı. Immobilize enzimin aktifliği, siringaldizin substratı kullanılarak tayin edildi. Serbest ve immobilize enzimin optimum pH ve sıcaklıkları belirlendi. Ardından, aynı boyar maddeler, epoksi grubu 1,6 - DAH kullanılarak modifiye edilen manyetik nanopartiküller ile sulu ortamdan adsorpsiyon tekniği kullanılarak uzaklaştırıldı.

Diğer bir uygulamada ise, lakkaz immobilize *m*CHT-PGMA nanopartikülleri anyonik boyar maddeler olan Reaktif Kırmızı 120 (RR-120) ve İndigokarmin (IC)'in sulu ortamdan biyodegradasyonunda kullanıldı. Adsorpsiyon işlemine, pH, sıcaklık, başlangıç boya konsantrasyonu gibi çeşitli parametrelerin etkisi incelenerek, adsorpsiyon izoterm ve kinetikleri belirlendi.

## **1.1.Boyar Maddelerin Giderim Yöntemleri**

Tekstil endüstrisi tarafından oluşturulan atık suların ana kaynağı, doğal liflerin yıkanması, ağartılması ve boyanması basamaklarıdır. Bu nedenle, tekstil atık suları boyarmadde ve ağartıcı gibi son kimyasallar yönünden zengindir. Boyar maddelerin çoğunlukla toksik olmaları insan ve suda yaşayan canlıların yaşamlarını tehdit etmektedir. Düşük konsantrasyonlarda bile suda görünebilmeleri sebebiyle önemli bir çevresel problem oluşturmaktadır. Yüksek oranda boyar madde içeren atık sular, güneş ışığını engelleyen bir tabaka oluşturarak sudaki canlıların fotosentetik aktivitelerini etkileyerek toksik bir ortam oluşmasına neden olur (Kocabaş, 2015; Çulcu, 2015). Boyar maddelerin çevre ve insan sağlığını olumsuz yönde etkilemesi sebebiyle çeşitli prosesler kullanılarak uzaklaştırılmasına çalışılmaktadır. Atık sulardan boyarmaddelerin giderilmesinde kullanılan yöntemler; biyosorpsiyon, oksidasyon, koagülasyon ve flotasyon, membran filtrasyonu, fotokimyasal yöntem ve adsorpsiyon olarak sıralanabilir (Çulcu, 2015).

### **1.1.1. Adsorpsiyon**

Adsorpsiyon, atom, iyon ve moleküllerin bir katı veya sıvı yüzeyine tutunarak yüzeyde derişimini arttırması olarak tanımlanabilir (Çalık,1999). Yüzeyde tutunan maddeye adsorbat ya da adsorplanan, maddeleri kendi yüzeyinde tutan katıya ise adsorban ya da adsorbent adı verilir (Hızırcıoğlu,1999).

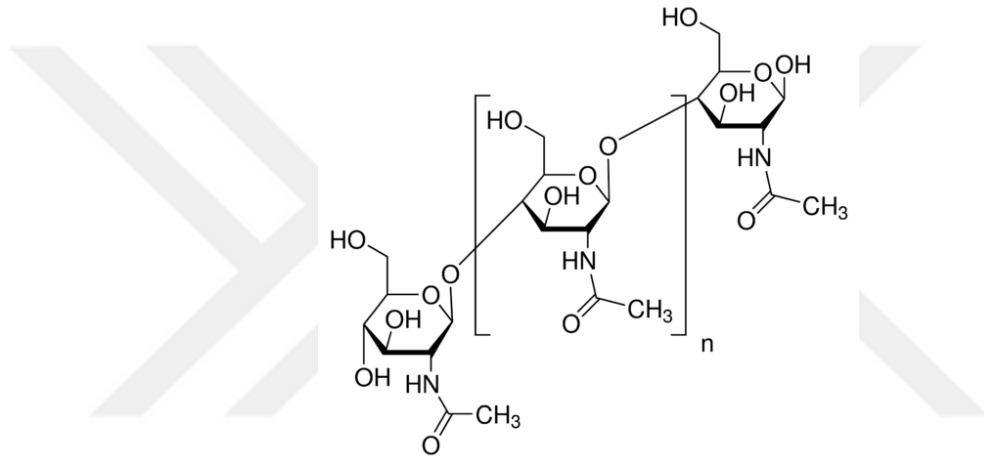
Adsorpsiyon işleminde adsorban olarak kullanılması planlanan malzemelerin taşınması gereken bazı özellikler şu şekilde sıralanabilir: Toksik olmamalı, mekanik özellikleri iyi olmalı, çevre için zararlı olmamalı, ucuz ve bol bulunabilen bir malzeme olmalı, yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip olmalı, rejenere edilerek tekrar kullanılabilmelidir (Tosun, 2009).

Doğal adsorbentler, kolay elde edilebilen, ön işlem gerektirmeyen ve düşük maliyetli çevre dostu malzemelerdir (Gazigil, 2014). Doğal adsorbentler arasında, biyopolimer olarak isimlendirilen nişasta, aljinat, siklodextrin, selüloz ve kitosan (Panic ve ark., 2013) yanında zeolit ve killer örnek olarak verilebilir (Alver ve Metin, 2012).

Bununla birlikte, şeker pancarı posası, toz fıstık kabuğu, pirinç kabuğu külü, çay atıkları, portakal kabuğu ya da hindistan cevizi aktif karbonu, badem ve fındık kabukları, limon kabuğu vb. tarımsal atıklar da adsorban olarak kullanılabilir (Kyzas ve Ark., 2013).

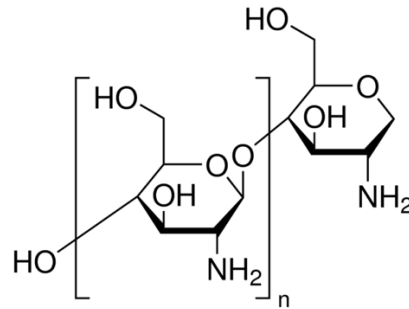
### Kitosan

Kitosan, birbirine  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4) bağlı N-asetil-D-glukozamin ve D-glukozamin birimlerinden oluşan lineer bir polisakarittir. Kitinin deasetilasyonu ile elde edilmektedir (Vashist, 2014). Kitin ve Kitosanın yapıları sırasıyla Şekil 1.1 ve Şekil 1.2'de verilmiştir.



Şekil 1.1. Kitinin molekül yapısı (Anonim 1)

Kitinde bulunan asetil grubunun hidrolizi sonucunda kitosan yapısı meydana gelir (Şekil 1.2).



Şekil 1.2. Kitosanın molekül yapısı (Anonim 2)

Kitosan, kitinin belli oranlarda deasetilasyonu ile elde edilen, N-asetilglukozamin ve D-glukozamin üniteleri içeren bir polimerdir. Deasetilasyon, kitinin molekül zincirlerinden asetil gruplarının ayrılarak geride amin (-NH<sub>2</sub>) gruplarının kalması işlemidir. Deasetilasyon derecesi ise, kitosan zinciri üzerindeki N-asetilglukozamin ünitelerinin sayısının, toplam N-asetilglukozamin ve D-glukozamin sayısına yüzde oranı olarak tanımlanmaktadır (Czechowska-Biskup ve ark., 2012). Deasetilasyon derecesi kitosanın kimyasal özelliğini değiştirdiği için oldukça önemlidir. Genel olarak, kitosan, kitinin %75 veya üzerindeki oranlarda deasetilasyona uğramış formu olarak bilinmektedir.

Deasetilasyon derecesinin yanı sıra molekül ağırlığı da kitosanın fizikokimyasal ve biyolojik özelliklerini etkilemektedir. Kitosan düşük, orta ve yüksek molekül ağırlığında ticari olarak üretilebilmektedir (Sun ve ark., 2009). Kitosan çözeltisinin viskozitesi; molekül ağırlığı, iyonik şiddet, pH ve sıcaklık gibi faktörlerden etkilenmektedir (Davis, 2011). Kitosan seyreltik asit çözeltilerinde çözünmektedir ve pKa değeri 6,3'dür. Bu pH değerinin üzerinde, birincil amin grupları aracılığıyla kuvvetli bir baz gibi düşünülebilir. Düşük pH değerlerinde ise amin grupları protonlanarak, pozitif yüklenir ve böylece katyonik bir polielektrolit haline gelir. Diğer yandan pH 6'nın üstünde olduğu zaman, amin grupları deprotonlanır ve polimer pozitif yükünü kaybederek çözünemez duruma gelir (Kahya, 2016). Kitosan seyreltik asetik, formik, laktik asitte çözünmekle birlikte yaygın olarak %1'lik asetik asit çözeltisi kullanılmaktadır (Davis, 2011). Polikasyonik özellikte olan kitosan, doğal bir polimer olması, biyolojik olarak parçalanabilirliği, biyouyumluluğu, fiziksel ve kimyasal özellikleri bakımından diğer biyopolimerlere göre üstün özellikler göstermesi nedeniyle birçok endüstri kolu için önemli bir malzemedir (Demir ve Seventekin, 2009).

Son yıllarda, kitosan ve türevlerinin özelliklerinin anlaşılmasıyla birlikte, kitosan tıptan gıdaya, ziraatten kozmetiğe, eczacılıktan atık su arıtımına ve tekstil sektörüne kadar sayısız alanda kullanılabilmektedir (Kayha, 2016). Özellikle atık su arıtımında ucuz absorbentlere duyulan ihtiyaç, kitosanı su arıtımı için en etkili malzemelerden biri haline getirmiştir. Kitosan, tekstil atık suyundan reaktif boyaların giderimi için bir adsorbent olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Çünkü geniş bir pH aralığında ve yüksek sıcaklıklarda reaktif boyaların adsorpsiyonuna olanak tanımaktadır (Wong ve ark., 2004).

Kitosanın yapısında bulunan hidroksil ve amino grupları onun tek başına bir adsorban olarak kullanılmasını sağlayabileceği gibi, bu gruplar sayesinde modifiye edilerek farklı kimyasal grupların bağlanabilmesini de sağlamaktadır. Modifikasyon işleminin kolaylıkla yapılabilmesi, kitosanın spesifik bir alanda kullanılabilirliğini arttırır. Kendine özgü polikasyonik yapıda olan kitosanın amino grupları sayesinde kasyonik karakterde oluşuyla birlikte; asit, reaktif ve direkt boyalar gibi anyonik tipteki boyalar üzerindeki olağanüstü giderim kapasitesine ulaşmaktadır (Çulcu, 2015).

### **1.1.2. Manyetik Nanopartiküller**

Nanopartiküller inorganik veya organik (örneğin polimerler) yapıda, mikronaltı boyutlardaki parçacıklardır. Genel olarak, 1-100 nm aralığında partikül boyutuna sahip partiküller nanopartikül olarak isimlendirilmesine rağmen, literatürde birkaç yüz nanometre boyutundaki partiküller için de bu tanım kullanılmaktadır (Huang ve Juang, 2011).

Birçok çevresel ve biyomedikal uygulamada genellikle yüksek doyumlukta manyetik özelliğe sahip metaller (Fe, Co, Ni gibi) veya metal oksitlerini içeren malzemeler kullanılır. Metaller yüksek yoğunlukta manyetik özelliğe sahip olmasına rağmen, toksik ve oksidasyona duyarlı olmaları nedeniyle, demir oksit gibi oksidasyona karşı daha dirençli metal oksitlerin daha yaygın olarak tercih edilmektedir. Demir oksit manyetik nanopartiküller, çok kristalli yapıya sahiptir ve  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (maghemit) ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> (magnetit) formu sıklıkla kullanılır (Huang ve Juang, 2011). Manyetik nanopartiküller protein ve enzimlerin immobilizasyonu, biyoayırma, immunoanalizler, ilaç salınımı, biyosensörler gibi geniş bir uygulama alanına sahiptir (Fuentes ve ark., 2001). Demir oksit içeren nanomalzemeler, yüksek özgülük, spesifik yüzey alanı, iyi kütle transfer özellikleri ile kolay ve hızlı ayırma gibi önemli avantajlar sunmaktadır. Manyetik nanopartiküller şimdiye kadar pek çok enzimin immobilizasyonu, biyoayırma veya kontrollü ilaç salım sistemlerinde ilaç taşıyıcısı olarak kullanılmıştır (Kuroiwa ve ark.,2008). Bu nedenle, yüksek manyetik cevaba sahip, süper paramanyetik özellikteki polimerik partiküllerin üretimi, son yıllarda araştırmacıların ilgi odağı olmuştur (Bayramoğlu ve Arica, 2009; Frenzel ve ark., 2003; Guo ve Ark. 2003).

Şimdiye kadar çeşitli uygulamalar için, poli(akrilik asit) (Huang ve ark., 2006), poli(etilen glikol) (Gupta ve Wells, 2004), polivinilpirolidon (Lee ve ark.,2006) gibi sentetik polimerler ile karboksimetil selüloz (Sipos, 2006), dekstran (Berry ve ark.,2003), jelatin (Gaihre ve ark., 2009), kitosan (Denkbağ ve ark., 2002) gibi doğal polimerler ve kopolimerleri manyetik nanoparçacıklar ile birleştirilerek manyetik özelliğe sahip malzemelerin hazırlanmasında kullanılmıştır.

### **1.1.3. Enzimler**

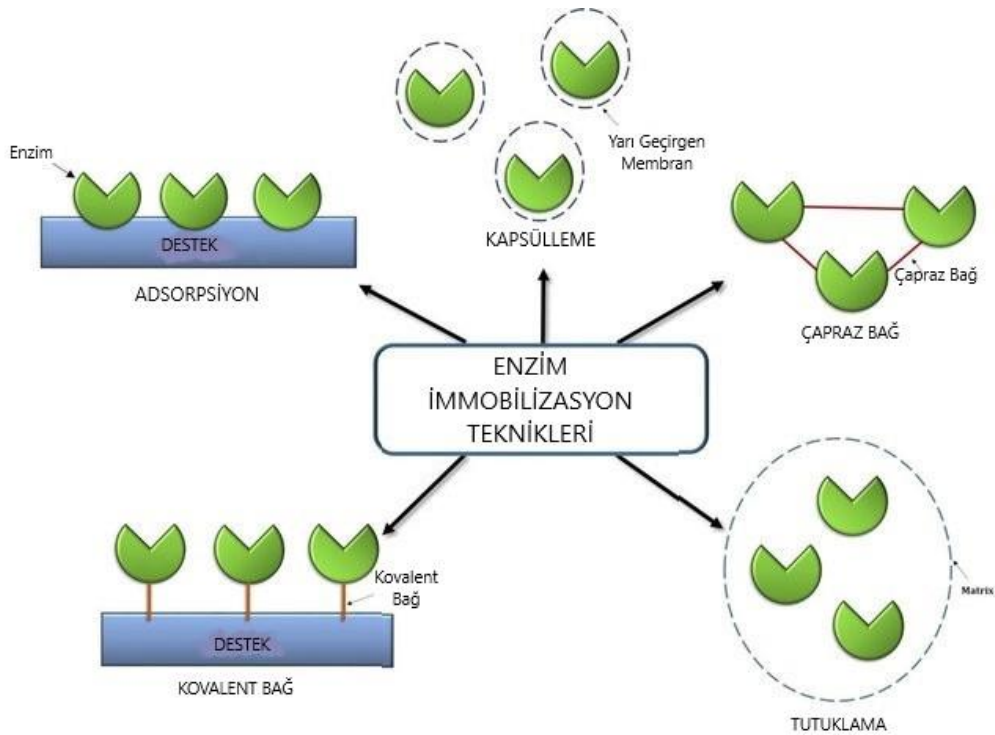
Enzimler, yalnız canlılar tarafından sentezlenebilen aktivasyon enerjisini düşürmek suretiyle kimyasal reaksiyonların hızını arttıran biyolojik katalizörlerdir (Öktem ve ark.,2007). Enzimler, aktivasyon enerjisini düşürerek, zor ve uzun sürede gerçekleşen tepkimelerin çok kısa sürede ve az enerji harcanarak gerçekleşmesini sağlar. Hücrelerde organik maddelerin yapılması ve yıkılması, sindirim, kas kasılması, hücre solunumu gibi önemli faaliyetler çeşitli metabolizma reaksiyonlarının sonucudur ve bu reaksiyonlar enzimlerin katalitik etkisiyle mümkün olmaktadır. Biyolojik katalizör olarak görev yapan ve çoğu kez hücre dışında da etkinliklerini koruyan enzimler, ilaç, deterjan, gıda ve tekstil endüstrisindeki çeşitli uygulamalarda ve organik sentezlerde kullanılmaktadır. Enzimler etkili ve spesifik biyolojik katalizörler olmalarına rağmen, sulu ortamda çözünür ve işlevsel olarak aktivitelerini çabuk kaybetmeleri endüstriyel ölçekte kullanılmalarını kısıtlamaktadır (Manrich ve ark., 2008). Ayrıca, enzimin ayrılması ve saflaştırılması için gerçekleştirilen birçok işlem, uygulamanın maliyetini artırmaktadır. Bu sınırlamaları ortadan kaldırmak ve enzimlerin ekonomik ve pratik bir şekilde kullanılmasını sağlamak amacıyla, araştırmacıların ilgisi enzim immobilizasyonu üzerine yoğunlaşmıştır (Li ve ark., 2007). Enzimler, suda çözünmeyen, katı bir destek materyale adsorpsiyon, kovalent bağ ile bağlanma ya da polimerik matriks içerisinde hapsedildiklerinde immobilize edilmiş olurlar. Enzim immobilizasyonu serbest enzimlere göre kesikli ya da sürekli proseslerde daha hızlı gerçekleşen reaksiyon, kontrollü ürün oluşumu, reaksiyon karışımından enzimin uzaklaştırılma kolaylığı gibi pek çok üstünlüğe sahiptir (Manrich ve ark., 2008). Ayrıca enzimler, tepkime ortamından istenilen bir anda ayrılabilir ve katalizledikleri tepkimelerde tekrar tekrar kullanılabilirler (Buchholz ve ark.,2005, Worsfold, 1995, Sheldon, 2007).



Enzimlerin immobilize edilmesi amacıyla, doğal ya da sentetik polimerler ile inorganik maddelerden çeşitli boyut ve geometrilerde hazırlanan malzemeler kullanılmaktadır. Son dönemde ise, manyetik özellik gösteren malzemeler, enzimlerin immobilize edilmesi amacıyla yaygın olarak kullanılmaktadır. Manyetik malzemelere immobilize edilen enzimler, tepkime ortamından santrifüjleme, süzme gibi işlemlere gerek kalmadan, bir mıknatıs yardımıyla kolaylıkla uzaklaştırılabilmeyi sağlar. Böylelikle, immobilize enzim proseslerinin işlem süresinin kısalmasına ve uygulamanın daha ekonomik hale gelmesine olanak tanımaktadır. Öte yandan, manyetik nanoparçacık içeren malzemeler, geniş yüzey alanı sayesinde, yüksek miktarda enzim immobilizasyonuna imkân sağlar.

### 1.1.3.1. Enzim İmmobilizasyon Yöntemleri

Enzimlerin katı bir destek materyaline immobilizasyonu için farklı yöntemler araştırmacılar tarafından kullanılmıştır. Bu doğrultuda immobilize enzim sistemleri, enzim ve destek arasındaki moleküler etkileşimlere dayanan bağlanma metotlarına göre genel olarak fiziksel bağlanma (iyonik bağlanma, afinite, hidrofobik bağlanma v.b.) ve kovalent bağlanma yoluyla immobilizasyon olarak sınıflandırılmaktadır (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Enzim İmmobilizasyon Teknikleri (Yien ve ark., 2019)

İmmobilizasyon yöntemlerine bağı olarak, immobilize enzimin fiziksel ve kimyasal özelliklerinde değişiklikler söz konusudur. İmmobilizasyon işleminde, enzimin kararlılığının arttığı, çeşitli fiziksel şartlara karşı serbest enzime göre daha dayanıklı olduğu ve enzim aktifliğinin uzun süre korunduğu belirlenmiştir (Alver ve Metin, 2017). Adsorpsiyon metodu ile enzim immobilizasyonu, zayıf çekim kuvvetleri ile enzimin inert bir taşıyıcıya bağlanması işlemini kapsamaktadır. Yöntem; fonksiyonel grup taşıyan bir yüzeye sahip suda çözünmeyen bir taşıyıcı destek materyalinin uygun koşullarda (pH, iyonik şiddet, sıcaklık) enzim çözeltisiyle karıştırılması ve enzim fazlasının yıkanarak uzaklaştırılması temeline dayanır. İmmobilizasyonun temeli, materyal ve enzim arasında oluşan van der Waals, iyonik ve hidrojen bağları gibi moleküler arası etkileşimlere dayanmaktadır. Adsorpsiyon yönteminin en önemli avantajı, enzim aktivitesini yitirdikten sonra destek materyalinin rejenerasyonunun mümkün olmasıdır. Böylece taşıyıcılar taze enzim çözeltisiyle tekrar muamele edilerek kullanılabilirler (Metin, 2008).

Enzim ile taşıyıcı malzeme arasında kovalent bağ oluşumu, enzimlerin immobilizasyonu işleminde yaygın olarak kullanılan bir tekniktir. Bu yöntemde, amino, karboksil v.s. gibi fonksiyonel gruplar taşıyan destek materyali GA, karbodiimid, epiklorhidrin v.s. gibi çeşitli ajanlar kullanılarak aktive edilir ve sonrasında enzim modifiye edilen destek materyaline kovalent olarak bağlanır. Bu yöntemin en önemli avantajı, enzim ile matriks arasındaki bağın kararlılığının yüksek olmasıdır. Bu durum enzimin taşıyıcı matriksten ayrılarak ürün içine karışmasını büyük ölçüde azaltmaktadır (Metin, 2008).

Hapsetme ya da enkapsülasyon yöntemi ile immobilizasyon, enzimin polimerik bir matriks ya da yarı geçirgen bir membran içerisinde tutuklanmasına dayanır. Çapraz bağlanma ile enzim immobilizasyonu yönteminde ise destek materyal kullanılmadan, enzim moleküllerinin büyük ve üç boyutlu kompleks bir yapı halinde bir araya getirilir. Yöntem; GA ve toluen diizosiyanat gibi fonksiyonel moleküllerin enzim moleküllerini birbirine bağlayarak, çapraz bağı ve suda çözünmeyen enzim kompleksleri oluşturması temeline dayanır (Bickerstaff, 1997).

### 1.1.3.2.Lakkaz Enzimi

Lakkaz (benzen diol: oksijen oksidoredüktaz; EC 1.10.3.2), suda çözülmüş oksijenin suya indirgenmesini ve aynı zamanda substratının yükseltgenmesini katalizleyen, elde edildiği kaynağa göre molekülünde değişebilen sayıda bakır atomları taşıyan bir enzimdir (Kalkan, 2010). Lakkaz enzimi, bakteriler, böcekler, bitkiler ve mantarlar olmak üzere dört kaynaktan elde edilir. Yaygın olarak Lakkaz enzimi, *Lentinula edodes*, *Myceliophthora thermophila*, *Cerrena maxima*, *Trametes hirsuta*, *Trametes villosa* ve *Trametes versicolor* mantarlarından saflaştırılır (Kalkan, 2010).

Lakkazlar, çoğunlukla çeşitli destek materyallerine immobilize edilerek, tekstil, kâğıt, gıda endüstrisindeki çeşitli uygulamalarda ve çevre kirliliğinin önlenmesine yönelik uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Bunlar arasında, pamuğun ağartılması (Tzanov ve ark., 2003), kâğıt hamurundan ligninin uzaklaştırılması (Bourbonnais ve ark., 1992), tekstil endüstrisi atık sularındaki bazı boyarmaddelerin (Arica ve ark., 2017; Nguyen ve ark., 2016), fenollerin (Alver ve Metin, 2017; Wang ve ark., 2012), ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar gibi çevresel kirleticilerin yıkımı (Xua ve Ark., 2020; Bautista ve ark., 2010) gibi uygulamalar yer almaktadır.

### 1.2. Literatür Özeti

Son yıllarda kitosan temelli manyetik nanoparçacıklarının hazırlanmasıyla ve uygulamalarıyla ilgili önemli çok sayıda çalışma yayınlanmıştır.

Zhou ve arkadaşları, GA ile çapraz bağlı manyetik kitosan nanopartikülleri hazırlayarak sulu çözeltilerden Brilliant Blue 1 ve Brilliant Yellow 5 gibi gıda boyalarının adsorpsiyon yolu ile uzaklaştırmış ve sitotoksik etkilerini kaydetmişlerdir. Adsorpsiyon kapasitesinin sıcaklık, pH gibi çeşitli parametelerden etkilendiğini, en düşük sitotoksisite ve maksimum adsorpsiyon kapasitesine 0,5 mM GA konsantrasyonunda ulaşıldığını ve maksimum adsorpsiyon kapasitelerinin Brilliant Yellow 5 için 292,07 ve Brilliant Blue 1 için 475,61 mg/g olduğu rapor edilmiştir (Zhou ve ark., 2014).

2018 yılında yapılan bir başka çalışmada ise 2,2'-(bütan-1,4-dibis (oksi))dibenzaldehit çapraz bağlı manyetik kitosan nanoparçacıkları sentezlenmiştir.

Bu nanoparçacıkların kimyasal yapısı, yüzey özellikleri ve morfolojisi FT-IR, XRD, SEM ve TGA yardımıyla karakterize edilmiştir. Sentezlenen bu manyetik nanopartiküller, anyonik reaktif bir boya olan Reactive Red 239 (RR 239)' un sulu çözeltilerden uzaklaştırılması için manyetik adsorban olarak kullanılmıştır. Bu nanoparçacıkların maksimum adsorpsiyon kapasitesi ise 200 mg/g (pH 7 ve 25 °C) bulunmuştur (Banaei ve ark., 2018).

Chiou ve çalışma arkadaşları, sulu çözeltilerden reaktif boyalar (RB2, RR2, RY2, RY86), üç asidik boya (AO12, AR14, AO7) ve bir direk boya (DR81) olmak üzere toplam sekiz farklı anyonik boyayı çapraz bağlı kitosan boncuklar kullanarak uzaklaştırmışlardır. Anyonik boyaların uzaklaştırılması açısından, bu nanoparçacıkların adsorpsiyon kapasitesinin kitininkinden çok daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir (Chiou ve ark., 2004).

Başka bir çalışmada, manyetik  $\gamma$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ çapraz bağlı kitosan kompozitler, sulu çözeltilerden metil oranjin adsorpsiyonunda kullanılmıştır (Zhua ve ark., 2010).

Bir diğer çalışmada ise EDA ile modifiye edilmiş manyetik kitosan nanopartikülleri, Asit Oranj 7(AO7) ve Asit Oranj 10 (AO10)'ın uzaklaştırılmasında olarak kullanılmış ve 298 K ve pH 4'de maksimum adsorpsiyon kapasiteleri AO7 için, 2,25 ve AO10 için, 3,47 mmol/g olarak belirtilmiştir (Zhou ve ark., 2011).

LbL tekniği kullanılarak manyetik Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> üzerine kitosan/poliakrilik asit (CS /PAA) hazırlanarak SEM, FT-IR, XRD, TGA VSM teknikleriyle özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca, katyonik boyalar olan metilen mavisi (MB) ve kristal violet (CV) giderilmesinde adsorbent olarak kullanılabilme potansiyeli incelenmiştir. Maksimum adsorpsiyon kapasitesi, 25 °C ve pH 8'de sırasıyla MB için 305,8 ve CV için 243,6 mg/g olarak belirtilmiştir (Chen ve Ark., 2014).

Debrossi ve arkadaşları, amfilik kitosan türevi olan N-benzil-O-karboksimetilkitosan ile demir oksitleri kullanarak yeni manyetik nanoparçacıklar hazırlamış, manyetik ve yapısal özelliklerini FT-IR, TGA, TEM, Mössbauer spektroskopisi ve mıknatıslanma ölçümleri ile karakterize etmişlerdir. Parçacıklar, 34,74% oranında ve 14 nm boyutunda inorganik çekirdek içerdiği ve 18,4 emu/g doygunluk manyetizasyonu ile süperparamanyetik davranış sergilediğini bildirmiştir.

Çalışmanın uygulama basamağında ise hazırlanan manyetik nano yapıların sulu çözeltilerden metilen mavisi, kristal viyole ve malaşit yeşili katyonik boyalarının adsorbe edilmesinde kullanılmıştır (Debrossi ve ark., 2012).

2019 yılında yapılan bir diğer çalışmada ise,  $CoFe_2O_4$ /kitosan manyetik kompoziti çapraz bağlama yöntemi kullanılarak geliştirilmiş ve sulu çözeltiden boya uzaklaştırılması için adsorban olarak kullanılması incelenmiştir (Juliana ve ark., 2019).

Fan ve arkadaşları, GA ile modifiye kitosan nanoparçacıkları hazırlanmış ve sulu çözeltilerden Zn (II) iyonlarının uzaklaştırılmasında kullanmışlardır (Fan ve ark., 2011a). Aynı grubun yaptığı diğer bir çalışmada ise, manyetik tiyöüre-kitosan nanoparçacıkları sulu çözeltilerden Ag (I) iyonlarının adsorpsiyonu amacıyla kullanılmıştır (Fan ve Ark., 2011b).

Nguyen ve arkadaşları, kovalent immobilizasyon yolu ile kitosan kürelere lakkaz enzimi bağlayarak, sulfur blue 15 ve sulfur brown GD boyaalarının giderilmesinde kullanmışlardır. Her iki boyanın da 100 mg/L başlangıç derişiminde %73,8'den fazlasının giderildiğini belirlenmiştir (Nguyen ve ark., 2016).

Başka bir çalışmada, ZnO ve MnO<sub>2</sub> nanopartiküllerine adsorpsiyon yolu ile immobilize edilmiş lakkaz enziminin Alizarin Kırmızı S boyasının (20 mg/L) giderim etkinliğinin sırasıyla %95 ve %85 olduğu bildirilmiştir (Rani ve ark.,2017).

Trametes pubescens'dan saflaştırılan lakkaz enzimi, glutaraldehit ile çapraz bağlanan kitosana kovalent olarak bağlanmış ve farklı boyaların giderilmesinde kullanılmıştır. Başlangıç boya konsantrasyonu 50 mg/L olan Reaktif Brilliant Blue X-BR, Remazol Brilliant Blue R ve Kongo Kırmızısı boyaalarının sırasıyla %52, %48 ve %54'ü giderildiği belirtilmiştir (Zheng ve ark., 2016).

Alver ve Metin, Cu (II) bağlanmış, polietilen imin aşılı poli(glisidil metakrilat) aşılı kitosan partiküllere, adsorpsiyon yoluyla lakkaz enzimi immobilize etmiş ve fenol giderilmesinde kullanmışlardır. Başlangıç 20 mg/L fenol çözeltisinin 4 saatte %80'ini giderdiği rapor edilmiştir (Alver ve Metin, 2017).

Yang ve arkadaşları *Rhus vernicifera*' dan elde edilen lakkazı, GA ile çapraz bağlanan kitosan üzerine adsorpsiyon yöntemi ile immobilize etmişlerdir (Yang ve ark., 2006). Jiang ve arkadaşları, kitosan mikro kürelerini GA ile çapraz bağlayarak hazırlamışlar ve kürelerin üzerine Lakkaz enzimini immobilize etmişlerdir (Jiang ve ark., 2005). Arica ve arkadaşları, p(GMA) zincirleri aşılı p(HEMA) filmler üzerine lakkazı adsorpsiyon yolu ile immobilize ederek kesikli sistemde fenol, p-klorofenol ve anilin gibi fenolik bileşiklerin enzimatik oksidasyonunda kullanımını rapor etmişlerdir (Bayramoğlu ve ark., 2009). Alver ve Metin, polietilenimin ve Cu (II) iyonları bağlanan kitosan nanopartiküllere, lakkazı adsorpsiyon yolu ile immobilize ederek, fenol gideriminde kullanmıştır (Alver ve Metin, 2017).

Literatürde yer alan çalışmalarda maksimum adsorpsiyon kapasiteleri ya da giderim performanslarındaki farklılıklar, kullanılan nanoparçacıkların kimyasal yapısı, yüzey özellikleri, bağlı olan fonksiyonel gruplar gibi spesifik etkilerden kaynaklanmaktadır.

## **2. MATERYAL VE YÖNTEM**

### **2.1. Materyaller**

#### **2.1.1. Kimyasal Malzemeler**

Lakkaz (*Trametes versicolor*,  $0.5 \geq U/mg$ ), Kitosan (deasetilasyon derecesi  $\geq 80\%$ ), GA, Reaktif Kırımı-120, İndigokarmin ve Potasyum Persülfat Sigma-Aldrich, GMA Merck firmasından alındı. Diğer tüm kimyasallar analitik saflıkta olup, Sigma Aldrich firmasından temin edildi.

#### **2.1.2. Cihazlar**

##### **2.1.2.1. UV-VIS Spektrofotometre**

Sulu ortamdan boya giderimi çalışmalarında, başlangıçtaki ve deney sonundaki giderilen boya miktarları, UV-VİS Spektrofotometre ile (Labomed, USA) 535 nm ve 650 nm dalga boylarında spektrofotometrik yöntem kullanılarak belirlendi.

##### **2.1.2.2. FT-IR Spektrofotometre**

mCHT-PGMA nanopartiküllerinin FT-IR spektrumları (Mattson 1000 FTIR, İngiltere) kullanılarak elde edildi.

### **2.1.2.3. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)**

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin morfolojik özellikleri JEOL (JSM 5600) taramalı elektron mikroskobu kullanılarak elde edildi.

### **2.1.2.4. Termogravimetrik Analiz Cihazı (TGA)**

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin termal özellikleri, FTIR cihazı ile kombine TGA/FTIR cihazı (Perkin Elmer Pyris) kullanılarak elde edildi.

### **2.1.2.5. Titreşimli örnek manyetometrisi (VSM)**

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin manyetik özellikleri, Titreşimli örnek manyetometrisi (VSM, Cryogenic Limited PPMS) cihazı kullanılarak belirlendi.

### **2.1.2.6. X-Işını Difraktometresi (XRD)**

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin yapısındaki kristal fazlar, X-ışınları difraktometresi (XRD, Rigaku Ultima IV) kullanılarak 0.02°/dakika tarama hızında 10° -90° aralığında taranarak belirlendi.

### **2.1.2.7. Kullanılan Diğer Cihazlar**

pH metre (İsolab WTW, Almanya), santrifüj (Nüve, Türkiye), çalkalayıcı inkübatör (Heidolph Unimax 1010, Almanya), sirkülatörlü ısıtıcı soğutucu su banyosu (Labcon CPE20, Labcon LTB12140, Güney Afrika), manyetik ısıtıcı karıştırıcı (İsolab, Almanya).

## **2.2. YÖNTEM**

### **2.2.1. Manyetik kitosan-aşı- poli(glisidil metakrilat) nanopartiküllerinin (*m*CHT-PGMA) sentezi**

*m*CHT-PGMA nanopartikülleri radikalik kopolimerizasyon yöntemi ile sentezlendi. Bu amaçla, polimerizasyon deneylerinde kitosan çözeltisi (%1 w/v, 10 ml) içinde GMA monomeri (0,5-2,0 ml) içerisinde dağıtıldı. Daha sonra reaksiyon ortamına, 2 ml deiyonize su içinde çözülen FeCl<sub>3</sub> (1,0 M) ve KPS (0,005 M) eklenerek 60 °C de su banyosuna yerleştirildi.

Geri soğutucu ve azot atmosferi altında 4 saat muamele edildi. Bu süre sonunda, polimerizasyon ortamından reaksiyona katılmamış, monomer, FeCl<sub>3</sub> ve başlatıcıyı içeren çözelti uzaklaştırılarak, reaksiyon ortamına (0,05 M, 15 ml) FeSO<sub>4</sub> eklendi. Su banyosunun sıcaklığı 70 °C ye çıkarılarak ortam pH sınır ortalama 10-11 civarında olması için damla damla olarak reaksiyon ortamına NH<sub>3</sub> eklendi.

Manyetizasyon reaksiyonuna 2 saat boyunca devam edildi. Reaksiyon sonunda ortamdan mıknatıs yardımıyla uzaklaştırılan partiküller, saf su ve alkolle yıkanarak oda sıcaklığında kurutuldu. Aşı kopolimerizasyonun verimliliğine GMA miktarının etkisini araştırmak amacıyla, polimerizasyon ortamında GMA miktarı 0,5-2,0 ml aralığında değiştirildi.

### **2.2.1.1. Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidil metakrilat) nanopartiküllerinin modifikasyonu**

*m*CHT-PGMA, boya uzaklaştırılmasında ve enzimatik boya gideriminde kullanılmak üzere, yapısındaki epoksi grupları üzerinden modifiye edildi.

*1,6 DAH Modifikasyonu:* Manyetik biyopolimerik nanopartiküllerin yapısındaki amin grubu miktarını arttırmak için, *m*CHT-PGMA nanopartikülleri, 1,6-DAH çözeltisi (%5, 20 ml, pH 10,0) ile 65 °C de 5 saat süresince çalkalamalı su banyosunda muamele edildi ve yüzeyinde amin grubu taşıyan partiküller elde edildi. Reaksiyon sonunda ortamdan uzaklaştırılan manyetik nanopartiküller, distile su ile yıkandı.

*EDA Modifikasyonu:* Manyetik biyopolimerik nanopartiküllere enzim bağlamak üzere, yapıdaki amin gruplarını arttırmak amacıyla, *m*CHT-PGMA nanopartikülleri, EDA çözeltisi (%5, 20 ml, pH 10,0) ile 80 °C de 8 saat süresince çalkalamalı su banyosunda muamele edildi ve yüzeyinde amin grubu taşıyan partiküller elde edildi. Reaksiyon sonunda ortamdan uzaklaştırılan manyetik nanopartiküller, distile su ile yıkandı.

*GA modifikasyonu:* EDA ile aminlenen *m*CHT-PGMA nanopartikülleri (~ 5.0 g), fosfat tamponu içerisinde (50 mM, pH 7,4) dengeye getirildi ve reaktörde aynı tampon sisteminde hazırlanan GA çözeltisi (% 1 v/v, 100 ml) ortamına aktarılarak, 12 saat boyunca manyetik karıştırıcılı ortamda oda sıcaklığında inkübe edildi.



Aktivasyon reaksiyonu tamamlandıktan sonra manyetik biyopolimerik nanopartiküller sırası ile distile su, asetik asit çözeltisi (100 mM, 100 ml) ve fosfat tamponu (100 mM, pH 7,0) ile yıkanarak GA'in fazlası uzaklaştırıldı.

### **2.2.2. Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidil metakrilat) nanopartiküllerinin Karakterizasyonu**

Radikalik katılma polimerizasyonu ile sentezlenen *m*CHT-PGMA partiküllerinin ortalama boy ve boy dağılımı Taramalı Elektron Mikroskobu görüntülerinden ve lazerli boyut dağılım analiz cihazı, aşılama verimliliği ise ulaşılabilir epoksi grubunun volumetrik analizi ile tayin edildi. Bununla birlikte yapısal ve manyetik özellikleri VSM ve XRD analizleri ile belirlendi.

#### **2.2.2.1. Partikül Boyu ve Boy Dağılımın Tayini**

*m*CHT-PGMA partiküllerinin boy ve boy dağılımları Taramalı Elektron Mikroskobu ile belirlendi. Bu amaçla 1 ml sonuç partikül dispersiyonu 5000 rpm'de santrifüjlenerek süpernant atıldı ve üzerine aynı hacimde etanol eklenerek, ultrasonikasyon ile partiküller dağıtıldı. Bu işlem birkaç kez tekrarlandı. Elde edilen dispersiyon, stamp üzerine yayılarak oda sıcaklığında sıvı fazın buharlaşması sağlandı ve mikroskop görüntüleri alındı.

Ayrıca, *m*CHT-PGMA partiküllerin partikül boy dağılımı lazerli tane boyut ölçüm cihazı (Nano-ZS, ZEN3600 Malvern) kullanılarak analiz edildi.

#### **2.2.2.2. Aşılama Verimliliği**

Aşılama verimliliği kitosan zincir yüzeyine aşıl原因 GMA monomerinin miktarı değiştirilerek belirlendi. Polimerizasyon ortamında GMA miktarı 0.5 ml-2.0 ml arasında değiştirildi ve aşılı kopolimerizasyon reaksiyonu sonunda ulaşılabilir epoksi grubu miktarı tayin edilerek optimum koşullar belirlendi.

Bununla birlikte, *m*CHT-PGMA nanopartikülleri yapısında oluşan manyetik çekirdeğin miktarı, polimerizasyon reaksiyonu ile birlikte yürüyen manyetizasyon reaksiyonu sonunda ortamdaki demir iyonlarının derişimi ICP-OES (Spectro Blue-Eop-Ti) ile belirlenerek hesaplandı.

*Epoksi Grubu Analizi:* Manyetik poliglisidil metakrilat aşısı kitosan nanopartiküllerinin yüzeyindeki epoksi miktarı HCl–Aseton yöntemi ile belirlendi (Zhang ve ark., 2015). Bu doğrultuda, öncelikle epoksi grubu taşıyan partiküller (1 gr), HCl (10 µl %37 lik) ve aseton (3 ml ) karışımına eklendi. Daha sonra, 25°C’ de 160 rpm’de 15 dakika boyunca karıştırıldı.

Reaksiyon sonunda, HCl asit miktarı, NaOH (10 mM) çözeltisi ile titre edilerek belirlendi. Aynı koşullarda örnek içermeyen paralel deney kör olarak kullanıldı. Aşısı kopolimer yüzeyinde ulaşılabilir epoksi grubu miktarı Eşitlik 2.1 kullanılarak hesaplandı. Epoksi grup tayini üç kez tekrarlanarak sonuçlar üç analizin aritmetik ortalaması olarak verildi.

$$N=C*(V_0-V) \quad (2.1)$$

Burada,

N= Epoksi Grup Miktarı (mmol/g)

C= NaOH Konsantrasyonu (mM)

V<sub>0</sub>= Titrasyon için tüketilen NaOH Miktarı (ml)

V= Kör örnek için tüketilen NaOH Miktarı (ml)

### **2.2.2.3. FTIR Spektrumu**

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin FTIR spektrumu, FT-IR spektrometre (Mattson 1000 FTIR, İngiltere) kullanılarak elde edildi. Bu amaçla 10 mg manyetik nanopartikül kurutularak analiz edildi.

### **2.2.2.4. Amin Grubu Tayini**

1,6-DAH modifikasyonu ile aminlenen manyetik nanopartiküllere bağlanan amin grubu miktarı, potensiyometrik titrasyon yöntemi ile belirlendi (Bıçak ve ark., 2003). Aminlenmiş olan 0,1 g manyetik nanopartiküller 24 saat süre ile deiyonize su içerisinde bekletildi. Bu süre sonunda HCl asit çözeltisi (2,0 M, 10 ml) ile muamele edilerek önceden ayarlanmış NaOH çözeltisi (2,0 M) ile titre edildi. Ulaşılabilir amin grubu miktarı Eşitlik 2.1 kullanılarak hesaplandı.

### 2.2.2.5. Titreşimli Örnek Manyetometrisi (VSM) Analizi

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerindeki manyetik parçacıkların özelliği Titreşimli Örnek Manyetometrisi cihazı (Cryogenic Limited PPMS) kullanılarak oda sıcaklığında araştırıldı.

### 2.2.2.6. X-ışınları Kırınımı (XRD) Analizi

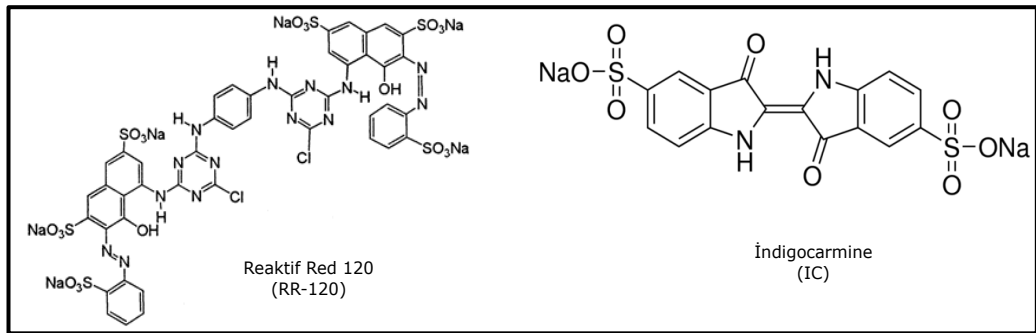
*m*CHT-PGMA nanopartiküllerindeki fazların analizi X-ışınları difraktometresi (Rigaku Ultima IV) kullanılarak, oda sıcaklığında ve 0-90° aralığında belirlendi.

### 2.2.2.7. Termogravimetrik Analiz (TGA)

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerin termal analizi, termogravimetrik analiz cihazı (TGA/FTIR, Perkin Elmer Pyris) kullanılarak belirlendi. Bu amaçla, manyetik biyopolimerik nanopartiküller (10 mg), platin malzemedeki yapılmış numune kaplarına konularak, 25-900 °C sıcaklığa azot atmosferi altında 10 °C/dakika ısıtma hızı ile ısıtıldı.

### 2.2.3. Boya Adsorpsiyon Çalışmaları

Karakterizasyon ve aktivasyon işlemleri tamamlanan manyetik nanopartiküllerin adsorbent olarak kullanılabilirliğini araştırmak için, anyonik özellikte olan RR-120 boyası ve IC reaktif boyalar model olarak kullanıldı (Şekil 2.1). *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin RR-120 ve IC boyalarına karşı sergiledikleri adsorpsiyon davranışına, pH, sıcaklık, derişim, madde miktarı, iyonik şiddet gibi adsorpsiyon prosesi parametrelerinin etkisi araştırıldı.



**Şekil 2.1.** Reaktif Kırmızı 120 ve İndigokarmin anyonik boyalarının moleküler yapıları (Anonim 3).

### 2.2.3.1. pH Etkisi

Amin grupları taşıyan manyetik kitosan-aşı-poli(glisidil metakrilat) nanopartiküllerinin, (*m*CHT-PGMA-DAH), RR-120 ve IC boyar maddelerinin adsorpsiyon davranışına pH'ın etkisini araştırmak amacıyla, boya çözeltilerinin pH değeri 2,0 – 9,0 aralığında değiştirildi. Çözelti pH'ının ayarlanmasında HCl asit ve NaOH çözeltileri kullanıldı.

Manyetik nanopartiküllerin adsorpsiyon kapasitesi, başlangıç ve denge anında adsorpsiyon ortamında kalan RR-120 için 535 nm ve IC için ise 650 nm dalga boyunda absorbanlarının UV-VIS spektrofotometresi ölçülmesi ile tayin edildi. Sulu ortamdaki boya miktarının belirlenebilmesi için, başlangıç boya konsantrasyonu 1-400 mg/L aralığında tutularak her iki boyar madde için kalibrasyon grafiği elde edildi. Deney sonucunda manyetik partiküller adsorpsiyon ortamından miknatis yardımıyla uzaklaştırıldı ve uzaklaştırılan boyar madde miktarı aşağıdaki formül yardımıyla hesaplandı.

$$q = [(C_0 - C) V_s] / w \quad (2.2)$$

Yukarıdaki eşitlikte *q*; manyetik nanopartiküller üzerine adsorplanan boya miktarını (mg g<sup>-1</sup>), *C*<sub>0</sub>; boyanın başlangıç konsantrasyonunu (mg L<sup>-1</sup>), *C*; adsorpsiyon sonrası çözelti ortamındaki boyanın denge konsantrasyonunu (mg L<sup>-1</sup>), *V*<sub>s</sub>; çözelti (solution) hacmini (ml) ve *w*; adsorpsiyon ortamındaki manyetik nanopartikül miktarını (mg) göstermektedir.

### 2.2.3.2. Zamanın Etkisi

Sulu ortamlardan kirleticilerin uzaklaştırılması işleminin zamana bağlılığını belirlemek, adsorbentin sürekli sistemde kullanılma aşamasının planlaması için önemlidir. Bu amaçla, *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerin adsorpsiyonunun zamanla değişimi başlangıç boya konsantrasyonu 25, 50 ve 100 mg/L olduğu adsorpsiyon ortamında kesikli sistemde çalışıldı ve yukarıda verilen eşitlik kullanılarak materyalin kapasitesi belirlendi.

### 2.2.3.3. İyonik Şiddet Etkisi

RR-120 ve IC adsorpsiyonu üzerine iyonik şiddetin etkisi, oda sıcaklığında, 25 ml hacim ve 50 mg/L başlangıç boya konsantrasyonunda her bir boya için belirlenen optimum pH değerinde hazırlanan boya çözeltisi içerisinde NaCl derişimi 0,0 M, 0,1 M, 0,25 M, 0,5 M ve 1,0 M olacak şekilde değiştirilerek araştırıldı.

#### 2.2.3.4. Başlangıç Boya Konsantrasyonu Etkisi

Manyetik nanopartiküllerin adsorpsiyon kapasitesine başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi 5-600 mg/L aralığında çalışılarak belirlendi.

#### 2.2.3.5. Sıcaklığın Etkisi

Anyonik boyaların uzaklaştırılmasına sıcaklığın etkisi dört farklı sıcaklıkta (5, 25, 35 ve 45 °C) ve 25 mg/L başlangıç boya konsantrasyonu koşullarında araştırıldı.

#### 2.2.3.6. Adsorpsiyon İzotermi

Manyetik nanopartiküllerin adsorpsiyon kapasiteleri, 5-600 mg/L boya konsantrasyonunda araştırıldı ve elde edilen veriler adsorpsiyon izotermine uygulandı. Adsorpsiyon deneyleri, 25 °C’de, 4 saat süreyle, 100 rpm hızla devamlı karıştırılarak yapıldı. Deney sonunda partiküller, bir mıknatıs yardımıyla boya çözeltisinden uzaklaştırıldı ve adsorplanan boya miktarı Eşitlik (2.2) kullanılarak hesaplandı.

Amin grupları taşıyan *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküller ile sulu ortamdan anyonik boya adsorpsiyonunda belirlenen deneysel verilerin teorik olarak türetilen Langmuir, Freundlich ve Dubinin-Raduskevich izoterm modellerine uygunluğu araştırıldı.

Deneysel verilerden elde edilen  $C_{den}$  ve  $q_{den}$  değerleri kullanılarak Eşitlik (2.3)’de verilen Langmuir denklemine göre,  $1/C_{den} / q_{den}$ ’ye karşı grafiği çizildi. Bu grafiğin kaymasından  $K_d$  ve eğimden de  $q_m$  değerleri belirlendi. Freundlich modelini ifade eden (2.4) eşitliği kullanılarak  $\ln q_e - \ln C_e$  grafiği elde edildi ve eğimden  $n$  ve kaymadan da  $K_F$  parametreleri belirlendi.

$$q_{den} = q_m C_{den} / (K_d + C_{den}) \quad (2.3)$$

$$q_{den} = K_F (C_{den})^n \quad (2.4)$$

Deneysel veriler ayrıca Eşitlik (2.5)’de verilen Dubinin-Raduskevich izoterm modeline de uygulandı. Dubinin-Radushkevich (D-R) izoterm modeli, adsorpsiyonun türünü (Fiziksel yada Kimyasal) belirlemek için kullanılır.

$$\ln q_{den} = K \varepsilon^2 + \ln q_{D-R} \quad (2.5)$$

Burada,  $\epsilon$  (kJ/mol) Polanyi potansiyeli olarak tanımlanmaktadır ve değeri aşağıda verilen eşitlik yardımıyla hesaplanabilir:

$$\epsilon = RT \ln (1 + 1/C_e) \quad (2.6)$$

Burada, R ideal gaz sabiti (8.314 Jmol<sup>-1</sup>K<sup>-1</sup>), ve T ise sıcaklıktır (K).

$$E = 1/(-2K)^{1/2} \quad (2.7)$$

Deneysel verilerden yararlanılarak Eşitlik (2.5)'e göre  $\epsilon^2$ 'ye karşı  $\ln q_{den}$  grafiği çizilirse eğim K değerini, kayma ise  $q_{D-R}$  hesaplanır. Daha sonra K değeri kullanılarak Eşitlik (2.7) yardımıyla adsorpsiyon enerjisi, E, hesaplanır. Adsorpsiyon enerjisi, 1-8 kJmol<sup>-1</sup> aralığında olduğunda adsorpsiyon türünün fiziksel, 8-16 kJmol<sup>-1</sup> olduğunda kimyasal olduğu belirtilmiştir (Zheng ve ark., 2008).

### 2.2.3.7. Adsorpsiyon Kinetikleri

Geliştirilen manyetik nanopartiküller ile sulu ortamdan RR-120 ve IC anyonik boya ların uzaklaştırılması çalışmalarında elde edilen deney sonuçları birinci ve ikinci dereceden kinetik modellere uygulanarak adsorpsiyon sisteminin kinetiği araştırıldı. Sulu ortamdan adsorpsiyon davranışı için kullanılan birinci dereceden kinetik eşitlik modeli aşağıdaki formül ile ifade edilir (Lagergren,1998).

$$\log(q_{den} - q_t) = \log q_{den} - (k_1 t) / 2,303 \quad (2.8)$$

Bu eşitlikte  $k_1$ , birinci dereceden adsorpsiyon hız sabiti (dak<sup>-1</sup>),  $q_{den}$  ve  $q_t$  sırası ile denge ve  $t$  zamanında adsorplanan boya miktarını göstermektedir (mg g<sup>-1</sup>).

Elde edilen deneysel verilerin birinci dereceden kinetik modeline uygulanması ile elde edilen doğrunun eğiminden  $k_1$  sabiti ve kaymasından ise  $q_{den}$  değeri belirlendi.

İkinci derece kinetik eşitlik şu şekilde ifade edilebilir (Ho and McKay, 1999).

$$t/q_t = t/q_e + 1/k_2 q_e^2 \quad (2.9)$$

Eşitlik (2.9) kullanılarak  $1/q_t$ 'ye karşı  $t$  grafiği çizildi ve elde edilen doğrunun kayma ve eğiminden sırasıyla, adsorpsiyon kapasitesi  $q_e$  ve hız sabiti  $k_2$  hesaplandı.

### 2.2.3.8. Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirlik

Desorpsiyon işlemi, RR-120 ve IC adsorplanmış manyetik nanopartiküllerin 0,1 M NaCl çözeltisi ile muamale edilmesi ile gerçekleştirildi. Bu amaçla, RR-120 ve IC adsorplanmış manyetik nanopartiküller, NaCl çözeltisinin bulunduğu ortama yerleştirilerek 110 rpm karıştırma hızında 25 °C’de 4 saat süre boyunca devamlı karıştırıldı.

Bu sürenin sonunda, manyetik nanopartiküller mıknatıs kullanılarak ortamdaki ayrıldı ve desorpsiyon çözeltisinin absorbans değerleri ölçüldü. Desorpsiyon ortamına geçen boya miktarı aşağıdaki eşitlik yardımıyla belirlendi.

$$\% \text{Desorpsiyon} = \frac{[\text{Desorbe edilen boya miktarı} \times 100]}{[\text{Partikül üzerine adsorplanan boya miktarı}]} \quad (2.10)$$

Manyetik nanopartiküllerin tekrar kullanılabilirlikleri adsorpsiyon ve desorpsiyon işleminin aynı adsorbentini 4 kez kullanılması ile test edildi.

### 2.2.4. Enzimatik Degredasyon ile Boya Giderimi Çalışmaları

Epoksi grubu üzerinden EDA ile modifiye edilmiş *m*CHT-PGMA NPs’e, endüstriyel bir enzim olan lakkaz enzimi kovalent bağlanma yoluyla immobilize edildi. Bu amaçla, *m*CHT-PGMA-EDA nanopartikülleri GA ile modifiye edildi. Ardından ise, lakkaz çözeltisi ile (1,0 mg/ml, pH 5,0) kesikli sistemde 25°C’de sürekli karıştırılarak immobilize edildi. Partiküllere immobilize edilen lakkaz miktarı, tutuklama ortamındaki başlangıç ve sonuç protein konsantrasyonunun Bradford yöntemi ile ölçülmesi ile belirlendi (Bradford, 1976). Standart lakkaz enzim çözeltisi (0,2 - 2,0 mg/ml) hazırlandı ve enzim konsantrasyonunun hesaplanması için kalibrasyon grafiği elde edildi.

#### 2.2.4.1. Serbest ve İmmobilize Lakkazın Aktivite Analizleri

Serbest ve immobilize lakkaz örneklerinin aktiviteleri Ride metodu ile belirlendi (Ride ve Callow, 1983). Siringaldazin çözeltisi (0,3 mL, 40 µM) ve enzim çözeltisi (0,5 mL) 37°C sıcaklıkta 15 dakika inkübe edildi ve 530 nm dalga boyunda absorbans okunarak lakkaz enziminin aktivitesi aşağıda verilen eşitlik yardımıyla hesaplandı.

$\Delta C$  : Konsantrasyonu Değişimi

$\Delta t$  : Sıcaklık Değişimi

$A_{530}$  :530 nm'deki dalga boyu

$$\text{Hız (V)} = \Delta C / \Delta t = (\Delta A_{530} / \Delta t) \times (\Delta C / \Delta A_{530}) \quad (2.11)$$

#### 2.2.4.2. Enzim Kinetiği

Serbest ve immobilize lakkazın aktifliğine substrat derişiminin etkisini incelemek ve enzim kinetiğini belirlemek için farklı derişimlerde (0,010- 0,080 mM) siringaldazin çözeltileri ile Bölüm 2.2.4.1'de anlatıldığı gibi enzim aktivitesi belirlendi. Enzim kinetiği ise Michaelis – Menten eşitliği kullanılarak belirlendi.

$$V_o = \frac{V_{mak} \times S}{K_m + S} \quad (2.12)$$

$$K_m = \frac{k_2 + k_3}{k_1} \quad (2.13)$$

Burada,  $V_o$ : Başlangıç hızı,  $V_{mak}$ : Maksimum hız,  $K_m$ : Michaelis-Menten sabiti,  $S$ : Substrat derişimini ifade etmektedir. Michaelis-Menten Eşitliğinin düzenlenmesi ile Lineweaver-Burk eşitliği elde edilir:

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{mak}} \times \frac{1}{S} + \frac{1}{V_{mak}} \quad (2.14)$$

Lineweaver-Burk Eşitliğine göre,  $1/S$ 'nin  $1/V$ 'ye karşı çizilen grafiği bir doğru verir. Bu doğrunun y-kayması  $1/V_{mak}$  değerini verir ve maksimum hız hesaplanır. Maksimum hız bulunduktan sonra eğimden (eğim= $K_m/V_{mak}$ ) veya x-kaymasından  $K_m$  hesaplanır.

#### 2.2.4.3. Boya degradasyon çalışmaları

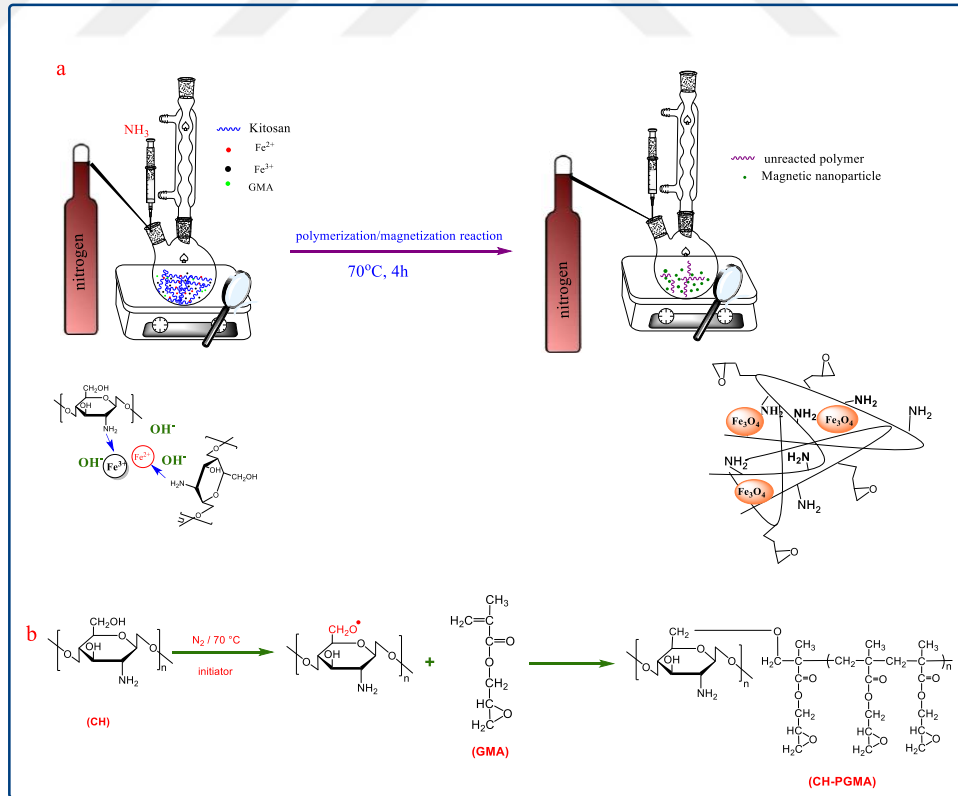
Lakkaz immobilize edilen *m*CHT-PGMA-EDA nanopartiküllerinin RR-120 ve IC anyonik boya larını giderme etkinlikleri araştırıldı. Bu amaçla, doğal ortam pH'ında (pH =6,5) saf suda hazırlanan RR-120 ve IC (25-200 mg/L) çözeltilerine sırasıyla immobilize enzim (1,0 ml= 0,55 mg) eklenerek 4 h 40 °C de su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyondan sonra ortamdan alınan örneklerden manyetik nanopartiküller bir mıknatıs yardımıyla uzaklaştırıldıktan sonra, çözeltide kalan boya derişimi spektrofotometrik olarak belirlendi.



### 3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

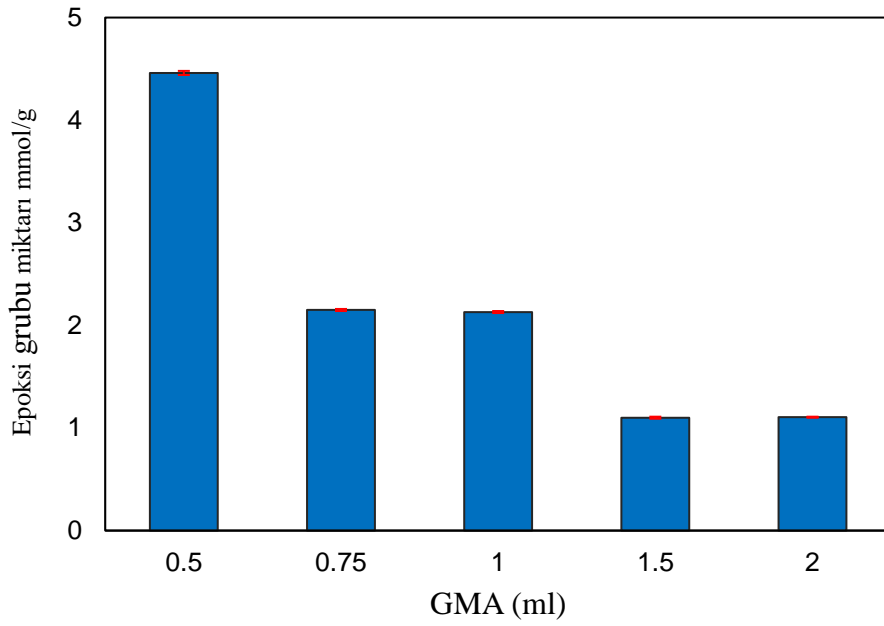
Bu çalışmada, *m*CHT-PGMA nanopartikülleri sentezlenerek yapısındaki epoksi grupları amin gruplarına dönüştürüldü. Daha sonra nanopartiküller, immobilize enzim sistemi ve adsorpsiyon yöntemi kullanılarak boyar madde uzaklaştırılmasında etkinliği araştırıldı. Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidilmetakrilat) nanopartiküllerinin sentezi ve önerilen aşılama yöntemi Şekil 3.1'de gösterilmektedir. Manyetik nanopartiküller,  $Fe^{2+}/Fe^{3+}$  iyonlarının kitosan varlığında amonyak çözeltisi ile çöktürülmesi ile elde edildi. Manyetizasyon reaksiyonu ile, aynı ortamda aşılı kopolimerizasyon reaksiyonu yürütüldü. Şekil 3.1b'den görülebileceği gibi, potasyum persülfat tarafından oluşturulan radikaller, kitosan makromolekülleri üzerinde, GMA monomerlerinin katılabileceği aktif merkezler oluşturmaktadır. GMA monomerlerinin katılması ve sonrasında zincir büyümesi gerçekleşmektedir.

Manyetik kopolimerlerin yapısındaki manyetik çekirdek miktarı, nanopartiküllerin kuvvetli asidik ortamda muamelesinin ardından çözelti ortamındaki Fe konsantrasyonu ICP-OES analizi ile belirlendi. Daha sonra *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin Fe içeriği 325 mg/g olarak hesaplandı.



Şekil 3.1. Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidilmetakrilat) nanopartiküllerinin sentezi (a) ve önerilen kopolimerizasyon reaksiyon mekanizması(b)

Aşı kopolimerizasyon reaksiyonunun verimliliği, *m*CHT-PGMA nanopartiküllerin ulaşılabilir epoksi grubunun analizi ile belirlendi. Polimerizasyon ortamında GMA oranı 0,5 – 2,0 ml aralığında değiştirildi ve polimerizasyon sonunda, küreler üzerindeki epoksi grubu analiz Bölüm 2.2.2.2’de verilen yöntem uyarınca yapıldı. Polimerizasyon verimi Eşitlik 2.1 kullanılarak hesaplandı (Şekil 3.2). Her bir örnek için üç analiz yapıldı.



**Şekil 3.2.** Glisidilmetakrilat (GMA) miktarının aşılama verimliliğine etkisi

Şekil 3.2’den görülebileceği gibi, sabit tutulan başlatıcı konsantrasyonunda, 0,5 ml GMA eklenmesi ile en yüksek ulaşılabilir epoksi grubu içeriğine ulaşılmıştır. Bu monomer miktarından sonra, ulaşılabilir epoksi grubu miktarının yani aşılama verimliliğinin de azaldığı görülmektedir. Bu sonuç, sabit başlatıcı konsantrasyonunda, kitosan zincirleri üzerinde oluşturulabilecek maksimum aşılama noktalarının olduğunu göstermektedir. 0,5 ml GMA miktarının bu aşılama noktalarına bağlanmak için polimerizasyon ortamında yeterli olduğu düşünülmektedir. Belirlenen koşullarda sentezlenen *m*CHT-PGMA nanopartiküllerin ulaşılabilir epoksi grubu içeriği  $4,5 \pm 0,02$  mmol/g olarak hesaplandı.

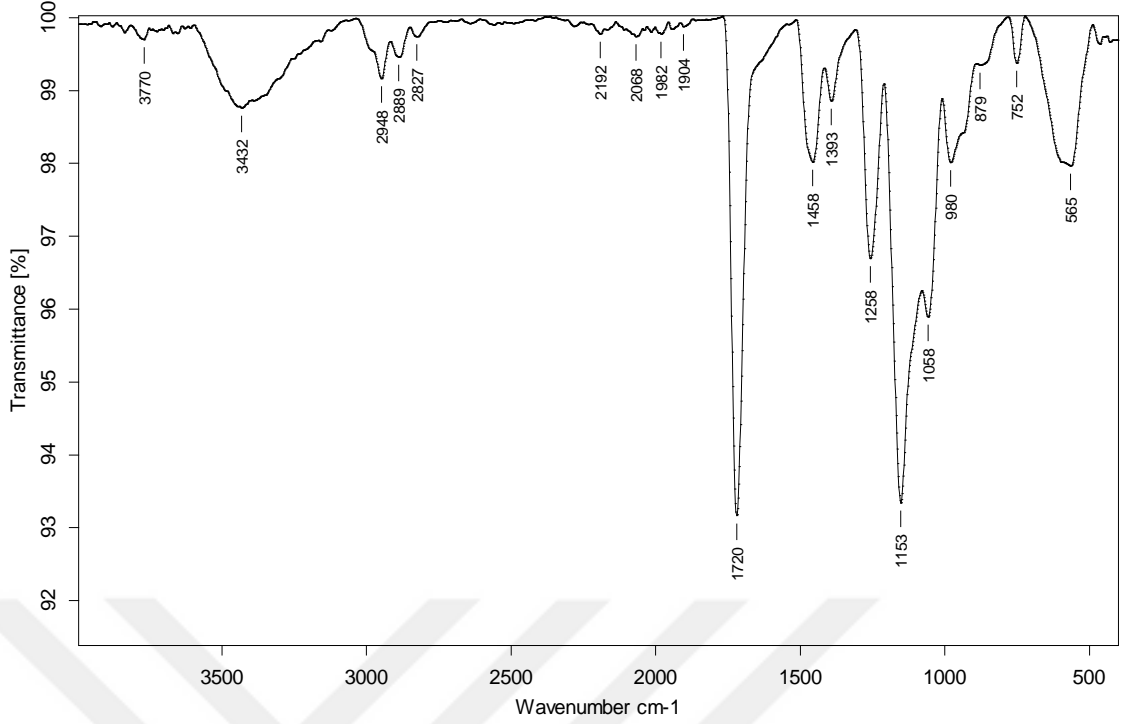
Daha sonra, *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin epoksi grupları boyaların adsorpsiyon ve biyodegradasyon ile giderilmesi için sırasıyla 1,6 DAH ve EDA kullanılarak amin gruplarına dönüştürüldü. *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin amin grubu içeriği 1,6-DAH ve EDA modifikasyonunun ardından  $4,05 \pm 0,01$  mmol/g'dan sırasıyla  $6,93 \pm 0,03$  mmol/g ve  $6,07 \pm 0,02$  mmol/g arttığı belirlendi.

### 3.1. Manyetik Nanopartiküllerinin Karakterizasyonu

Manyetik kitosan-aşı-poli(glisidilmetakrilat) nanopartiküllerinin yapısal, manyetik ve morfolojik özellikleri, FTIR, XRD, SEM-EDS, TGA ve zeta potansiyel gibi enstrümantal yöntemler kullanılarak belirlendi.

#### 3.1.1. Fourier Transform Infrared (FTIR) Spektrumu

*m*CHT-PGMA partiküllerinin FTIR spektrumu Şekil 3.3'de verildi. IR spektrumu değerlendirildiğinde, yaklaşık  $3400 \text{ cm}^{-1}$ 'deki güçlü band O-H gerilme titreşimi, N-H bağı uzama titreşimi ve polisakkaritin yapısındaki molekül içi hidrojen bağlanmalarındandır. Ayrıca,  $2941 \text{ cm}^{-1}$ 'de metilen ve  $2900 \text{ cm}^{-1}$ 'deki metil titreşimleri (C-H) GMA'nın karakteristik titreşimleri olarak görülmüştür.  $1720 \text{ cm}^{-1}$ 'de GMA'nın ester konfigürasyonuna (C(O)=O) ait titreşim bandı gözlemlendi. Öte yandan,  $980 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlenen band ise GMA'nın epoksi grubuna aittir. Bununla birlikte, FTIR spektrumunda  $1153 \text{ cm}^{-1}$  ve  $1058 \text{ cm}^{-1}$  bantlar ise kopolimer yapısındaki polisakkarit birimine ait C-O-C bağı (Jiang ve ark, 2005; Joshi ve Sinha, 2006; Metin, 2013).  $565 \text{ cm}^{-1}$ 'deki titreşim bandı kopolimer yapısındaki  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  molekülüne ait Fe-O bağı göstermektedir (Papageorgiou ve ark, 2010; Johar ve ark., 2012; Ndazi ve ark., 2007; Yang ve ark., 2010).

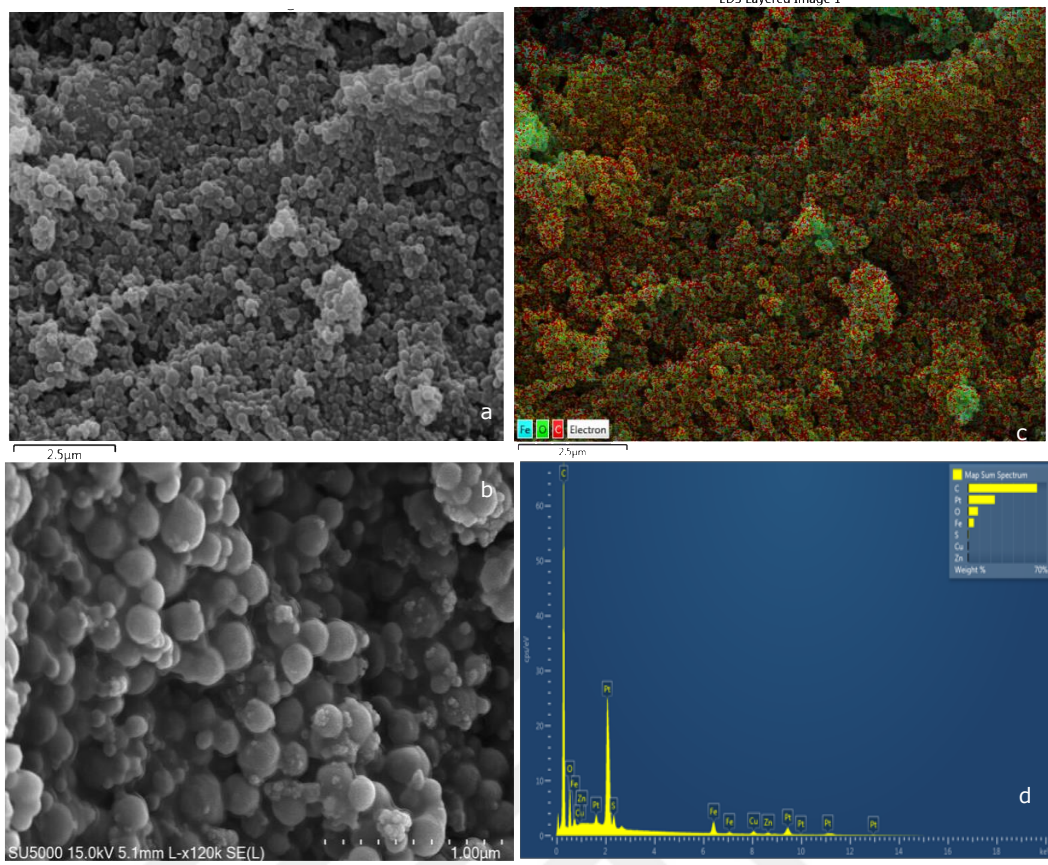


**Şekil 3.3.** *m*CHT-PGMA nanopartiküllerin FTIR Spektrumu

### 3.1.2. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) Analizi

Manyetik *m*CHT-PGMA partiküllerinin, geometrik ve yüzey özellikleri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ve Enerji Dağılımlı X-ışını spektrumu ve Haritası (EDS) kullanılarak belirlendi (Şekil 3.4). SEM fotoğraflarına bakıldığında, elde edilen *m*-*m*CHT-PGMA partiküllerin küresel yapıda ve hemen hemen eş boyutlu olduğu görülmektedir (Şekil 3.4a-b).

SEM fotoğraflarından ayrıca partikül boyutunun 200 nm civarında olduğu belirlendi (Şekil 3.4b). Bununla birlikte, kopolimer kompozisyonun temel olarak Fe, O ve C'dan oluştuğu EDS spektrumundan görülmektedir (Şekil 3.4d). Öte yandan, manyetik kopolimer nanopartiküllerinde elementlerin dağılım haritasından da tüm elementlerin homojen olarak dağıldığı, yani manyetik çekirdeğin polimer matrisi ile birlikte bulunduğu, polimer yapısının içine girdiği sonucuna ulaşılabilir (3.4c)



**Şekil 3.4.** *m*CHT-PGMA nanopartiküllerin farklı büyütmelerde Taramalı Elektron Mikroskobu görüntüleri (a-b), Enerji dağılımlı X-ışını haritası (c) ve spektrumu (EDS) (d)

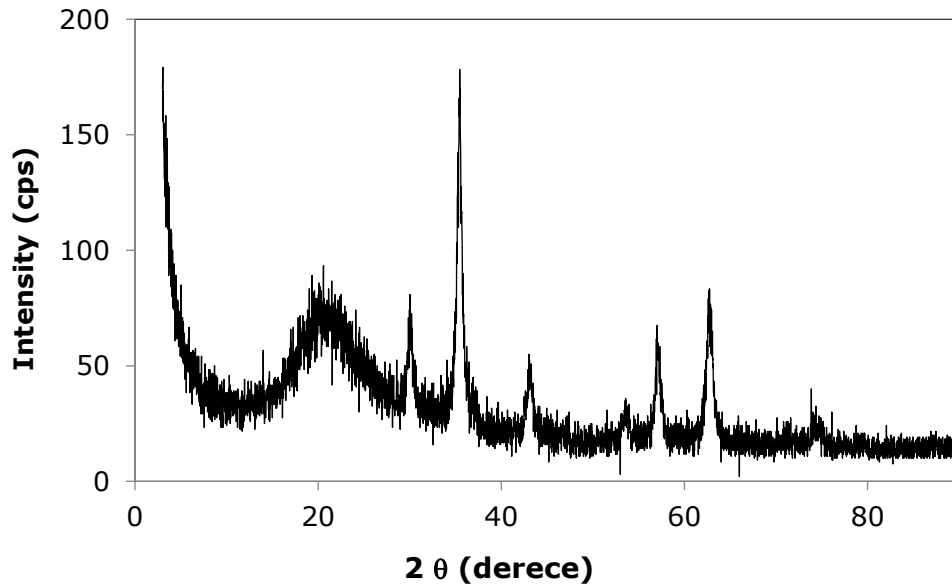
### 3.1.3. X-Işınları Kırınımı (XRD) Analizi

Şekil 3.5’de *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin XRD spektrumu verilmektedir. *m*CHT-PGMA nanopartiküllerin X-ışını kırınım deseninden, nanopartiküllerin içinde kristal fazların olduğu görülmektedir. Manyetik nanopartiküllerin XRD deseni incelenerek, literatürde daha önce kaydedilmiş çalışmalar ile karşılaştırıldığında;  $2\theta = 30,18^\circ$ ,  $35,70^\circ$ ,  $43,18^\circ$ ,  $57,30^\circ$  ve  $63,06^\circ$  deki keskin piklerin yüzey merkezli kübik yapıya sahip olan  $Fe_3O_4$ ’e ait olduğu (Hong ve ark., 2007; Shabzendedar ve ark., 2019), öte yandan,  $2\theta = 20^\circ$ ,  $54,64^\circ$  ve  $74,54^\circ$  deki piklerin ise  $Fe_2O_3$  yapısına ait olduğu söylenebilir (Baltazar ve ark., 2015; Yang ve ark., 2017; Fouda ve ark., 2013).

Bununla birlikte, XRD kırınımı ile incelenen bir örneğin parçacık boyutu, kırınım desenindeki en şiddetli pikin yarı genişliği kullanılarak Eşitlik 3.1’de verilen Debye-Scherrer metodu ile hesaplanabilmektedir: (Patterson,1993)

$$D = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta} \quad (3.1)$$

Burada,  $K$  Scherrer sabiti (0,94),  $\lambda$ ,  $\text{CuK}\alpha$ 'nın radyasyon dalga boyu ( $\lambda = 0,1542$  nm),  $\beta$  en yüksek yarılmada tam genişlik ve  $\theta$  düzleminin Bragg açısıdır (Arandhara ve ark., 2020).  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparçacıklarının parçacık boyutu, bu nanoparçacıkların kırınım deseninde şiddeti maksimum olan ve  $2\theta = 35,70^\circ$  de gözlenen pik kullanılarak 2 nm olarak hesaplanmıştır.



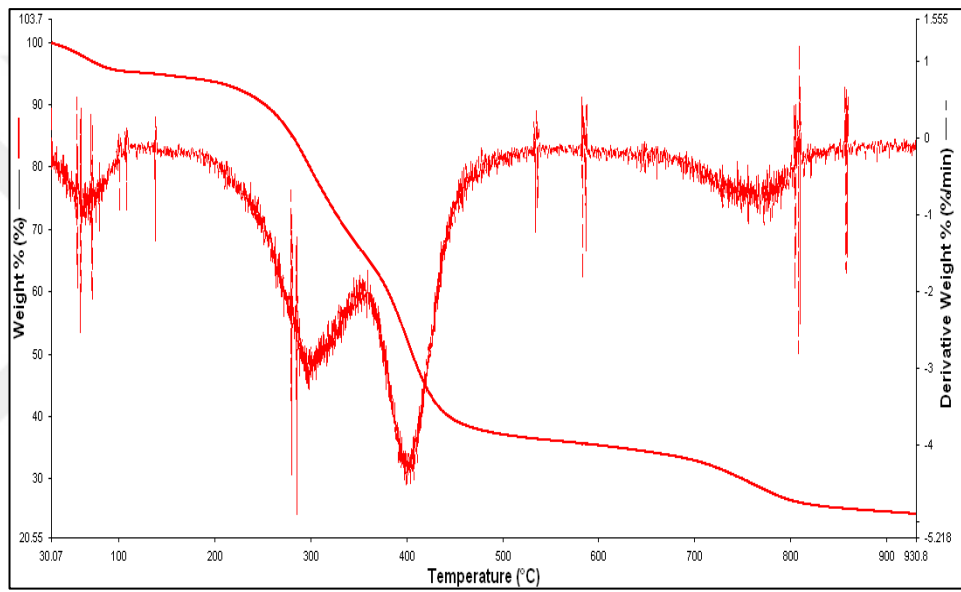
Şekil 3.5. *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin X-ışını Kırınım Deseni

### 3.1.4. Termogravimetrik Analiz (TGA)

Termogravimetrik analiz, malzemelerin bozunma sıcaklıkları ya da nem içeriğini belirlemek için kullanılan bir tekniktir. *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin, termal bozunma eğrisi Şekil 3.6’da verilmektedir. TGA eğrisinden görüldüğü gibi, *m*CHT-PGMA nanopartiküllerin üç ana termal bozunma basamağına sahiptir ve nanopartiküllerin %75’i yaklaşık 850°C’de bozunmaktadır. Bununla birlikte, 100 °C’ye kadar olan sıcaklık aralığında gözlenen kütle kaybının (yaklaşık % 5) temel sebebi, nanopartiküllerin yapısındaki nemin uzaklaşmasından kaynaklandığı, 200-300 °C civarındaki kütle kaybının ise düşük molekül ağırlıklı polimer zincirlerinin uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Acharyulu ve ark., 2013; Shouman ve ark., 2012; El-Hefian ve ark., 2010).

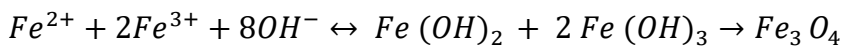
Bununla birlikte, genel olarak 200-350 °C sıcaklık aralığında, bağ kırılması ve dehidroksilasyon, dekarboksilasyon ya da desülfirizasyon reaksiyonlarının ardından meydana gelen zincirlerin ayrılması, 450-800 °C aralığında ise polimerlerin bozunmasının gerçekleştiği bildirilmiştir (Wang ve ark., 2018). Sıcaklık 800°C'ye ulaştığında, *m*CHT-PGMA nanopartikülleri başlangıç ağırlığının %75,4'ünü kaybetmiştir.



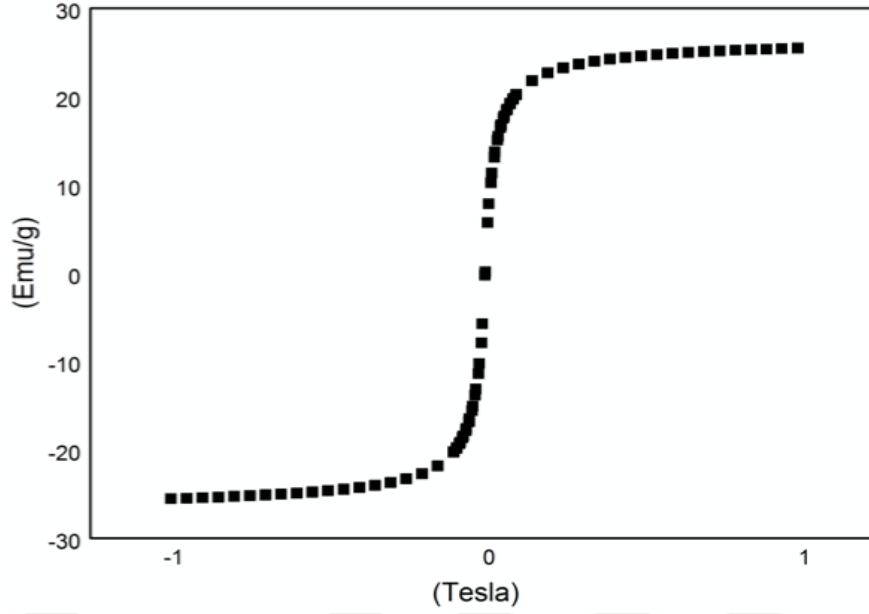
Şekil 3.6. *m*CHT-PGMA Nanopartiküllerin Termogramı

### 3.1.5. Titreşimli Örnek Manyetometre (VSM) Analizi

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerin manyetik çekirdeği, polimer zincirleri arasında birlikte bulunan  $Fe^{2+}$ :  $Fe^{3+}$  kasyonlarının amonyak ile çöktürülmesi sonucunda aşağıda verilen reaksiyon uyarınca oluşur (İndıra ve ark., 2010)



Titreşimli Örnek Manyetometrisi (VSM) kullanılarak, *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin 298 K'de davranışı, manyetik alan şiddetine karşı belirlendi (Şekil 3.7).



**Şekil 3.7.** *mCHT-PGMA* nanopartiküllerin Titreşimli Örnek Manyetometresi (VSM)

Şekil 3.7'den görüldüğü gibi, *mCHT-PGMA* nanopartiküllerin manyetik alana karşı verdikleri tepkinin sürekli ve kararlı olduğu ve süperparamanyetik davranışa sahip olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, *mCHT-PGMA* nanopartiküllerinin doygunluk manyetizasyon değeri 29,5 Emu/g olduğu belirlenmiştir.

Literatürde, çeşitli ortamlarda hazırlanmış manyetik çekirdek içeren polimerik nanoparçacıklar için farklı doygunluk manyetizasyon değerleri rapor edilmiştir. Örneğin, Xu ve arkadaşları,  $Fe_3O_4$  nanopartiküllerini silanlama işlemine tabi tutmuş, doygunluk manyetizasyonunu silanlama işleminden önce 47,90 Emu/g, silanlamadan sonra 33,00 Emu/g olduğunu belirtmiştir (Xu ve ark., 2013).

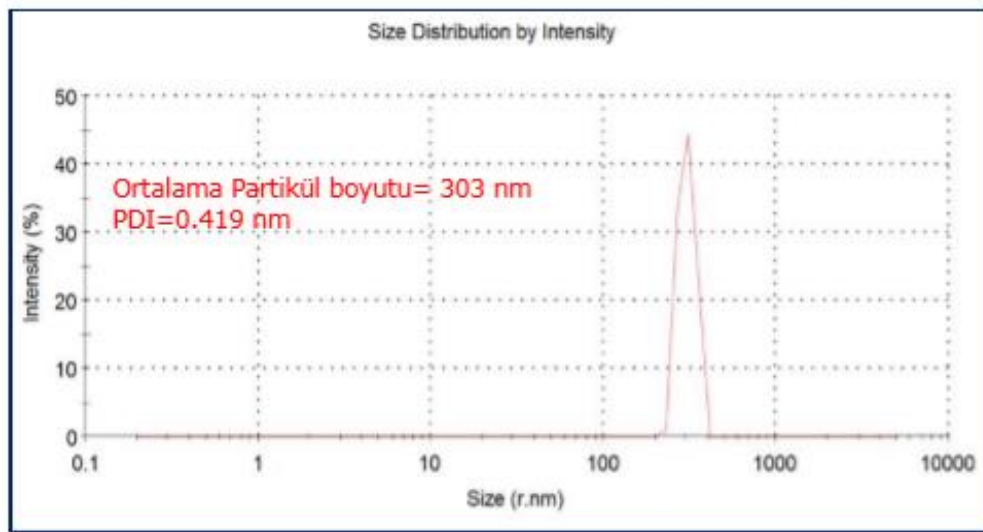
Liu ve arkadaşları çalışmalarında, karbon temelli manyetik kompozit hazırlayarak, lakkaz enziminin immobilizasyonunda kullanmışlardır. Hazırlanan kompozitin doygunluk manyetizasyonu 4,1 Emu/g olarak belirlendi (Liu ve ark., 2012). Metin ve arkadaşları, poli(gilisidil metakrilat) aşılı ksantan gum nanoprtiküllerini hazırlayarak protein adsorpsiyonunda kullanmış ve hazırlanan manyetik partiküllerin doygunluk manyetizasyon değerini 61 Emu/g olduğunu rapor etmişlerdir (Metin ve ark., 2020).



Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> içeren polimerik nanoparçacıklarının doygunluk manyetizasyon değerlerinin büyüklüğünün, bu nanoparçacıkların yüzeyini saran polimer tabakasının kalınlığına ve polimerin bazı özelliklerine (molekül kütlesi gibi), bağlı olduğu bilinmektedir (Goya ve ark., 2003). *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin doygunluk manyetizasyon değeri, boyaların giderilmesi çalışmalarında adsorpsiyon veya degradasyon sonrası *m*CHT-PGMA nanopartiküllerini boya çözeltilerinden ayırmak için, basit bir mıknatıs kullanılarak ayırmak için yeterlidir.

### 3.1.6. Partikül Boyut Dağılımı

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin boyut dağılımı zeta-sizer ile elde edildi. Ölçüm sonucunda partiküllerin boyut dağılımının oldukça dar bir aralığa sahip olduğu (PDI:0.419) ve ortalama hidrodinamik çapının ise 303 nm olduğu belirlendi (Şekil 3.8). Adsorpsiyon ve kromatografik uygulamalar için kolon dolgu materyali olarak sentezlenen partiküllerin monodispers yani eş boyutlu yapıda olması, uygulama boyunca kolonda düzenli bir akış oluşmasını sağlamaktadır. Bu sayede, kolon içinde kanallaşma olasılığı azalarak, akışkan kolon içinde partiküller ile kolaylıkla etkileşebilmekte ve daha etkin bir kütle transferi sağlanmaktadır. Bu doğrultuda, elde edilen manyetik nanopartiküllerin dar bir boyut dağılıma sahip olması, özellikle sürekli sistem uygulamaları için hazırlanacak kolon sistemlerinde önemli bir avantaj sağlayacağı düşünülmektedir.



Şekil 3.8. *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin boyut dağılım grafiği

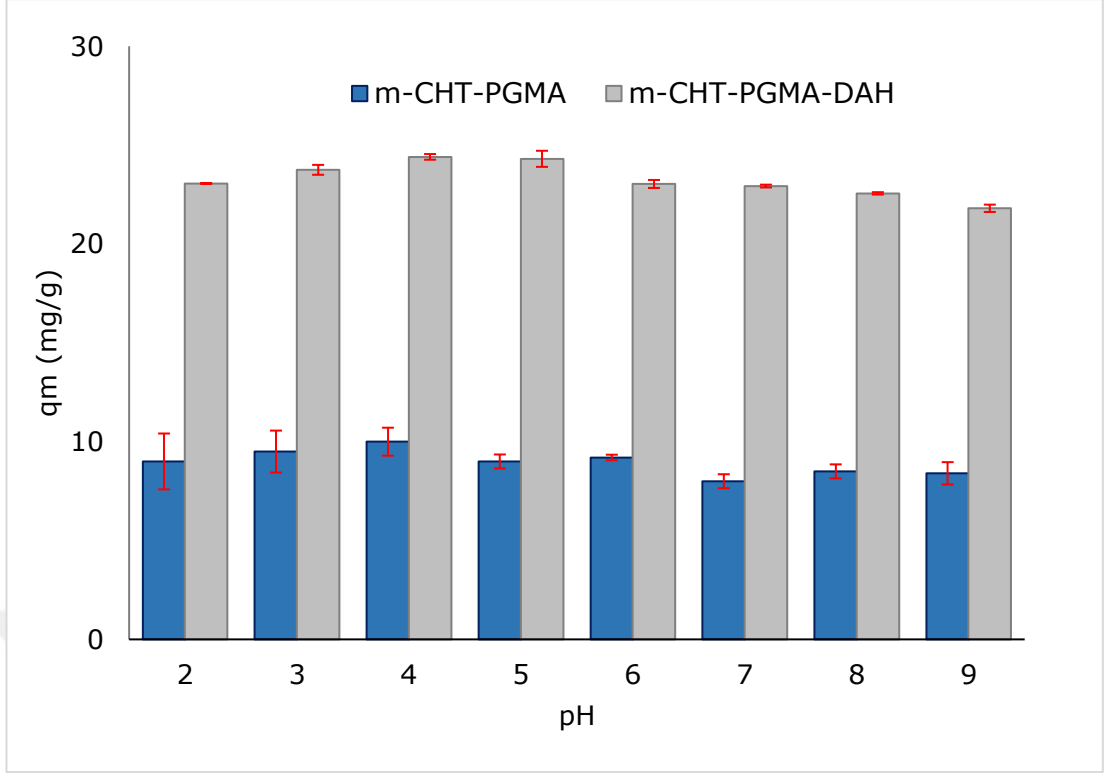
### 3.2. Anyonik Boya Adsorpsiyonu

Bu çalışmada, reaktif azo boyaların (RR-120; IC) sulu çözeltilerinden uzaklaştırılması için farklı iki yol kullanılmıştır. İlk olarak, epoksi grupları 1,6- DAH ile aktive edilen *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerin kullanılarak adsorpsiyon yolu kullanıldı. İkinci olarak yine epoksi gruplarının önce EDA daha sonra GA ile aktive edilmesinden sonra lakkaz enzimi immobilize edilen *m*CHT-PGMA-Lac nanopartikülleri ile degradasyon yolu kullanıldı. Adsorpsiyon ile anyonik boyaların uzaklaştırılmasında, pH, boya konsantrasyonu, manyetik nanopartikül miktarı ve sıcaklık gibi parametrelerin adsorpsiyon verimine etkisi incelendi.

#### 3.2.1. pH Etkisi

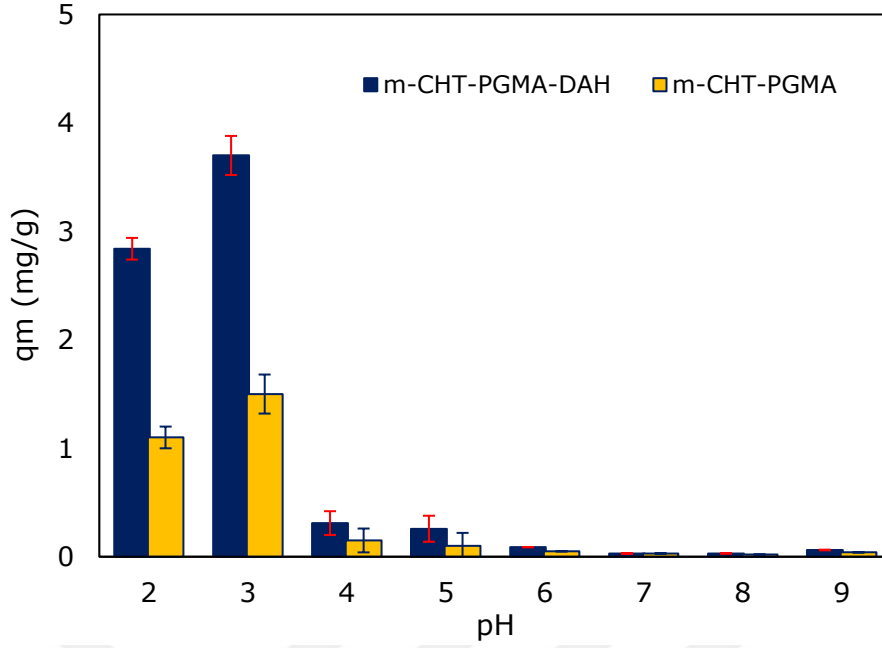
Adsorpsiyon prosesini etkileyen en önemli parametrelerden biri adsorpsiyon ortamının pH değeridir. *m*CHT-PGMA ve *m*CHT-PGMA-DAH nanopartikülleri kullanılarak RR-120 ve IC boyar maddelerinin adsorpsiyon ile uzaklaştırılmasında ortam pH'nın etkisi, 50 mg/L başlangıç konsantrasyonlu çözelti kullanılarak 25°C sıcaklıkta 360 dakika süresince çalkalanarak incelendi. RR-120 ve IC boyalarının çözeltilerinin pH'ı 3-9 aralığında değiştirilmiş ve pH'ın RR-120 ve IC adsorpsiyonuna etkisi sırasıyla Şekil 3.9 ve 3.10'da verilmiştir. Şekil 3.9'dan görüldüğü gibi, RR-120 için asidik koşullar olan pH 2-5 aralığında adsorpsiyon miktarı maksimumdur sonrasında ise azalmaktadır. Öte yandan, *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin epoksi gruplarının aktivasyonu ile elde edilen *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin adsorpsiyon miktarı *m*CHT-PGMA nanopartiküllerine göre daha yüksektir. Modifikasyon işlemi ile birlikte adsorpsiyon miktarı 2,6 kat artmıştır. pH 5'de *m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin adsorpsiyon miktarı 9,1 mg/g iken, *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin maksimum adsorpsiyon miktarı 24,9 mg/g olduğu belirlenmiştir.

Daha yüksek pH değerlerinde ise, adsorpsiyon miktarı azalmıştır. Düşük pH değerlerinde *m*CHT-PGMA-DAH yapısındaki amin (-NH<sub>2</sub>) grupları protonlanarak -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> gruplarına dönüşmektedir. Bu durum asidik karakterli olan, sülfonik asit grupları içeren boyar maddedeki -SO<sub>3</sub><sup>-</sup> grubu ile -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> grupları arasındaki elektrostatik çekimi arttırarak adsorpsiyon miktarında artışa sebep olmuştur.



**Şekil 3.9.** Adsorpsiyon çözeltisinin pH değerinin RR-120'nin adsorplanma miktarına etkisi (Başlangıç boya derişimi: 50 mg/L; adsorbent miktarı: 50 mg; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat)

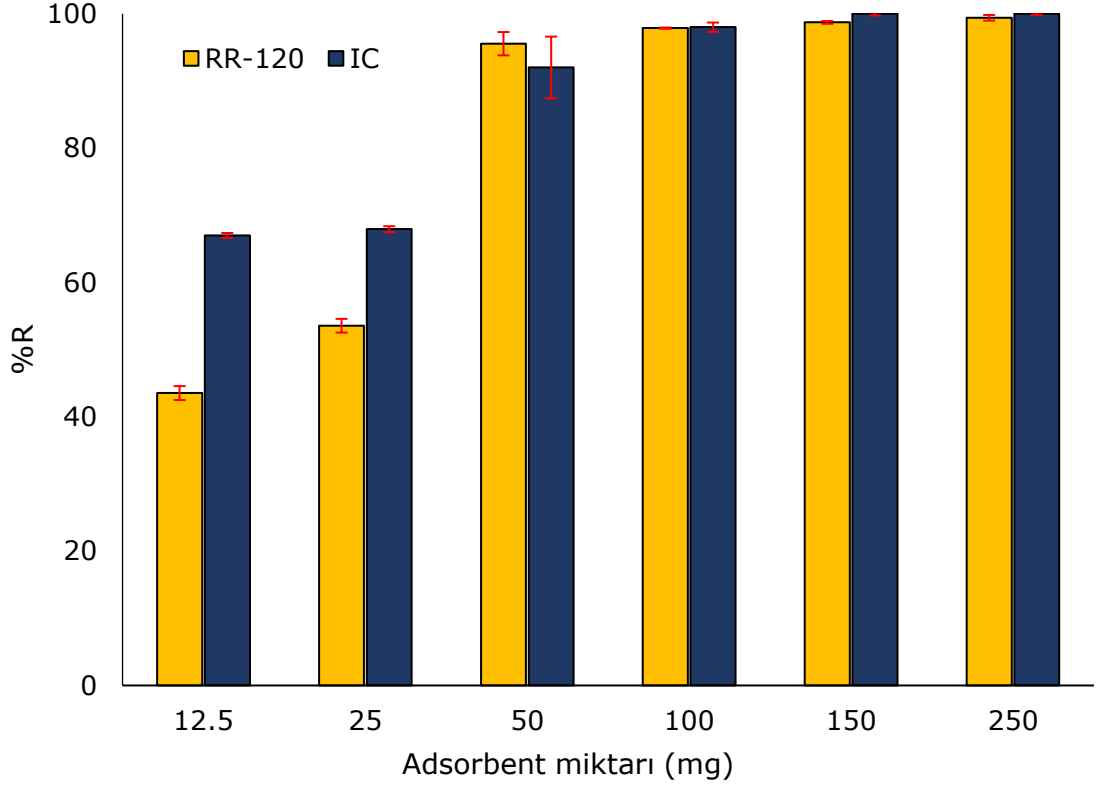
*m*CHT-PGMA-DAH nanopartikülleri ile IC adsorpsiyonunda asidik koşullarda yüksek adsorpsiyon miktarına ulaşılırken, pH'ın artması ile birlikte adsorpsiyon miktarının da azaldığı görüldü. Yalnızca, bu azalma davranışının IC'de daha ani ve keskin olduğu belirlendi (Şekil 3.10). Adsorpsiyon kapasitesindeki azalma, yüksek pH değerlerinde ortamdaki aşırı OH<sup>-</sup> gruplarının anyonik karakterli olan boyar madde molekülleri ile yarışması ve ayrıca protonlanmış NH<sub>3</sub><sup>+</sup> gruplarının deprotone olması sonucunda boya molekülleri ve adsorbent arasındaki elektrostatik etkileşmenin azalmasından kaynaklanmaktadır. Şekil 3.9 ve Şekil 3.10 değerlendirildiğinde, RR-120 ve IC için optimum pH değeri sırasıyla 5,0 ve 3,0 olarak belirlendi ve bundan sonraki deneylerde boya çözeltilerinin pH değerleri RR-120 için 5,0 , IC için 3,0 olarak ayarlandı.



**Şekil 3.10.** pH değerinin *m*CHT-PGMA ve *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin IC adsorpsiyon kapasitesine etkisi (Başlangıç boya derişimi: 10 mg/L; adsorbent miktarı: 50 mg; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat)

### 3.2.2. Adsorbent Miktarının Etkisi

12,5-250 mg aralığında değişen miktarlarda *m*CHT-PGMA-DAH nanopartikülleri kullanılarak RR-120 ve IC anyonik boyaların adsorpsiyon verimine etkisi incelendi. Şekil 3.11'den görüldüğü gibi % giderim oranı, adsorban miktarının 12,5 mg'dan 250 mg'a kadar artırılması ile, RR-120 için % 67'den % 100'e, IC için ise %43,53'den %99,6'ya artmaktadır. Bununla birlikte, artış 100 mg adsorban miktarından sonra neredeyse aynıdır. Boyar madde giderim oranındaki bu artış adsorbent miktarının artması ile birlikte, boya moleküllerinin bağlanabileceği noktaların artmasından kaynaklanmaktadır.



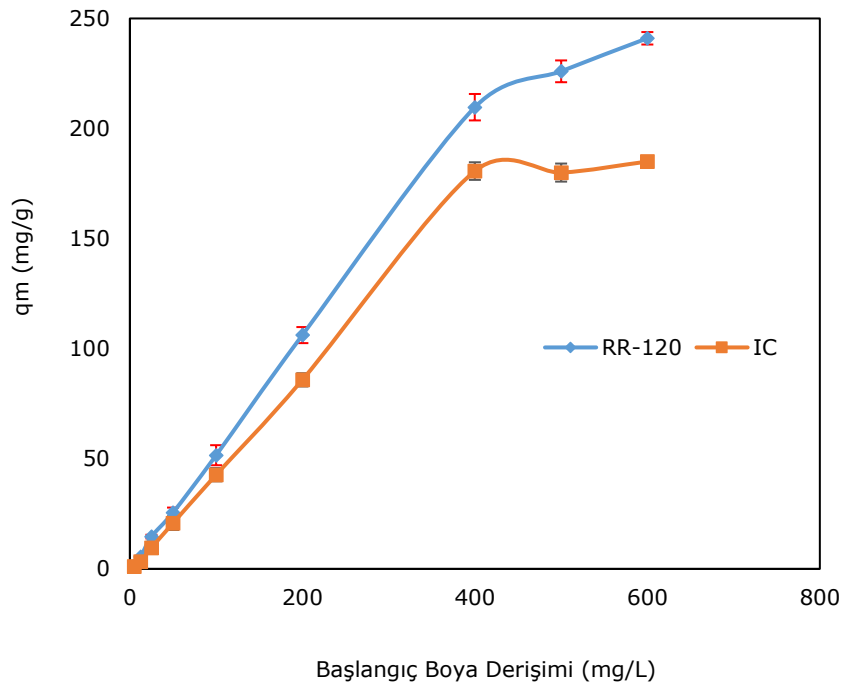
**Şekil 3.11.** Adsorbent miktarının % boya giderimi üzerine etkisi (Başlangıç boya derişimi: 50 mg/L; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat; pH: RR-120 için 5,0; IC için 3,0)

### 3.2.3. Başlangıç Boya Derişiminin Etkisi ve İzoterm Modelleri

Kesikli sistemde gerçekleştirilen RR-120 ve IC adsorpsiyonu çalışmasında, başlangıç boya konsantrasyonunun adsorpsiyon kapasitesi incelenmiş (Şekil 3.12) ve elde edilen veriler Freundlich, Langmuir ve Dubinin-Radushkevich izoterm modellerine uygulanmıştır. Şekil 3.12'den görülebileceği gibi, başlangıç boya konsantrasyonu arttıkça adsorpsiyon kapasitesinde de artış gözlenmiş, IC için 500 mg/L derişiminde bir plato değerine ulaşılırken, RR-120 adsorpsiyon kapasitesinde artış devam etmiştir. Belirlenen deneysel koşullarda ulaşılan maksimum adsorpsiyon kapasiteleri RR-120 ve IC için sırasıyla 241 mg/g ve 185 mg/g'dır. Literatürde RR-120 ve IC boyaalarının adsorpsiyon yolu ile uzaklaştırılmasında kullanılan adsorbanlara ait farklı kapasiteler rapor edilmiştir.

Jawad ve arkadaşları, TiO<sub>2</sub> nanopartikülleri içeren GA ile çapraz bağlanmış kitosan partiküllerin RR-120 adsorpsiyon kapasitesinin 303 K'de 103,1 mg/g olduğunu belirlemiştir (Jawad ve ark., 2020).

Aynı grubun başka bir çalışmasında, epiklorhidrin ile modifiye edilen kitosan kürelerin RR-120 uzaklaştırma kapasitesi 81,3 mg/g olduğu belirtilmiştir (Jawad ve ark., 2019a). Çelekli ve arkadaşları, *Moringa oleifera* bitkisinin RR-120 adsorpsiyon davranışını incelemiş, maksimum adsorpsiyon kapasitesini 413,32 mg/g olarak belirlemiştir (Çelekli ve ark., 2019). Başka bir çalışmada, etilen glikol diglisidil eter-kitosan filmin RR-120 adsorpsiyon performansı araştırılmış ve maksimum adsorpsiyon kapasitesi 165,3 mg/g olarak rapor edilmiştir (Jawad ve ark., 2019b). IC adsorpsiyonuna yönelik yapılmış çalışma sınırlıdır. Kömür kullanılarak, endüstriyel atık sulardan IC uzaklaştırılmış ve Langmiur adsorpsiyon kapasitesi 0,560 mol/g olduğu rapor edilmiştir (Gupta ve ark., 2010). Değerlendirmeler sonucunda, sentezlenen *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin anyonik boya uzaklaştırılmasında, etkin bir malzeme olarak kullanılabilceği düşünülmektedir.



**Şekil 3.12.** Başlangıç boya derişiminin etkisi (Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat; pH: RR-120 için 5,0; IC için 3,0; Adsorbent miktarı: 50 mg)

Adsorpsiyon izotermi boya molekülleri ile adsorbent yüzeyi arasındaki etkileşimi tanımlayabilmek için önemlidir. Literatürde, teorik ve deneysel olarak üretilmiş çok sayıda izoterm modeli kullanılmaktadır (Gupta ve Babu, 2009).

Bu çalışmada, Langmuir, Freundlich ve Dubinin-Raduskevich izoterm modelleri, boya-adsorbent etkileşimlerini tanımlayabilmek için kullanıldı. Çalışılan her bir boya için bu izotermelerden elde edilen sabitler ve korelasyon katsayıları Tablo 3.1’de verildi.

Tablo 3.1’e bakıldığında, çalışılan her iki boya için tüm izotermelerden elde edilen  $R^2$  değerleri 0,90’dan büyük olduğu görülmektedir. Bu nedenle, tüm izoterm modellerinin deneysel veriler ile uyumlu olduğu söylenebilir. Eşitlik 2.3 kullanılarak 298 K de  $1/C_e$ ’ye karşı  $1/q_e$  çizilerek (grafiğe tez içinde yer verilmedi), her iki boya için Langmuir sabitleri ( $K_L$  ve  $q_m$ ) hesaplandı (Tablo 3.1). Freundlich izoterm modeli heterojen yüzeylere adsorpsiyonu tarif eder. Eşitlik 2.4’e göre  $\ln C_e$ ’ye karşı  $\ln q_e$  çizildiği zaman sırasıyla eğim ve kaymadan  $1/n$  ve  $K_F$  değerleri hesaplandı ve Tablo 3.1’de verildi. Yüksek korelasyon değerlerine dayanarak, RR-120 boyasının *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerine adsorpsiyonu, Langmuir izotermi ile büyük oranda uyum sağlarken, IC boyasının adsorpsiyon davranışı Freundlich izoterm modeli ile daha uyumlu olduğu söylenebilir. Langmuir izoterm modeli, adsorban yüzeyinin çoğunlukla tek bir tabaka oluşacak şekilde homojen biçimde boya molekülleri ile kaplandığını gösterir. Freundlich izoterm modeline göre  $K_F$  değeri RR-120 ve IC boya için sırasıyla, 1,20 ile 2,1 olarak bulunmuştur. Hesaplanan  $K_F$  değerlerinden, çalışılan her iki boyanın da *m*CHT-PGMA-DAH partiküllerine ilgisinin yüksek olduğu görülmektedir. Diğer taraftan,  $n$  değerlerinin büyüklüğü de adsorpsiyonun elverişliliği hakkında bilgi vermektedir.  $1/n$  değerleri için; ( $1/n=0$ ) ise adsorpsiyon tersinmez, ( $0<1/n<1$ ) ise adsorpsiyon elverişli ve ( $1/n>1$ ) ise adsorpsiyon elverişsiz olarak tanımlanmaktadır (Greluk ve Hubicki, 2010; Yang ve Feng, 2010; Özcan ve ark., 2007). Her iki boya için elde edilen  $1/n$  değerleri, adsorpsiyonun istemli olduğunu ve adsorbent yüzeyinin heterojen yapıda olduğunu göstermiştir. Sonuçlar dikkate alındığında adsorpsiyon mekanizmasının bazı bölgelerde tek tabakalı bazı bölgelerde ise heterojen yapıda gerçekleştiği görülmektedir.

Bununla birlikte, Eşitlik 2.5 kullanılarak  $\varepsilon^2$ ’ye karşı  $\ln q_e$  grafiği çizilerek elde edilen doğru denkleminde Dubinin–Radushkevich izoterm modeline ait sabitler hesaplanarak Tablo 3.1’de verildi.

Bu verilere göre, RR-120 ve IC boyaalarının *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerine adsorpsiyon işleminin enerjisi, fiziksel adsorpsiyonu tanımlayan 1-16 kJ/mol aralığında bulunmuştur. Bu da RR-120 ve IC boyaalarının adsorpsiyonun moleküllerarası zayıf etkileşimler ile gerçekleştiği ve fiziksel adsorpsiyonun meydana geldiğini göstermektedir.

**Tablo 3.1** RR-120 ve IC adsorpsiyonu izoterm modellerinden elde edilen sabitler

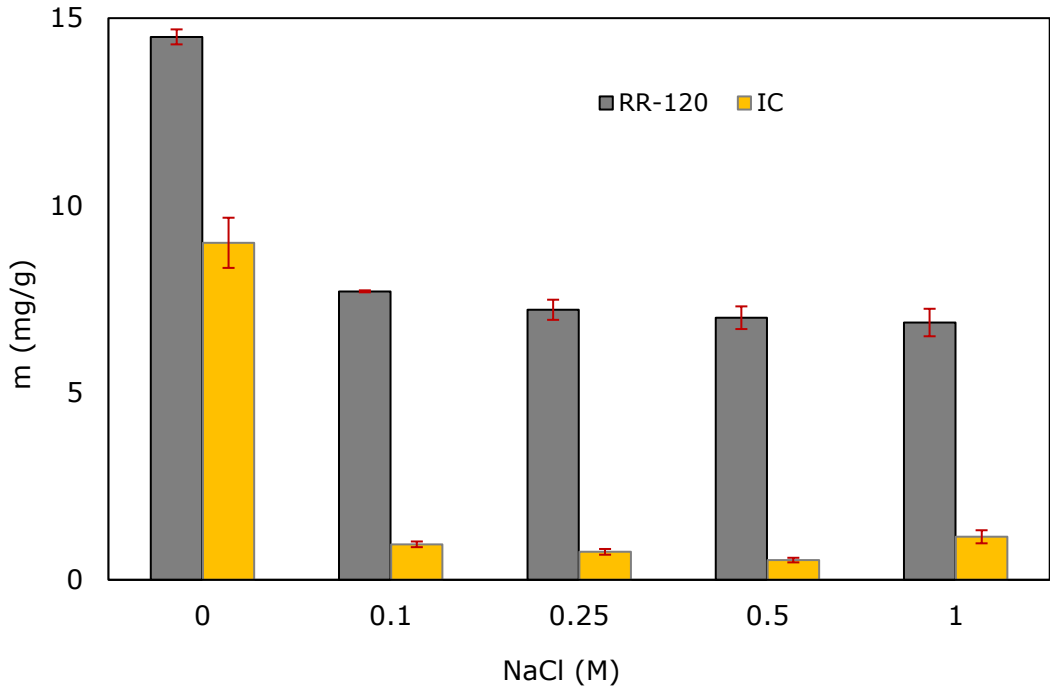
<i>İzoterm model</i>	<i>Model Parametreleri</i>		
<i>Langmuir</i>	$K_L \times 10^3$ (L/mg)	$Q_m$ (mg/g)	$R^2$
RR-120	1.77	333	0.994
IC	1.05	250	0.986
<i>Freundlich</i>	$K_F$ (mg/g(L/mg) <sup>1/n</sup> )	$1/n$	$R^2$
RR-120	1.2	0.851	0.969
IC	2.1	0.921	0.994
<i>D-R</i>	$Q_{D-R}$ (mg/g)	$E$ (kJ/mol)	$R^2$
RR-120	256	4.08	0.970
IC	212	3.53	0.984

### 3.2.4. İyonik Şiddetin Etkisi

Boya atık suları, boyama prosesinde genellikle tuzlarında kullanılması nedeniyle tuz içermektedir. Bu nedenle atık sulardan boya uzaklaştırılması çalışmalarında tuzların etkisinin incelenmesi faydalıdır. Bu doğrultuda, *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin sulu ortamdan boya uzaklaştırma verimliliğine iyonik şiddetin etkisi adsorpsiyon ortamına 0 - 1 M derişim aralığında NaCl eklenerek incelendi ve sonuçlar Şekil 3.13’de verildi.

Adsorpsiyon ortamında tuz derişiminin arttırılması ile adsorpsiyon verimliliğinde en çok azalmanın IC reaktif boyasında olduğu gözlemlendi. Bu boyanın uzaklaştırılma verimliliği, ortamda tuz derişimi 1 M’a ulaştığında yaklaşık olarak 8 kat azaldığı belirlendi. RR-120 uzaklaştırma verimliliği ise yaklaşık olarak 2 kat azaldı. Bu sonuç ile destek materyali ve IC boyasındaki etkileşimlerin daha çok elektrostatik etkileşimler iken, RR-120 adsorpsiyon davranışında etkili moleküler arası etkileşimlerin iyon değişimi veya hidrofobik etkileşimler olduğu düşünölmektedir.

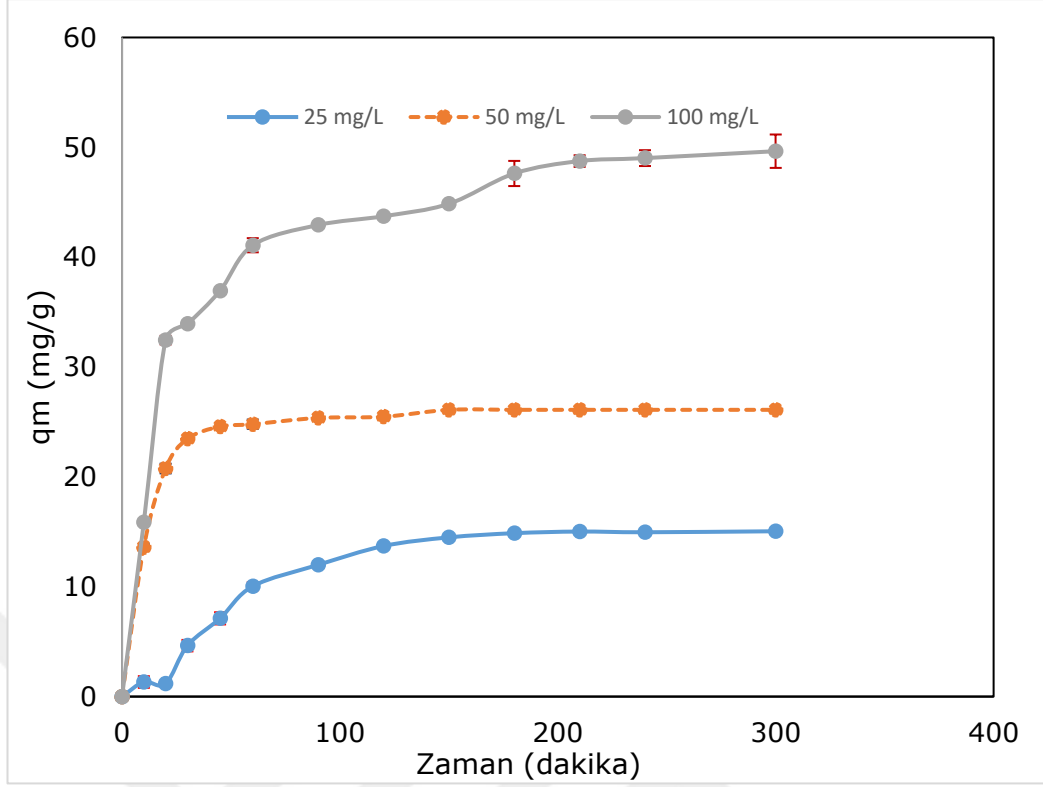




**Şekil 3.13.** İyonik şiddetin adsorpsiyona etkisi (Başlangıç boya derişimi: 25 mg/L; Çözelti Hacmi:25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat; pH: RR-120 için 5,0; IC için 3,0; Adsorbent miktarı: 50 mg)

### 3.2.5. Adsorpsiyon Süresinin Etkisi ve Kinetik Modeller

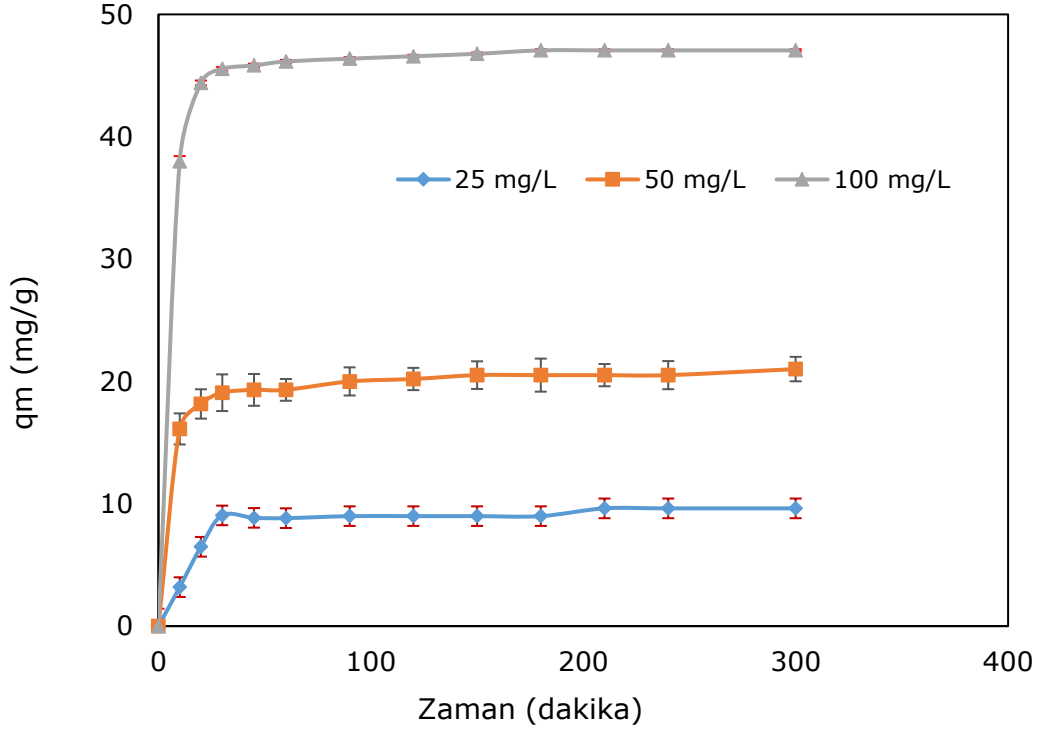
Adsorpsiyon süresinin boya uzaklaştırma verimliliği üzerine etkisi farklı başlangıç boya derişimlerinde incelenerek, RR-120 ve IC boylarının *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerine adsorpsiyonun zamanla değişim grafiği sırasıyla Şekil 3.14 ve Şekil 3.15’de verildi.



**Şekil 3.14.** RR-120 adsorpsiyonuna zamanın etkisi (Çözelti Hacmi:25 ml; pH= 5,0; Adsorbent miktarı: 50 mg)

Şekil 3.14'e bakıldığında, RR-120'nin adsorpsiyonu düşük derişimde başlangıçta yavaştır, derişimin artmasıyla birlikte adsorpsiyonun başlangıç hızı da artmaktadır. Bununla birlikte yine 25 mg/L ve 50 mg/L derişimlerinde 50 dakika sonra adsorpsiyon dengeye yaklaşmaktadır. 100 mg/L başlangıç boya derişiminde 200 dakika sonrasında dengeye yaklaştığı görülmektedir. 240 dakikadan sonra adsorplanan madde miktarı değişmeyerek dengeye ulaşmıştır. Yüksek derişimde gözlenen bu davranış, RR-120 uzaklaştırılması için adsorpsiyon olayının iki aşamalı olduğu söylenebilir. Hızlı faz olarak da isimlendirilen birinci aşamada, boya moleküllerinin adsorbent yüzeyine adsorpsiyonu hızlı ve anidir. İkinci aşama ise yavaş basamaktır, bu aşamada adsorpsiyon hızı daha yavaştır ve adsorpsiyon dengesine yaklaşılr (Han ve ark., 2009).

IC boyasının adsorpsiyon davranışı ise, RR-120'den farklı olarak, tüm derişimlerinde oldukça hızlı bir başlangıç adsorpsiyon hızına sahiptir ve tüm derişimlerde yaklaşık 50 dakikadan sonra dengeye yaklaşmaya başlamıştır (Şekil 3.15).



**Şekil 3.15.** IC adsorpsiyon kapasitesine zamanın etkisi (Çözelti Hacmi:25 ml; pH= 3,0; Adsorbent miktarı: 50 mg)

Adsorpsiyon prosesinin tasarlanması için adsorpsiyon hızı önemli bir parametredir. Atık su iyileştirilmesi ve boya giderimi gibi uygulamalar hızlı adsorpsiyon ve kısa temas süresine ihtiyaç duymaktadır. RR-120 ve IC gibi anyonik boya ların gideriminde *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin ilgisini araştırmak için birinci derece kinetik eşitlik ve ikinci derece kinetik eşitlik modelleri kullanıldı ve modellere ait sabitler belirlenerek Tablo 3.2’de verildi.

Tablo 3.2’de, RR-120 ve IC reaktif boya ları için yapılan hesaplamalarda birinci ve ikinci merteye kinetik modellere ait korelasyon katsayıları ( $R^2$ ) karşılaştırıldığında, her iki boya için ikinci merteye kinetik modelin daha yüksek korelasyon katsayına sahip olduğu görülmektedir. Bununla birlikte deneysel olarak elde edilen adsorpsiyon kapasitesi ile kinetik eşitlikten hesaplanan kuramsal adsorpsiyon kapasitesi değeri de hemen hemen aynıdır. Bu nedenle, RR-120 ve IC boya larının *m*CHT-PGMA-DAH nanopartikülleri ile sulu çözeltilerden giderilme işleminin ikinci merteye kinetik model ile uyumlu olduğu görüldü.

**Tablo 3.2.** Birinci ve İkinci mertebe kinetik eşitliklere ait sabitler

Boya	Birinci mertebe kinetik eşitlik				İkinci mertebe kinetik eşitlik		
	$q_{e,exp}$ mg/g	$q_m$ mg/g	$k_1$	$R^2$	$q_m$ mg/g	$k_2 \times 10^3$	$R^2$
<i>RR-120</i>							
<b>25 mg/L</b>	15.05	4.196	0.0287	0.9764	17.18	1.68	0.9939
<b>50 mg/L</b>	26.11	2.450	0.0262	0.8403	26.73	6.90	0.9997
<b>100 mg/L</b>	49.65	4.490	0.0188	0.8909	52.63	1.10	0.9984
<i>IC</i>							
<b>25 mg/L</b>	9.25	4.07	0.121	0.9481	9.84	11.60	0.9963
<b>50 mg/L</b>	21.01	1.79	0.0014	0.9257	20.96	14.1	0.9997
<b>100 mg/L</b>	47.06	1.55	0.0166	0.9621	47.39	15.5	0.9999

### 3.2.6. Sıcaklığın Etkisi ve Termodinamik Hesaplamalar

Sıcaklık, adsorbentlerin kapasitesini, prosesin taşınma ve kinetik davranışını etkileyen önemli bir parametredir. Bu nedenle, adsorpsiyon prosesinin entalpi değişimi ( $\Delta H^\circ$ ), entropi değişimi ( $\Delta S^\circ$ ) ve serbest enerji değişimi ( $\Delta G^\circ$ ) aşağıda verilen eşitlikler kullanılarak hesaplandı (Wang ve ark., 2010).

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K \quad (3.2)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ \quad (3.3)$$

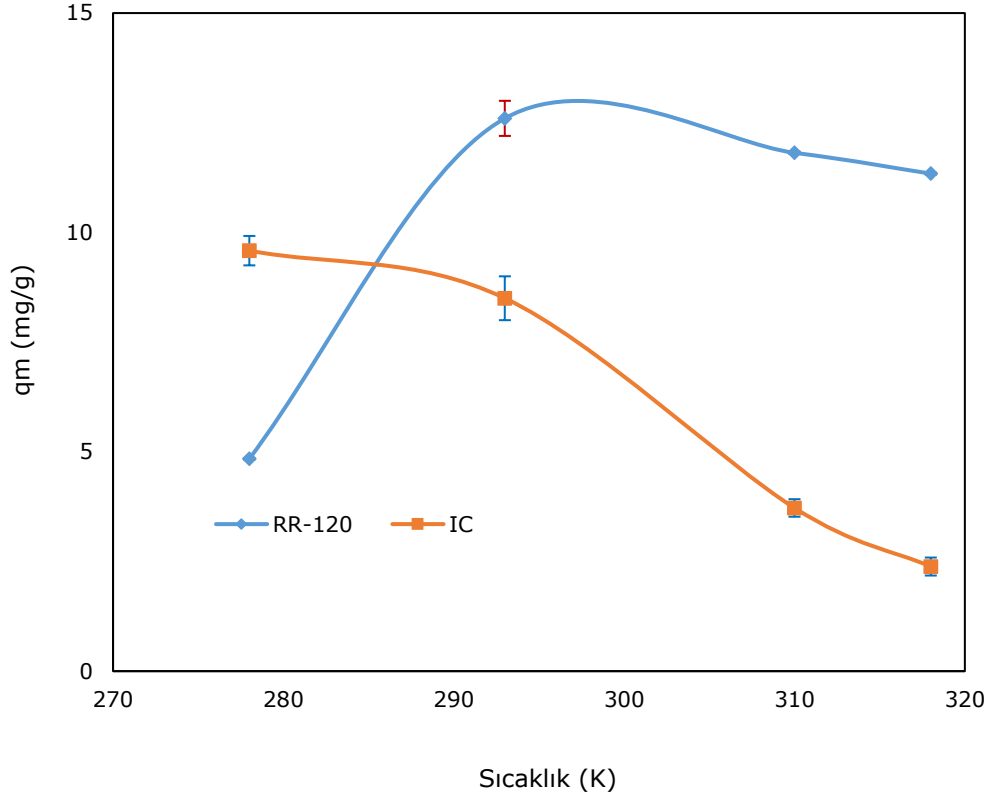
Yukarıdaki iki eşitliğin birleştirilmesi ile:

$$\ln K = -\Delta H^\circ / RT + \Delta S^\circ / R \quad (3.4)$$

Eşitliği elde edilir. Burada R, gaz sabiti (8,314 J/mol K), T sıcaklık (K) ve K ise denge sabitidir.

RR-120 ve IC boyalarının *m*CHT-PGMA-DAH üzerine adsorpsiyonuna sıcaklığın etkisini belirlemek için 274, 293, 310 ve 318 K sıcaklıklarında çalışıldı (Şekil 3.16). Sıcaklığın 274 K'den 293 K'e artırılmasıyla birlikte, RR-120'nin adsorpsiyon kapasitesi arttı ve sıcaklığın daha fazla arttırılması ise adsorpsiyon kapasitesini etkilemedi.

Öte yandan, IC'nin adsorpsiyon kapasitesinin 274 K'de en yüksek değerde olduğu, sıcaklığın artması ile birlikte adsorpsiyon kapasitesinin azaldığı belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre, IC/*m*CHT-PGMA-DAH adsorbat/adsorbent çifti arasındaki etkileşimlerin moleküller arası zayıf etkileşimlere dayandığı, sıcaklığın artması ile bu zayıf kuvvetlerin bozulduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar, daha önce iyonik şiddetin etkisi incelendiğinde elde edilen sonuçlar ile uyum içindedir. Sonuç olarak, RR-120 boyasının *m*CHT-PGMA-DAH nanopartikülleri üzerine adsorpsiyonun endotermik, IC adsorpsiyonunun da ekzotermik olduğu, zayıf etkileşimlerin rol oynadığı fiziksel adsorpsiyon doğasında olduğu söylenebilir.



**Şekil 3.16.** Sıcaklığın adsorpsiyon kapasitesine etkisi (Başlangıç boya derişimi: 50 mg/L; Çözelti Hacmi: 25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat; pH: RR-120 için 5,0; IC için 3,0; Adsorbent miktarı: 100 mg)

Eşitlik (3.3) kullanılarak  $1/T$ 'ye karşı  $\ln K$  grafiği çizilerek (tez içeriğinde verilmemiştir), RR-120 ve IC için standart entalpi değişimleri ( $\Delta H^\circ$ ) sırasıyla +14,39 kJ/mol ve - 38,91 kJ/mol olarak hesaplandı. Adsorpsiyon prosesi, entalpi değişiminin büyüklüğüne bağlı olarak fiziksel ve kimyasal olarak sınıflandırılabilir. Entalpi değişiminin büyüklüğü 84 kJ/mol'den az ise, adsorpsiyon fiziksel olarak kabul edilir, bununla birlikte bu büyüklük 84 - 420 kJ/mol aralığında ise kimyasal adsorpsiyon gerçekleştiği düşünülmektedir (Errais ve ark., 2011). RR-120 adsorpsiyonuna ait elde edilen pozitif  $\Delta H^\circ$ , adsorpsiyon prosesinin endotermik olduğunu gösterirken, IC adsorpsiyonuna negatif  $\Delta H^\circ$  değeri, adsorpsiyonun ekzotermik olduğunu göstermektedir. Ayrıca, her iki boyanın  $\Delta H^\circ$  değerlerinin büyüklüğü adsorpsiyon doğasının fiziksel olduğunu ve van der waals gibi zayıf etkileşimleri kapsadığı fikrini desteklemektedir.

Tablo 3.3'e bakıldığında, çalışılan her iki boya için hesaplanan  $\Delta G^\circ$  değerleri tüm sıcaklık değerlerinde negatif değerdedir. Bu sonuç, sulu çözeltilerden anyonik boyaların *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerine adsorpsiyonunun kendiliğinden olduğunu göstermektedir.

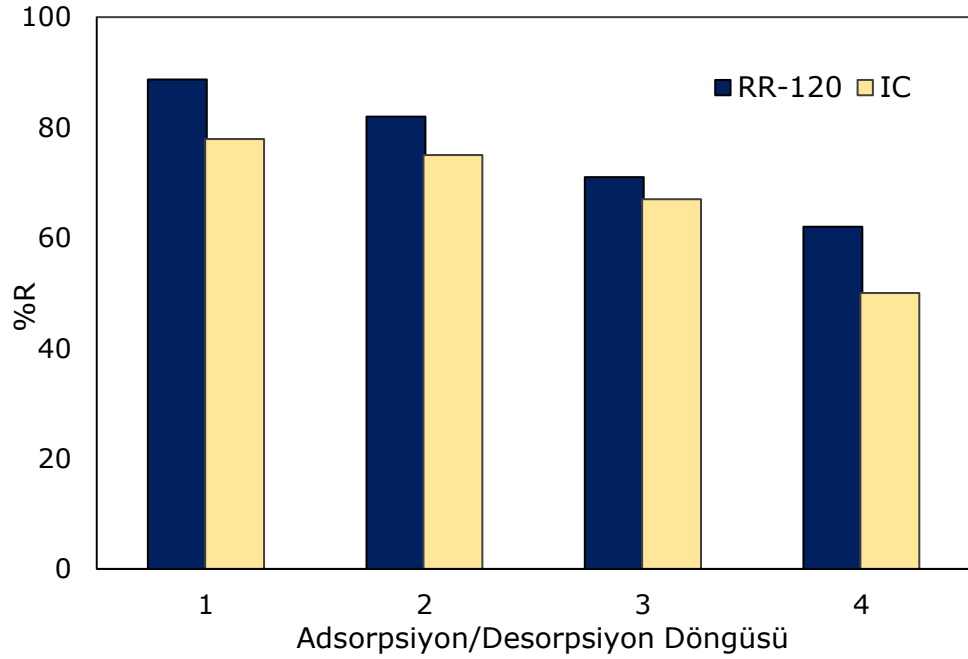
Ayrıca, RR-120 adsorpsiyonunun davranışının sıcaklığın artışı ile birlikte daha elverişli hale gelirken, IC adsorpsiyon davranışının tersine olumsuz etkilendiği azalan serbest entalpi değerlerinden de görülmektedir. Bunun yanı sıra, pozitif  $\Delta S^\circ$  değeri, adsorpsiyon prosesi süresince katı-çözelti ara yüzeyinde düzensizliğin arttığını, entropi değerinin negatif olması, boyar madde adsorpsiyonu süresince katı-çözelti ara yüzlerinde düzensizliğin azaldığını göstermektedir (Han ve ark., 2010).

**Tablo 3.3. Termodinamik Parametreler**

	RR-120				IC			
T(K)	274	293	308	313	274	293	308	313
$\Delta G^\circ$ (kJ/mol)	-11.46	-13.26	-14.67	-15.14	-12.52	-10.68	-9.24	-8.75
$\Delta H^\circ$ (kJ/mol)	+14.39				-38.91			
$\Delta S^\circ$ (J/mol K)	94.36				-96.33			

### 3.2.7. Desorpsiyon ve Tekrar Kullanılabilirlik

Adsorpsiyon işlemlerinde, adsorbanın kullanımının azaltılması için tekrar kullanılabilirliğinin yüksek olması istenir. Şekil 3.17’de *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin RR-120 ve IC adsorpsiyonunda tekrar kullanılabilirliği görülmektedir.

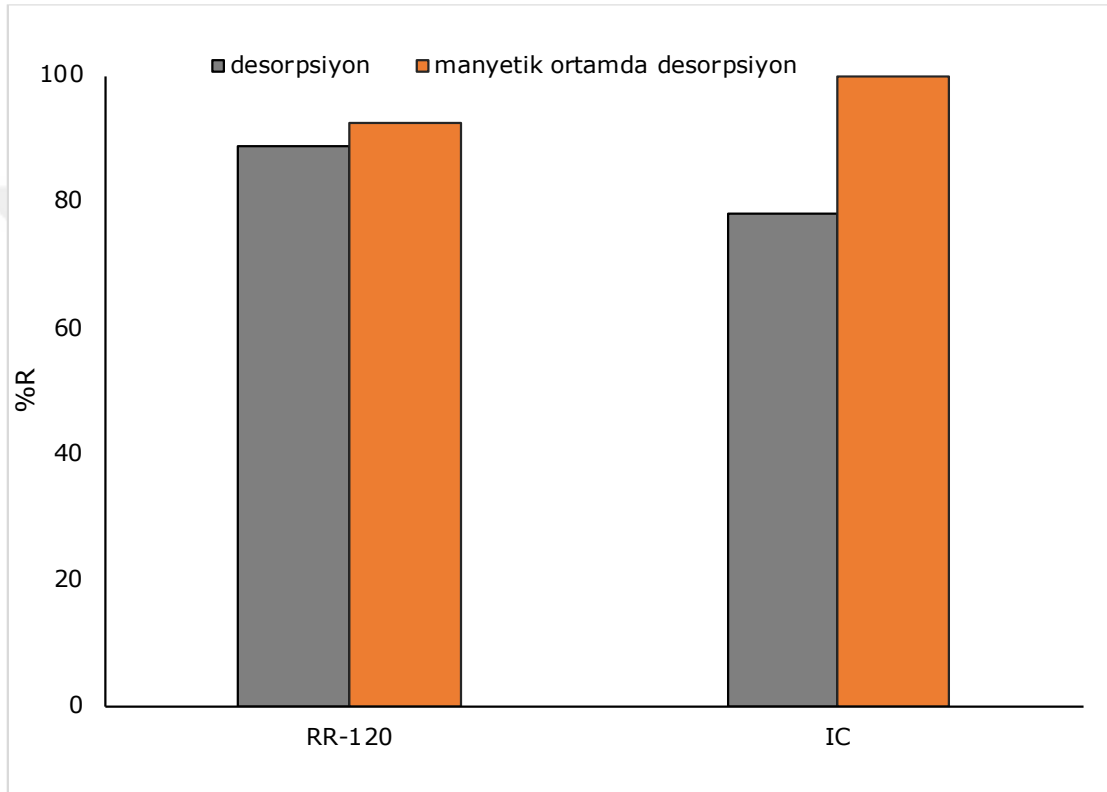


**Şekil 3.17.** *m*CHT-PGMA-DAH NPs’lerinin tekrar kullanılabilirliği (**Adsorpsiyon:** Başlangıç boya derişimi: 50 mg/L; Çözelti Hacmi: 25 ml; Adsorpsiyon süresi: 4 saat; pH: RR-120 için 5,0; IC için 3,0; Adsorbent miktarı: 100 mg; **Desorpsiyon:** 0,1 M NaCl çözeltisi, 25 ml)

Adsorpsiyon-desorpsiyon döngüsü, aynı partiküllerin kesikli sistemde 4 kez kullanılması ile gerçekleştirilmiştir. 4. Döngüde adsorpsiyon veriminde RR-120 için % 26,7 ve IC için % 27,9 azalma görülse de, adsorbentin hala adsorplama işlemini sürdürdüğü görülmektedir (Şekil 3.17).

Desorpsiyon işlemine ayrıca dışarıdan uygulanan manyetik alanın etkisi de araştırıldı. Desorpsiyon ortamına yerleştirilen boya adsorplamış *m*CHT-PGMA-DAH nanokürelerine dışarıdan 0.5m Tesla manyetik alana ve 10 KHz frekansa sahip manyetik alan uygulanarak desorpsiyon işlemine katkısı araştırıldı (Şekil 3.18).

Şekilden de görüldüğü gibi, desorpsiyon işlemi sırasında uygulanan manyetik alan, polimer içinde bulunan manyetik çekirdeği hareketlendirerek, boya-adsorbent arasında kurulan etkileşimlerin kırılmasına yardımcı olmaktadır. Desorpsiyon oranındaki artış RR-120 için yaklaşık % 4 iken, IC için % 22,7 olarak belirlendi. Bu sonuç, hazırlanan *m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin güçlü bir manyetik özelliğe sahip olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.



**Şekil 3.18.** *m*CHT-PGMA-DAH NPs'lerinin desorpsiyon davranışına manyetik alan etkisi (**Desorpsiyon:** 0,1 M NaCl çözeltisi, 25 ml, Frekans: 10 KHz, Alan: 50mT, Uygulama süresi: 4h)

### 3.3. Lakkaz immobilize *m*-CHT-PGMA Nanopartikülleri ile Anyonik Boya Giderimi

Tez çalışmasının ikinci aşamasında, RR-120 ve IC reaktif boyalarının uzaklaştırma işlemi, lakkaz enzimi immobilize edilen *m*CHT-PGMA nanopartikülleri ile gerçekleştirildi.



Bu amaçla, EDA ve GA ile modifiye edilen *m*CHT-PGMA nanopartiküllerine lakkaz immobilizasyonu kovalent bağlanma yöntemi ile gerçekleştirildi ve lakkaz immobilize manyetik nanopartiküller, *m*CHT-PGMA-EDA-Lac, elde edildi. *m*CHT-PGMA-EDA nanopartikülleri üzerine bağlanan enzim miktarının bulunması için immobilizasyon sonrası ve yıkama sularında Bradford yöntemi kullanılarak protein tayini yapıldı (Bradford.,1976). İmmobilizasyon sonrasında *m*CHT-PGMA-EDA nanopartikülleri üzerine bağlanan protein miktarı  $70 \pm 0,21$  mg/g olarak hesaplandı.

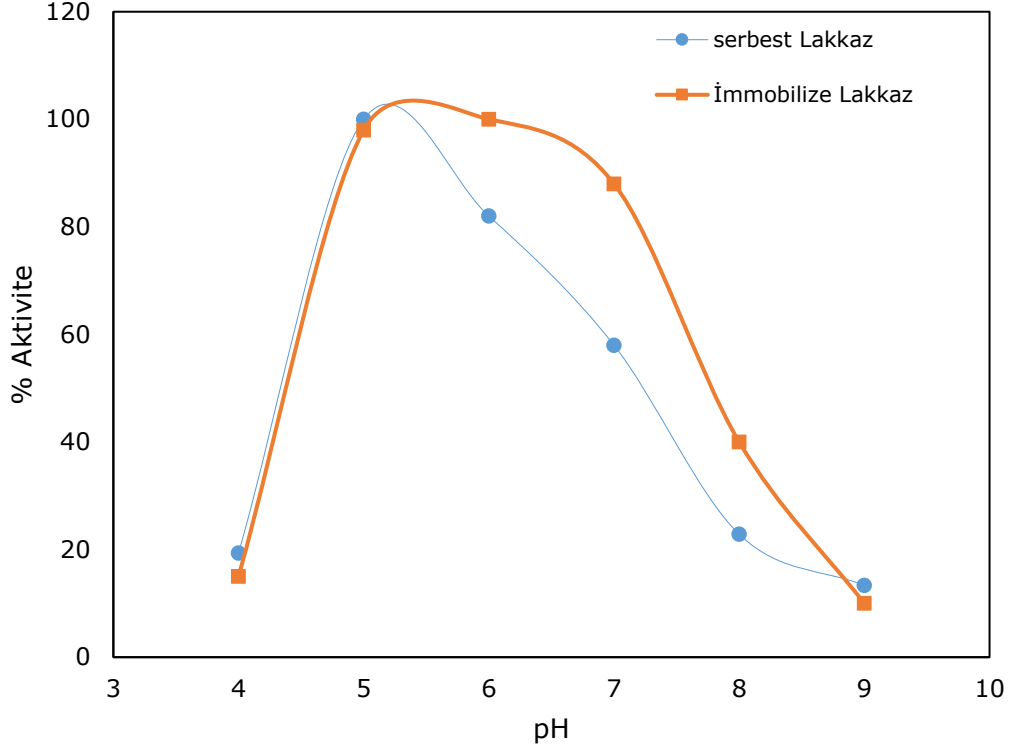
### 3.3.1. İmmobilize Enzimin Karakterizasyonu

#### 3.3.1.1. İmmobilize Enzimin Aktifliğine pH'm Etkisi

İmmobilize lakkazın aktifliği substrat olarak şiringaldizin kullanılarak belirlendi ve serbest enzim ile karşılaştırıldı. Enzim aktivitesi, 10-80  $\mu$ M derişim aralığında doğrusal olan şiringaldizin kalibrasyon eğrisinin eğimi kullanılarak hesaplandı. Serbest ve immobilize lakkazın optimum pH'mın belirlenmesi için pH 3-9 aralığında aktiviteleri ölçülerek, % aktivite değerleri hesaplandı. Şekil 3.19'den görülebileceği gibi, serbest ve *m*CHT-PGMA-EDA nanopartiküllerine immobilize edilmiş lakkazın optimum pH'ları sırasıyla, pH 5,0 (Asetat tamponu, 50 mM) ve pH 6,0 (Fosfat tamponu, 50 mM)'dır.

Enzimlerin immobilizasyonu sonucu, taşıyıcı üzerine bağlanma ile oluşan etkileşimlerden dolayı optimum pH değerlerinde bir kayma gözlenir. Bu kaymanın genellikle bazik ortama doğru bir birim şeklinde gerçekleştiği daha önceki çalışmalarda da rapor edilmiştir. Lu ve arkadaşları, serbest lakkaz enzimi için optimum pH'ı 3,0, immobilize lakkazın optimum pH değerini 4,5 olarak rapor etmişlerdir. Yine başka bir çalışmada, serbest lakkaz için optimum pH 4,0, immobilize lakkaz için optimum pH'mın 5.0 olduğu bildirilmiştir (Lu ve ark., 2007, Çorman ve ark., 2010). Dodor ve arkadaşları, *Trametes versicolor*' dan elde edilen lakkazı kaolinit üzerine immobilize etmiş, immobilize enzim için optimum pH'ı 4,5 olarak belirlemiştir (Dodor ve ark., 2004). Bu çalışmada elde edilen pH değişimi literatür ile uyum içinde olduğu görülmektedir. Öte yandan, immobilize enzimin serbest lakkaza göre daha geniş bir pH aralığında daha yüksek aktivite gösterdiği görülmektedir (Şekil 3.19).

Dolayısıyla, *m*CHT-PGMA-EDA-Lac nanopartiküllerinin, asidik ve nötral pH değerlerinde gerçekleştirilen uygulamalarda verimli bir şekilde kullanılabileceği düşünülmektedir.

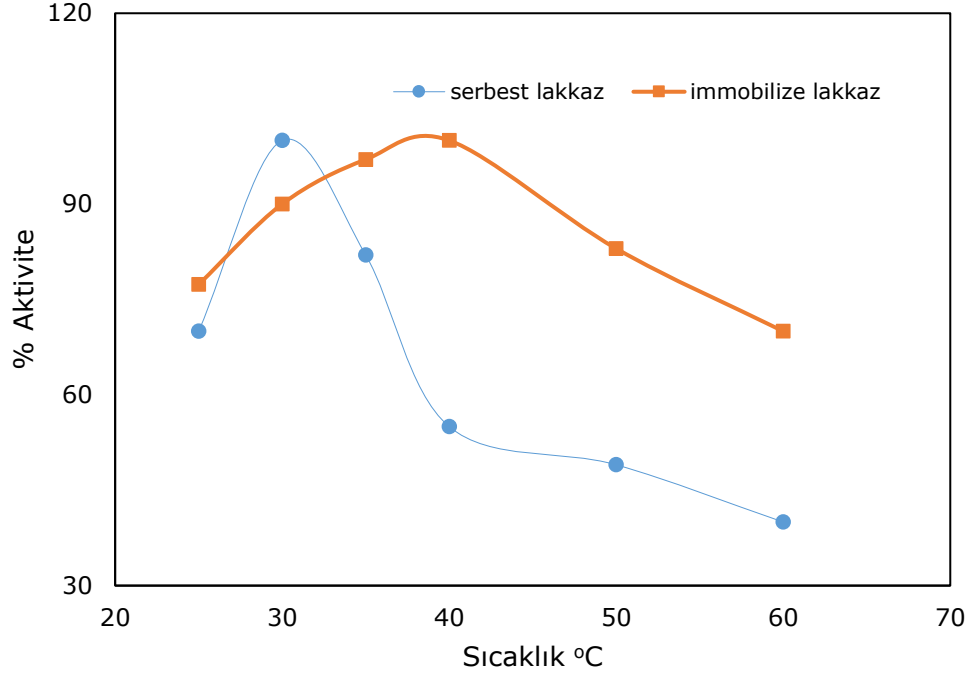


Şekil 3.19. Serbest ve immobilize lakkaz enziminin aktivitesine pH'ın etkisi

### 3.3.1.2. İmmobilize Enzimin Aktifliğine Sıcaklığın Etkisi

Serbest ve *m*CHT-PGMA-EDA-Lac nanopartiküllerindeki lakkaz enziminin maksimum aktivite gösterdiği sıcaklıklarının belirlenmesi için 25-50 °C arasındaki farklı sıcaklıklarda aktiviteleri ölçüldü ve % aktivite değerleri hesaplanarak Şekil 3.20' de gösterildi. Serbest enzimin maksimum aktivite gösterdiği sıcaklık 30°C iken, immobilize lakkaz enziminin sıcaklığı 40 °C olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, enzimin daha yüksek sıcaklıklarda aktivite kaybı, serbest enzime göre oldukça düşüktür. Bu sonuç lakkaz enziminin *m*CHT-PGMA-EDA nanopartiküllerine kovalent olarak bağlanması ile termal açıdan dayanıklılığının arttığını göstermektedir. Literatürde yer alan çalışmalarda, serbest ve immobilize lakkaz enzime ait farklı sıcaklık değerleri rapor edilmiştir.

Örneğin, *Trametes versicolor* kaynaklı lakkaz enziminin ABTS substratına karşı optimum sıcaklık değeri 40 °C olarak belirlenmiş (Kalkan ve ark., 2012) yine aynı kaynaktan elde edilen lakkazın siringaldizin substratına karşı maksimum aktivitesinin 30 °C olduğu bildirilmiştir (Alver ve Metin, 2017).



Şekil 3.20. Serbest ve immobilize lakkaz enziminin aktivitesine sıcaklığın etkisi

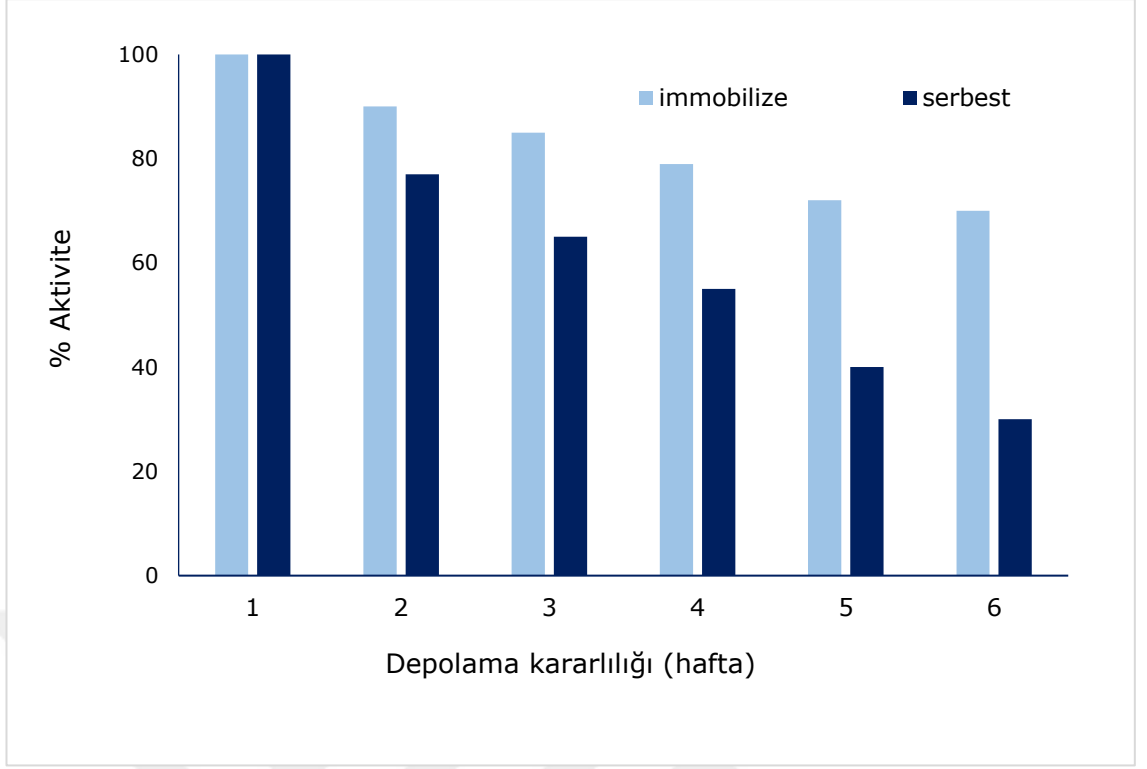
### 3.3.1.3. Enzim Kinetiği

İmmobilize enzimin kinetiği, enzim aktifliğine substrat derişiminin etkisi incelenerek belirlendi ve serbest enzim kinetiği ile karşılaştırıldı. Bu amaçla, substrat derişiminin 0,010-0,080 mM olduğu aralıkta çalışıldı. Eşitlik 2.15’de verilen Lineweaver-Burk Eşitliğinden,  $V_{mak}$  ve  $K_m$  değerleri hesaplandı. Serbest enzim için  $K_m$  değeri 0.057 mM ve  $V_{mak}$  değeri  $7,8 \times 10^{-3}$  mM.dak<sup>-1</sup> olarak bulunurken, immobilize enzim için  $K_m$  değeri 0,065 mM ve  $V_{mak}$  değeri  $1,75 \times 10^{-3}$  mM.dak<sup>-1</sup> olarak hesaplandı.  $K_m$  sabiti, enzimin substrata olan ilgisinin bir ölçüsüdür.  $K_m$ , enzimin elde edildiği kaynağa, substrat türü ve derişim aralığına bağlı olarak derişim gösterebilmektedir. Enzim herhangi bir yöntem ile immobilize edildiğinde,  $K_m$  değeri artabilir ya da azalabilir.

*Lentinula edodes*'ten elde edilmiş serbest lakkazın  $K_m$  değeri 70  $\mu\text{M}$  ve *Cerrena unicolor*'dan elde edilen lakkaz için  $K_m$  77  $\mu\text{M}$  olarak bulunmuştur (Fang ve ark., 2009; D'Annibale ve ark., 2000). *Panus conchatus*'tan elde edilen lakkazın  $K_m$  ve  $V_{\text{mak}}$  değerleri sırası ile 37  $\mu\text{M}$  ve 5,9  $\text{mM.dak}^{-1}$  olarak bulunmuştur (Yinghui ve ark., 2002). Elde edilen sonuçlara göre, enzimin immobilize edilmesiyle  $K_m$  değeri artmıştır yani enzimin substrata olan ilgisi azda olsa azalmıştır. Bu azalma, immobilizasyon ile birlikte enzimin yapısındaki değişiklikler ve substratın immobilize enzimin aktif bölgelerine daha zor ulaşmasından kaynaklanabilmektedir (Arica ve ark., 1994, Çorman ve ark., 2010; Alver ve Metin 2017).

#### **3.3.1.4. Depolama Kararlılığı**

Serbest ve *m*CHT-PGMA-EDA üzerine immobilize edilmiş lakkaz 4 °C depolandı ve belirli aralıklarla aktiviteleri ölçüldü. Sonuçlar Şekil 3.21' de görülmektedir. 4 °C' de depolanan serbest lakkaz 6 hafta sonunda aktivitesini neredeyse tamamen yitirirken, 6 hafta sonunda 4 °C 'de depolanan immobilize lakkazın aktivitesi % 30 azalmıştır. Bu sonuç, immobilize lakkazın kararlılığının, serbest enzimininkine kıyasla yüksek derecede geliştiğini göstermektedir. Alver ve Metin yaptığı çalışmada, serbest enzimin 7 hafta içinde aktivitesinin tamamını kaybederken, immobilize lakkaz, aynı periyod boyunca başlangıç aktivitesinin sadece %36'sını kaybettiğini rapor etmiştir (Alver ve Metin, 2017).



Şekil 3.21. Serbest ve immobilize enzimin depolama kararlılığı

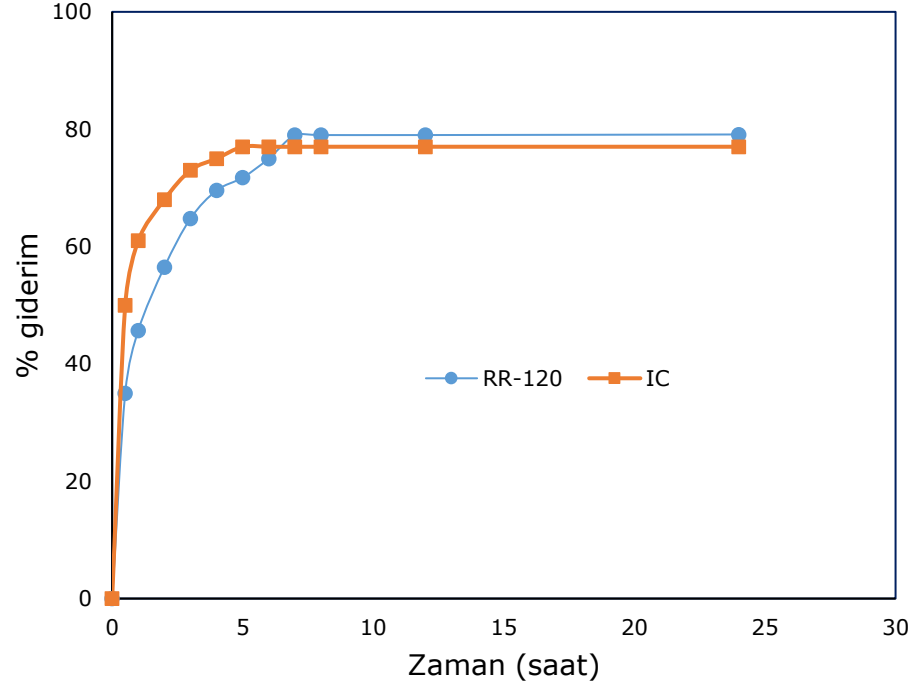
### 3.3.2. İmmobilize Lakkaz ile Boya Degradasyonu

Çalışmanın bu aşamasında, *m*CHT-PGMA-EDA nanopartiküllerine immobilize edilen ve optimum çalışma koşulları belirlenen lakkaz enziminin, RR-120 ve IC reaktif boyalarının giderilmesindeki etkinliği belirlendi.

#### 3.3.2.1.Boya Giderimi Üzerine Zamanın Etkisi

Reaksiyon süresinin boya giderimi üzerine etkisini belirlemek için lakkaz immobilize edilen *m*CHT-PGMA-EDA nanopartikülleri boya çözeltileriyle muamele edildi. Manyetik partiküller belirli aralıklar ile mıknatıs yardımıyla çözelti ortamından ayrılarak boya çözeltilerinin derişimi UV-vis spektrofotometre ile belirlendi. Hem RR-120 hem de IC boyalarının uzaklaştırma etkinliğinin enzim immobilize nanoküreler ile boya çözeltilerinin temas süresi arttıkça, arttığı belirlendi (Şekil 3.22).

Özellikle başlangıç giderim hızlarının yüksek olduğu ve 30 dakika sonunda boya giderim yüzdesinin IC için %50,47, RR-120 için %35,73 olduğu belirlendi. Temas süresinin 5. saatinden sonra her iki boya için de giderimin çok fazla değişmediği ve yaklaşık olarak boyaların %80'nin giderildiği belirlendi.



**Şekil 3.22.** Reaksiyon süresinin immobilize lakkazın boya giderimine etkisi (Koşullar: Boya derişimi 10 mg/L, 25 ml, pH 6,0, 14 µg immobilize enzim içeren *m*CHT-PGMA-EDA-Lac nanopartikül, Sıcaklık 37 °C)

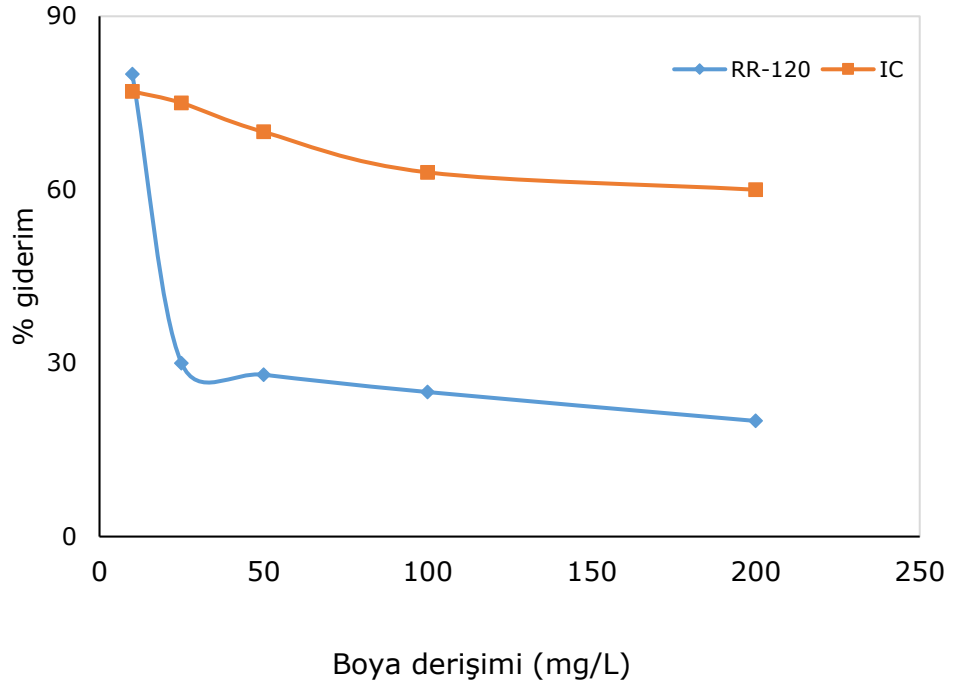
Literatürde farklı desteklere immobilize edilmiş lakkaz enzimi ile çok sayıda boya giderim çalışması bulunmakla birlikte, RR-120 ve IC reaktif boyalarının immobilize lakkaz ile giderilmesine yönelik çalışmalar sınırlıdır.

Bu çalışmalarda da farklı enzim immobilizasyon kapasiteleri nedeniyle farklı reaksiyon süreleri ve giderim yüzdeleri rapor edilmiştir. Örneğin, poli(2-kloroetilakrilat) aşılınmış zeolit partiküllerine *Trametes versicolor*'dan elde edilen lakkaz kovalent bağlanma yolu ile immobilize edilmiş (17,7 mg/g) ve RR-120 boyasının giderilmesinde kullanılmıştır. 100 mg/L RR-120 reaktif boyasının hemen hemen tamamının 180 dakikada giderildiği rapor edilmiştir (Çelikbıçak ve ark., 2014). Başka bir çalışmada ise, *Papaya*'dan saflaştırılmış lakkaz enzimi hapsedme yolu ile kitosan kürelere immobilize edilerek IC boyasının giderilmesinde kullanılmıştır. İmmobilize enzimin, 50 µg/ml derişimindeki IC boyasını 8 saatlik inkübasyon süresinin ardından tamamen uzaklaştırdığı bildirilmiştir (Jaiswal ve ark., 2016).

Bunun dışında, lakkaz enzimi ile farklı boyaların giderilmesinde farklı degradasyon sürelerine ulaşılmıştır. *Trametes versicolor*'dan elde edilen lakkazın poli(akrilamit-akrilik asit)/K-karagenan ve poli(akrilamit-itakonik asit)/K-karagenan hidrojellerine hapsedme yöntemiyle immobilize edilmesi elde edilen immobilize enzim sistemi metil oranjın giderilmesinde kullanılmış ve 6 saat sonunda boyanın %35'inin giderildiği belirlenmiştir (Makas ve ark., 2010).

### 3.3.2.2. Boya Konsantrasyonunun Etkisi

İmmobilize lakkaz ile boya gideriminde, başlangıç boya konsantrasyon etkisini belirlemek için, 10-200 mg/L arasında farklı konsantrasyonlardaki boya çözeltileri *m*CHT-PGMA-EDA-Lac nanopartikülleri ile 5 saat 40°C' de 120 rpm'de muamele edildi. Temas süresinin sonunda her bir boyanın derişimi UV-vis spektrofotometre ile belirlenerek % boya giderimi hesaplandı. Şekil 3.23'den görülebileceği gibi, her iki boya içinde artan boya konsantrasyonu ile giderim azalmaktadır. Çalışmamızda elde edilen sonuca benzer şekilde, Murugensan ve arkadaşları (2007) *Ganoderma lucidum* lakkazı ile yaptıkları boya giderim çalışmalarında Reaktif Siyah 5 ve Remazol Brilliant Mavi R boyalarının artan boya konsantrasyonlarında boya giderim değerlerinin azaldığını belirtmiştir (Murugesan ve ark., 2007).



**Şekil 3.23.** Boya konsantrasyonunun immobilize lakkazın boya giderimine etkisi (Koşullar: 25 ml boya çözeltisi, pH 6,0, 14 µg immobilize enzim içeren m-CHT-PGMA-EDA-Lac nanopartikül, Sıcaklık 37 °C, reaksiyon süresi 5 saat)

#### 4. SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

Bu tez çalışmasında fonksiyonel, nanoboyutta manyetik biyopolimer sentezlenerek, anyonik boya ların giderilmesinde kullanılmıştır. Boya giderimi hem adsorpsiyon hem de enzimatik degradasyon yolu ile yapılarak elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

Manyetik poli(glisidil metakrilat) aş1-kitosan nanopartiküllerin sentezinde optimum GMA miktarı 0,5 ml olarak bulunmuş ve bu koşullarda sentezlenen nanopartiküllerin ulaşılabilir epoksi grubu içeriği 4,05 mmol/g olarak belirlenmiştir. Aminleme işlemleri ile birlikte manyetik poli(glisidil metakrilat) -aş1-kitosan nanopartiküllerin amin grup içeriğinin arttığı görülmüştür.



SEM/EDS sonuçlarıyla, *m*CHT-PGMA partiküllerinin, küresel geometride ve nanoboyutta olduğu, EDS spektrum ve haritası ile Fe atomlarının varlığı ve yapıya homojen şekilde dağıldığı belirlenmiştir.

FT-IR spektrumundan aşı kopolimeriazsyonun gerçekleştiğini ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının manyetik nanopartiküllere katıldığı tespit edilmiştir.

*m*CHT-PGMA nanopartiküllerinin XRD kırınım desenleri, manyetik nanopartikül içinde bulunan Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının yüzey merkezli kübik yapıya sahip olduğunu ve yaklaşık olarak 2 nm boyutunda dağıldığını göstermiştir.

VSM sonuçları, manyetik nanopartiküllerin süperparamanyetik özellikte olduğunu ve doygunluk manyetizasyon değerinin 29,9 Emu/g olduğunu göstermiştir.

Termogravimetrik analiz ile, manyetik nanopartiküllerin başlangıç ağırlığının yaklaşık %75'ini 800 °C'de kaybettiği belirlenmiştir.

Adsorpsiyon ile boya giderim çalışmaları sonucunda, RR-120 ve IC boyalarının asidik koşullarda adsorpsiyonunun daha elverişli olduğu belirlenmiştir.

Başlangıç boya kapasitesi arttıkça, adsorpsiyon kapasitesinin de arttığı ve maksimum adsorpsiyon kapasitesinin RR-120 için 241 mg/g, IC için 185 mg/g olduğu belirlenmiştir.

RR-120 adsorpsiyonu yüksek sıcaklıklarda daha elverişli iken, IC adsorpsiyonu düşük sıcaklıklarda daha elverişli olduğu, bununla birlikte adsorpsiyon mekanizmasının fiziksel kuvvetler üzerinden yürüdüğü belirlenmiştir.

*m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin RR-120 ve IC adsorpsiyonunda 4 kez arka arkaya kullanılabileceği ve bu kullanım süresi sonunda kapasitesinin yaklaşık olarak %30 azaldığı belirlenmiştir.

*m*CHT-PGMA-DAH nanopartiküllerinin, boya desorpsiyon davranışına dışarıdan uygulanan manyetik alan ve frekansın etkisinin olduğu, manyetik alan uygulanması ile RR-120'nin desorpsiyon oranının %88,7'den %92,5'e, IC'nin ise %77,9'dan %100'e ulaştığı belirlenmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında lakkaz enzimi *m*CHT-PGMA-EDA nanopartiküllerine kovalent olarak bağlanmış, RR-120 ve IC degradasyon ile uzaklaştırılmasına çalışılmıştır.

İmmobilize enzim için optimum pH 6,0 ve optimum sıcaklık 40°C olarak bulunmuştur. Ayrıca, immobilize enzimin daha geniş bir pH aralığında kullanılabilmesi görülmüş ve bunun serbest lakkaza göre endüstriyel ve analitik uygulamalarda daha etkin bir şekilde kullanılabilmesi düşünülmüştür. Ayrıca, immobilize lakkazın optimum sıcaklığının serbest lakkazdan çok yüksek olmaması, endüstriyel uygulamalarda enzimin aktif hale gelmesi için uygulanması gereken sıcaklığı çok arttırmamıştır. Bu sonuç, hazırlanan immobilize enzim sisteminin ekonomik bir proses sunacağını düşündürmektedir.

İmmobilize enzim depolanmasının 6. haftasının sonunda başlangıç aktifliğinin %70'ini korumuştur.

İmmobilize lakkazın RR-120 ve IC boyalarının enzimatik olarak oksidasyonu gerçekleştirilmiş ve en yüksek katalitik aktiviteyi IC boyasına karşı gösterdiği gözlenmiştir. İmmobilize lakkaz düşük miktarlarda kullanıldığı çalışmada, 5. saatin sonunda 200 mg/L başlangıç derişimine sahip IC boyasının %60'nı giderdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak endüstriyel uygulamalarda kullanılan lakkaz enzimi, geniş bir substrat aralığına sahip olması nedeniyle boya ya da fenolik bileşikler gibi pek çok kirleticinin giderilmesinde biyokatalizör olarak kullanılabilir. Enzimlerin immobilizasyon ile aktivitesi ve kararlılığının artması uygulamaların maliyetini azaltır ve proses kontrolü sağlar.

Adsorpsiyon işleminde adsorbent ve immobilizasyonda taşıyıcı olarak kullanılan kitosanın ucuz oluşu, toksik olmayışı ve yapısındaki hidroksil ve amino gruplarının varlığı nedeniyle negatif yüklü moleküllere veya enzimlere kolayca bağlanması önemli avantajlardır. Reaktif grupları sayesinde kitosan, kolayca modifikasyona uğrayabilir ya da aşı kopolimerleri hazırlanabilmektedir. Bu çalışmada da reaktif epoksi grupları bulunduran glisidil metakrilat kitosan üzerine aşılansarak, boya moleküllerinin adsorpsiyonu ya da enzimin bağlanması için daha fazla sayıda reaktif grup içermesi sağlanmış ve etkili bir şekilde kullanılmıştır.

Diğer taraftan, manyetik nanopartiküller diğer desteklerle kıyaslandığında basit hazırlama prosedürü, düşük maliyet ve hızlı geri kazanım ile endüstriyel ölçekte önemli avantajlar sunmaktadır.

Son olarak, çalışmada öneri olarak, kesikli sistemde gerçekleştirilen boya adsorpsiyonu ve enzimatik giderim, sürekli sistemde de çalışması faydalı olacaktır. Bununla birlikte, adsorpsiyon sonunda ve degradasyon sonunda boya çözeltilerin canlılar üzerine (bitkiler veya bakteriler gibi) etkileri incelenerek, gerçek atık su uygulamalarında, boya uzaklaştırıldıktan sonra deşarj edilen suyun etkilerini öngörme açısından faydalı olacaktır.



## KAYNAKLAR

Acharyulu, R.S., Gomathi T., Sudha P.N., Physico-chemical characterization of cross linked chitosan –polyacrylonitrile polymer blends, *Der Pharmacia Lettre*, 5 (2): 354-363. 2013.

Alver. E., Metin, A.Ü., Anionic dye removal from aqueous solutions using modified zeolite: Adsorption kinetics and isotherm studies. *Chemical Engineering Journal*, 200: 59-67, 2012.

Alver, E., Metin, A.Ü., Chitosan Based Metal-Chelated Copolymer Nanoparticles: Laccase Immobilization and Phenol Degradation Studies. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 125: 235-242, 2017.

Anonim 1: <http://www.sigmaaldrich.com/chitin> (Erişim Tarihi 18/04/2020)

Anonim2: <http://www.sigmaaldrich.com/chitosan> (Erişim Tarihi 18/04/2020)

Anonim3: <http://www.sigmaaldrich.com/Reactive-Red-120> (Erişim Tarihi 18/04/2020)

Arandhara, G., Bora, J., Saikia, P.K., Effect of pH on the crystallite size, elastic properties and morphology of nanostructured ZnS thin films prepared by chemical bath deposition technique. *Materials Chemistry and Physics*, 241:122277, 2020.

Arica, M.Y., Salih, B., Celikbicak, Ö., Bayramoglu, G., Immobilization of laccase on the fibrous polymer-grafted film and study of textile dye degradation by MALDI–ToF-MS. *Chemical Engineering Research and Design*, 128: 107-119, 2017.

Baltazar, R., A., Esparza, R., Rosas, G., Pérez, R., Effect of the surfactant on the growth and oxidation of iron nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*, 16(1): 202-210, 2015.

Banaei, A., Yaychi, M.F., Karimi, S., Vojoudi, H., Namazi, H., Badiei, A., Pourbasheer, E., 2,2'-(butane-1,4-diylbis(oxy))dibenzaldehyde cross-linked magnetic chitosan nanoparticles as a new adsorbent for the removal of reactive red 239 from aqueous solutions. *Materials Chemistry and Physics*, 212: 1-11, 2018.

Banat, F., Al-Asheh, S., Al-Rousan, D., Beneficial Reuse of Chicken Feathers of Heavy Metals from Wastewater. *Journal of Cleaner Production* 11: 321-326, 2003.

Bautista, L.F., Morales, G., Sanz, R., Immobilization strategies for laccase from *Trametes versicolor* on mesostructured silica materials and the application to the degradation of naphthalene. *Bioresource Technology*, 101 (22): 8541-8548, 2010.

Bayramoğlu G., Yılmaz, M., Şenel, A.Ü., Arıca, M.Y., Preparation of nanofibrous polymer grafted magnetic poly(GMA-MMA)-g-MAA beads for immobilization of trypsin via adsorption. *Biochemical Engineering Journal*, 40 (21): 262-274, 2008.

Bayramoğlu G., Arıca, M.Y., Enzymatic removal of phenol and p-chlorophenol in enzyme reactor: horseradish peroxidase immobilized on magnetic beads. *Journal of Hazardous Materials*, 156: 148-155, 2008.

Bayramoğlu, G., Arıca, M.Y., Immobilization of laccase onto poly (glycidylmethacrylate) brush grafted poly (hydroxyethylmethacrylate) films: enzymatic oxidation of phenolic compounds. *Material Science and Engineering C*, 29: 1990-1997, 2009.

Berry, C.C., Wells, S., Charles, S., Curtis, A. S. G., Dextran and albumin derivatised iron oxide nanoparticles: influence on fibroblasts in vitro. *Biomaterials*, 24: 4551-4557, 2003.

Bıçak, N., Sherrington, D.C., Sungur, S., Tan, N., A glycidyl methacrylate-based resin with pendant urea groups as a high capacity mercury specific sorbent. *Reactive and Functional Polymers*, 54: 141-147, 2003.

Bickerstaff, G. F., *Immobilization Of Enzymes And Cells*. Humana Press, New Jersey, 1-12, 1997.

Bilgin, E., *Polimer Destekli Manyetik Nanopartiküllerle Sulu Çözeltiden Ağır Metal Giderimi*. Yüksek Lisans Tezi. Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2009.

Bilkova, Z., Slovákova M., Horák, D., Lenfeld, J., Churayek, J., Enzymes immobilized on magnetic carriers: efficient and selective system for protein modification. *Journal of Chromatography B*, 770: 177-181, 2002.

Buchholz, K., Kasche V., Bornscheuer U. T., Biocatalysis and Enzyme Technology, Wiley-Vch Verlag Gmbh & Co. Kгаа, Weinheim, pp. 2,30, 197-227,243-275, 2005.

Bourbonnais, R., Paice, M. G., Demethylation and delignification of kraft pulp by *Trametes versicolor* laccase in the presence of 2,2'-azinobis-(3- ethylbenzthiazoline-6-sulphonate). Applied Microbiology and Biotechnology, 36: 823-827, 1992.

Bradford, M.M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72, 248-254, 1976.

Chen, Y., He, F., Ren, Y., Peng,H., Huang,K., Fabrication of chitosan/PAA multilayer onto magnetic microspheres by LbL method for removal of dyes. Chemical Engineering Journal, 249:79-92, 2014.

Chiou, M-H., Ho, P-Y., Li, H-Y., Adsorption of anionic dyes in acid solutions using chemically cross-linked chitosan beads. Dyes and Pigments, 60: 69-84, 2004.

Czechowska-Biskup, R., Jarosińska, D., Rokita, B., Ulański, P. J.M. Determination of Degree of Deacetylation of Chitosan- Comparison of Methods. Progress on Chemistry and Application of Chitin and Its Derivatives, 17, 5-20, 2012.

Çalık, A., Atıksulardaki demir (III) Siyanür Kompleks İyonlarının Raarhizus ve C. Vulgaris ile Biyosorpsiyonunun Aktif Karbon Adsorpsiyonuyla Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 1999.

Çelekli, A., Al-Nuaimi, A.I., Bozkurt, H., Adsorption kinetic and isotherms of Reactive Red 120 on Moringa oleifera seed as an eco-friendly process. Journal of Molecular Structure, 1195: 168-178, 2019.

Çelikkıçak, Ö., Bayramoglu, G., Yılmaz, M., Ersoy, G., Bicak, N., Salih, B., Arica, M.Y., Immobilization of laccase on hairy polymer grafted zeolite particles: Degradation of a model dye and product analysis with MALDI-ToF-MS. Microporous and Mesoporous Materials, 199: 57-65, 2014.

Çorman, M.E., Ozturk, N., Bereli, N., Akgol, S., Denizli, A., Preparation of nanoparticles which contains histidine for immobilization of *Trametes versi- color* laccase. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 63: 102-107, 2010.

Çulcu, L. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Asit Mavisini 62 Boyar Maddesinin Çapraz Bağlı Kitosan Üzerine Adsorpsiyonunun İncelenmesi. Yıldız Teknik Üniversitesi, 2015.

Davis, S.P. (Ed.) Chitosan : Manufacture, Properties and Usage, Hauppauge, N.Y.: Nova Science Publishers. (2011).

Debrossi, A., Correa, A.F., Baccarin, T., Nedelko, N., Slowska-Waniewska, A., Sobczak, K., Dluzewski, P., Greneche, J.M., Rodrigues, C.A., Removal of cationic dyes from aqueous solutions using N-benzyl-O-carboxymethylchitosan magnetic nanoparticles. Chemical Engineering Journal, 183: 284-293, 2012.

Denkbağ, E. B., Kiliçay, E., Birlikseven, C., Öztürk, E., Magnetic chitosan microspheres: preparation and characterization, Reactive & Functional Polymers, 50: 225-232, 2002.

Demir, A., Seventekin, N. Kitin, Kitosan ve genel kullanım alanları. Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi, 92-103, 2009.

D'Annibale, A., Stazi, A., Vinciguerra, S.R. and Giovannozzi, V.G., Oxirane-immobilized Lentinula edodes laccase: stability and phenolics removal efficiency in olive mill wastewater. Journal of Biotechnology, 77: 265-273, 2000.

El-Hefian, E.A., Elgannoudi, E.S., Mainal, A., Yahaya, A.H., Characterization of chitosan in acetic acid: Rheological and thermal studies. Turkish Journal of Chemistry 34 (1): 47 – 56, 2010.

Errais, E., Duplay, J., Darragi, F., I.M'Rabet, Aubert, A.F., Huber, G.M., Efficient anionic dye adsorption on natural untreated clay: Kinetic study and thermodynamic parameters. Desalination 275: 74-81, 2011.

Fan, L., Luo, C., Lv, Z., Lu, F., Qiu, H., Preparation of magnetic modified chitosan and adsorption of  $Zn^{+2}$  from aqueous solutions. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 88: 574-581, 2011a.

Fan, L., Luo, C., Lv, Z., Lu, F., Qiu, H., Removal of  $Ag^{+}$  from water environment using a novel magnetic thiourea-chitosan imprinted  $Ag^{+}$ . Journal of Hazardous Materials, 194: 193-201, 2011b.

Fang, H., Huang, J., Ding, L., Li, M., Chen, Z., Preparation of magnetic chitosan nanoparticles and immobilization of laccase. *Journal of Wuhan University of Technology-Material Science*, 24 (1): 42-47, 2009.

Fouda, M. F. R., ElKholy, M. B., Mostafa, S. A., Hussien, A. I., Wahba, M. A., El-Shahat, M. F., Characterization and evaluation of nano-sized  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> pigments synthesized using three different carboxylic acid. *Advance Material Letters*, 4(5): 347-353, 2013.

Frenzel A., C. Bergenmann, G. Kohl, T. Reinard, Novel purification system for 6xHis-tagged proteins by magnetic affinity separation, *Journal Chromatography B*, 793: 325-329, 2003.

Fuentes, I.E., Vıseras, C.A., Ubialı, D., Terrenı, M., Alcantara, A.R., Different phyllosilicates as supports for lipase immobilisation. *Jourbal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 11: 657-663, 2001.

Gaihre, B., Khil, M. S., Lee, R.D., Kim, H. Y., Gelatin-coated magnetic iron oxide nanoparticles as carrier system: Drug loading and in vitro drug release study. *International Journal of Pharmaceutics*, 365: 180-189, 2009.

Gazıgil, L., Düşük Maliyetli Sanayi Atıklarından Ayçekirdeği Kabuğu ile Boyar Madde Gideriminin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Atatürk Üniversitesi, Erzurum, 2014.

Goya, G.F., Berquo, T.S., Fonseca, F.C., Static and dynamic magnetic properties of spherical magnetite nanoparticles. *Journal of Applied Physics*, 94 (5): 3521-3528, 2003.

Greluk, M., Hubicki, Z., Kinetics, isotherm and thermodynamic studies of Reactive Black 5 removal by acid acrylic resins. *Chemical Engineering Journal*, 162: 919-926, 2010.

Guo, Z., Bai, S., Sun, Y., Preparation and characterization of immobilized lipase on magnetic hydrophobic microspheres. *Enzyme and Microbial Technology*, 32, 776-782, 2003.



Gupta, V.K., Jain, R., Malathi, S., Nayak, A., Adsorption–desorption studies of indigocarmine from industrial effluents by using deoiled mustard and its comparison with charcoal. *Journal of Colloid and Interface Science*, 348: 628–633, 2010.

Gupta, A. K., Wells, S., Surface modified superparamagnetic nanoparticles for drug delivery: preparation, characterisation and cytotoxicity studies. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, 31: 66- 73, 2004.

Gupta, S., Babu, B.V., Utilization of waste product (tamarind seeds) for the removal of Cr (VI) from aqueous solutions: equilibrium, kinetics, and regeneration studies. *Journal of Environmental Management*, 90: 3013-3022, 2009.

Han, R., Zhang, J., Han, P., Wang, Y., Zhao, Z., Tang, M., Study of equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters about methylene blue adsorption onto natural zeolite. *Chemical Engineering Journal*, 145(3): 496-504, 2009.

Han R., Wang, Y., Sun, Q., Wang, L., Song, J., He, X., Dou, C., Malachite green adsorption onto natural zeolite and reuse by microwave irradiation. *Journal of Hazardous Materials*, 175: 1056-1061, 2010.

Hızircioğlu, N., Model Çözeltilerde Patulin Uzaklaştırılmasında Aktif Karbon Adsorpsiyonu Kinetiğinin Kesikli ve Sürekli Sistemlerde, İncelenmesi ve Matematiksel Modellemesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 1999.

Ho, Y.S., McKay, G., Pseudo-second-order model for sorption processes. *Process Biochemistry*, 34: 451–465, 1999.

Hong, J., Xu, D., Gong, P., Ma, H., Dong, L., Yao, S., Conjugation of enzyme on superparamagnetic nanogels covered with carboxyl groups. *Journal of Chromatography B Analytical Technology Biomedical Life Science*, 850 (1-2): 499–506, 2007.

Huang, S-H., Juang, R-S., Biochemical and biomedical applications of multifunctional magnetic nanoparticles: a review. *Journal of Nanoparticle Research*, 13: 4411-4430, 2011.

Huang, S.-H., Liao, M.-H., Chena, D.-H., Fast and efficient recovery of lipase by polyacrylic acid-coated magnetic nano-adsorbent with high activity retention. *Separation and Purification Technology*, 51: 113- 117, 2006.

Indira, T.K., Lakshmi, P.K., Magnetic nanoparticles - A review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and nanotechnology*, 3 (3): 1035-1042, 2010.

Jaiswal, N., Pandey, V.P., Dwivedi, U.N., Immobilization of papaya laccase in chitosan led to improved multipronged stability and dye discoloration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 86: 288–295, 2016.

Jawad A.H., Mubarak, N.S.A., Sabar, S., Adsorption and mechanism study for reactive red 120 dye removal by cross-linked chitosan-epichlorohydrin biobeads. *Desalination and Water Treatment*, 164: 378–387, 2019a.

Jawad, A.H.,Mamat, N.F.H., Hameed, B.H., Ismail, K., Biofilm of cross-linked Chitosan-Ethylene Glycol Diglycidyl Ether for removal of Reactive Red 120 and Methyl Orange: Adsorption and mechanism studies. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7: 102965, 2019b.

Jawad, A.H., Mubarak, N.S.A., Abdulhameed, A.S., Tunable Schiff's base-cross-linked chitosan composite for the removal of reactive red 120 dye: Adsorption and mechanism study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 142: 732-741, 2020.

Jiang, D., Long, S., Huang, J., Xiao, H., Zhou, J., Immobilization of *Pycnopus sanguineus* laccase on magnetic chitosan microspheres. *Biochemical Engineering Journal*, 25:15-23, 2005.

Jiang, X., Sun, Y., Liu, L., Wang, S., Tian, X., Adsorption of C.I. Reactive Blue 19 from aqueous solutions by porous particles of the grafted chitosan. *Chemical Engineering Journal*, 235:151-157, 2014.

Johar, N., Ahmad, I., Dufresne, A., Extraction, preparation and characterization of cellulose fibres and nanocrystals from rice husk. *Industrial Crops and Products*, 37: 93–99, 2012.

Joshi, J.M., Sinha, V.K., Graft copolymerization of 2-hydroxyethylmethacrylate onto carboxymethyl chitosan using CAN as an initiator. *Polymer*, 47: 2198-2204, 2006.

Juliana, M.N., Santosa, D., Pereira, C.R., Pinto, L.A.A., Frantz, T., Limac, E.C., Foletto, E.L., Dotto, G.L., Synthesis of a novel CoFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub>/chitosan magnetic composite for fast adsorption of indigotine blue dye. *Carbohydrate Polymers*, 217: 6-14, 2019.

Kahya, N., Kitosan ve Grafen Oksit-Kitosan Kompozit Malzemeye Sulu Ortamda Boyar Madde Adsorpsiyonunun Kinetik Modellemesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2016.

Kalkan, N.A., Kitosan Kaplı Manyetik Nanoparçacıkların Lakkaz İmmobilizasyonunda ve Reaktif Boyarmadde Adsorpsiyonunda Kullanılması. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara, 2010.

Kalkan, N. A., Aksoy, S., Aksoy, E.A., Hasırcı, N., Preparation of Chitosan-Coated Magnetite Nanoparticles and Application for Immobilization of Laccase. *Journal of Applied Polymer Science*, 123: 707-716, 2012.

Kocabaş, B.B., Atık Sulardan Brilliant Blue R Boyar Maddesinin Adsorpsiyon Yöntemi ile Gideriminin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hitit Üniversitesi, Çorum, 2015.

Konwarh, R., Karak, N., Rai, S. K., Mukherjee, A. K., Polymer-assisted iron oxide magnetic nanoparticle immobilized keratinase. *Nanotechnology*, 20: 1-10, 2009.

Kuroiwa, T., Noguchi, Y., Nakajima, M., Sato, S., Mukataka, S., Production of Chitosan Oligosaccharides Using Chitosanase Immobilized on Amylase-coated Magnetic Nanoparticles. *Process Biochemistry*, 43: 62-69. 2008.

Kyzas, G. Z., Fu, J., Matis, Kfi.A. The change from past to future for adsorbent materials in treatment of dyeing wastewaters. *Materials*, 6: 5131-5158, 2013.

Lagergren S., About the theory of so-called adsorption of soluble substances, *Kungl. Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar* 24, 1–6. 1898.

Lee, Y. H., Lim, N. H., Seo, J. A., Yuk, H. S., Kwak, B. K., Kahng, G., Lee, H. B., Cho, S. H., Preparation and magnetic resonance imaging effect of polyvinylpyrrolidone-coated iron oxide nanoparticles. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials* 79: 142-150, 2006.

Li, F. Y., Xing, Y. J., Ding, X., Immobilization of papain on cotton fabric by sol-gel method. *Enzyme and Microbial Technology*, 40: 1692-1997, 2007.

Liao, M.-H., Chen, D.-H., Fast and efficient adsorption/desorption of protein by a novel magnetic nano-adsorbent. *Biotechnology Letters*, 24: 1913-1917, 2002.

Liu, X., Guan, Y., Shen, R., Liu, H., Immobilization of lipase onto micron- size magnetic beads. *Journal of Chromatography B*, 822: 91-97, 2005.

Liu, X., Qiyan, H., Zhen, F., Xiaojun, Z., Beibei, Z., Magnetic chitosan nanocomposites: A useful recyclable tool for heavy metal ion removal. *Langmuir*, 25: 3-8, 2009.

Liu, Y., Zeng, Z., Zeng, G., Tang, L., Pang, Y., Li, Z., Liu, C., Lei, X., Wu, M., Ren, P., Liu, Z., Chen, M., Xie, G., Immobilization of laccase on magnetic bimodal mesoporous carbon and the application in the removal of phenolic compounds. *Bioresource Technology*, 115:21-26, 2012.

Lu L., Zhao M., Wang Y., Immobilization of laccase by alginate-chitosan microcapsules and its use in dye decolorization, *World Journal of Microbiological Biotechnology*, 23:159-166, 2007.

Manrich, A., Galvao, C. M. A., Jesus, C. D. F., Giordano, R. C., Giordano, R. L. C., Immobilization of trypsin on chitosan gels: Use of different activation protocols and comparison with other supports. *International Journal of Biological Macromolecules*, 43:54-61, 2008.

Makas, Y. G., Kalkan, N. A., Aksoy, S., Altinok, H., Hasirci, N., Immobilization of laccase in kappa-carrageenan based semi- interpenetrating polymer networks. *Journal of Biotechnology*, 148: 216-220, 2010.

Metin, A.Ü., Yeni Akrilat Kökenli Afinite Kürelerin Tasarlanması: Protein Adsorpsiyonu ve Saflaştırılmasında Kullanılması. Doktora Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, 2008.

Metin, A.Ü., Immobilization of laccase onto polyethyleneimine grafted chitosan films: effect of system parameters. *Macromolecular Research*, 21: 1145-1152, 2013.

Metin, A.Ü., Doğan, M., Erdem, Ü., Babacan, T., Güngüneş, H., Preparation of a novel functionalized magnetic nanobiocomposite as a carrier for protein adsorption. *Spectroscopy Letters An International Journal for Rapid Communication* DOI: 10.1080/00387010.1737945. 2020.

Murugesan, K., Nam, I.H., Kim, Y.M., Chang, Y.S., Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by *Ganoderma lucidum* in solid state culture. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(1): 1662–1672, 2007.

Ndazi, B.S., Karlsson, S., Tesha, J.V., Nyahumwa, C.W., Chemical and physical modifications of rice husks for use as composite panels. *Composites Part A*, 38:925–935, 2007.

Nguyen, T.A., Fu, C-C., Juang, R-S., Effective removal of sulfur dyes from water by biosorption and subsequent immobilized laccase degradation on crosslinked chitosan beads. *Chemical Engineering Journal*, 304:313-324, 2016.

Öktem H. A., G. Bayramoglu, V. C. Özalp, M. Y.Arica, Single-Step Purification of Recombinant *Thermus aquaticus* DNA Polymerase Using DNA-Aptamer Immobilized Novel Affinity Magnetic Beads. *Biotechnology progress* 23:146-154, 2007.

Özcan, A., Ömeroğlu, Ç., Erdoğan, Y., Özcan, A.S., Modification of bentonite with a cationic surfactant: An adsorption study of textile dye Reactive Blue 19. *Journal of Hazardous Materials*, 140: 173-179, 2007.

Panić, V.V., Šešlija, S.I., Nešić, A.R., Veličković S. Adsorption of azo dyes on polymer materials. *Hemijska industrija*, 67 (6):881-900, 2013.

Papageorgiou, S.K., Kouvelos, E.P., Favvas, E.P., Sapalidis, A.A., Romanos, G.E., Katsaros, F.K., Metal–carboxylate interactions in metal–alginate complexes studied with FTIR spectroscopy. *Carbohydrate Research*, 345: 469–473, 2010.

Patterson, A.L. The Scherrer formula for X-ray particle size determination. *Physical review*, 56: 978–982, 1993.

Rani, M., Shanker, U., Chaurasia, A.K., Catalytic potential of laccase immobilized on transition metal oxides nanomaterials: Degradation of alizarin red S dye. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 5:2730–2739, 2017.

Ride, J.P., Callow, J.A. (Eds.), *Biochemical Plant Pathology*. John Wiley and Sons, New York, pp. 215-236. 1983.

Safarik, I., Safarikova M., Detection of low concentrations of malachite green and crystal violet in water. *Water Research*, 36: 196-200, 2002.

Shabzendedar, S., Modarresi-Alam, A.R., Noroozifar, M., Kerman, K., Core-shell nanocomposite of superparamagnetic  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  nanoparticles with poly(m-aminobenzenesulfonic acid) for polymer solar cells, *Organic Electronics*, 15: 1836-1842, 2014.

Sheldon, R. A., Enzyme immobilization: The quest for optimum performance. *Advanced Synthesis & Catalysis*, 349: 1289-1307, 2007.

Shouman, M.A., Khedr, S.A., Attia, A.A., Basic Dye Adsorption on Low Cost Biopolymer: Kinetic And Equilibrium Studies. *Journal of Applied Chemistry*, 2(4): 27-36, 2012.

Sipos, P., Manufacturing of size controlled magnetite nanoparticles potentially suitable for the preparation of aqueous magnetic fluids. *Romanian Reports in Physics*, 58: 269-272, 2006.

Sun, Y., Cui, F., Shi, K., Wang, J., Niu, M., Ma, R., The effect of chitosan molecular weight on the characteristics of spray-dried methotrexate-loaded chitosan microspheres for nasal administration. *Journal Drug Development and Industrial Pharmacy*, 35(3): 379-386, 2009.

Tanyolaç, D., Özdural, A. R., Preparation of low-cost magnetic nitrocellulose microbeads. *Reactive & Functional Polymers*, 45: 235-242, 2000.

Toor, M., Jin, B., Adsorption characteristics, isotherm, kinetics, and diffusion of modified natural bentonite for removing diazo dye. *Chemical Engineering Journal*, 187:79-88, 2012.

Tosun, İ., Alünit-Potasyum Klorür Karışımı Termal Bozunma Ürünün Sulu Çözeltilerden Boya ve Fosfat Gideriminde Kullanılabilirliği. Doktora tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir, 2009.

Tzanov, T., Basto, C., Gübitz, G. M., Cavaco-Paulo, A., Laccases to improve the whiteness in a conventional bleaching of cotton. *Macromolecular Materials and Engineering*, 288: 807-810, 2003.

Vashist, S.K. Chitosan: Growing Importance in Biomedical and Bioanalytical Sciences. *Austin Journal of Nanomedicine and Nanotechnology*, 2(4): 1024, 2014.

Wang, F., Hu, Y., Guo, C., Huang, W., Liu, C-Z., Enhanced phenol degradation in coking wastewater by immobilized laccase on magnetic mesoporous silica nanoparticles in a magnetically stabilized fluidized bed. *Bioresource Technology*, 110: 120-124, 2012.

Wang L., Zhang, J., Zhao, R., Li, C., Li, Y., Zhang, C.L., Adsorption of basic dyes on activated carbon prepared from *Polygonum orientale* Linn: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *Desalination* 254: 68-74, 2010.

Wang, W., Zhao, Y., Bai, H., Zhang, T., Ibarra-Galvan, V., Song, S., Methylene blue removal from water using the hydrogel beads of poly(vinyl alcohol)-sodium alginate-chitosan-montmorillonite. *Carbohydrate Polymers*, 198:518–28, 2018.

Wong, Y. C., Szeto, Y. S., Cheung, W. H., McKay, G., Adsorption of acid dyes on chitosan-equilibrium isotherm analyses. *Process Biochemistry*, 39 (6): 695-704, 2004.

Worsfold, P. J., Classification and chemical characteristics of immobilized enzymes. (Technical report), *Pure Applied Chemistry*, 67: 597-600, 1995.

Wu, Y., Wang, Y., Luo, G., Dai, Y., In situ preparation of magnetic Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>- chitosan nanoparticles for lipase immobilization by cross-linking and oxidation in aqueous solution. *Bioresource Technology*, 100: 3459- 3464, 2009.

Xu J., Ju, C., Sheng, J., Wang, F., Zhang, Q., Sun, G., Sun, M., Synthesis and Characterization of Magnetic Nanoparticles and Its Application in Lipase Immobilization. *Bulletin of Korean Chemical Society*, 34(8): 2408-2412, 2013.

Xua, P.F., Dua,H., Peng, X.,Tang, Y., Zhou, Y., Chen, X., Fei, X., Meng, Y., Yuan,L., Degradation of several polycyclic aromatic hydrocarbons by laccase in reverse micelle system. *Science of The Total Environment*,708:134970, 2020.

Yang, K., Peng, H., Wen, Y., Li, N., Re-examination of characteristic FTIR spectrum of secondary layer in bilayer oleic acid-coated Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles. *Applied Surface Science*, 256: 3093–3097, 2010.

Yang, H., Feng, Q., Characterization of pore-expanded amino-functionalized mesoporous silicas directly synthesized with dimethyldecylamine and its application for decolorization of sulphonated azo dyes. *Journal of Hazardous Materials*,180: 106-114, 2010.

Yang, W.Y., Min, D.Y., Xiao, S.W., Jin, L., Rong, L., Tetsuo, M. and Bo, C., Immobilization and characterization of laccase from Chinese *Rhus vernicifera* on modified chitosan. *Process Biochemistry*, 41: 1378-1382, 2006.

Yang, X. H., Sun, S. Y., Fu, H. T., Li, W. F., An, X. Z., Two-Step Fabrication of Porous  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>@  $\delta$ TiO<sub>2</sub> core-shell Nanostructures with Enhanced Photocatalytic Activity. In 3rd Annual International Conference on Advanced Material Engineering (AME 2017). Atlantis Press, 2017.

Yien, L., Lau, J., Yon, S., Mubarak, NM., Bing, C., Pan, S., Danquah, M., Abdullah, E.C., Khalide, M., An overview of immobilized enzyme technologies for dye and phenolic removal from wastewater. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 7 (2):102961, 2019.

Yinghui, D., Qiuling, W., Shiyu, F., Laccase stabilization by covalent binding immobilization on activated polyvinyl alcohol carrier. *Letters in applied Microbiology*, 235: 451–456, 2002.

Yong, Y., Bai, Y., Yanfeng, L., Lin, L., Cui, Y., Xia, C., Preparation and application of polymer-grafted magnetic nanoparticles for lipase immobilization. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 320: 2350-2355, 2008.



Zhang, S., Gao, S., Gao, G., Immobilization of  $\beta$ -Galactosidase onto magnetic beads. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160:1386–1393, 2010.

Zhang, D-H., Penga, L-J., Wang, Y., Lia, Y-Q., Lipase immobilization on epoxy-activated poly(vinyl acetate-acrylamide) microspheres. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 129: 206–210, 2015.

Zhao, M., Wang, W., Yang, C., Immobilization of laccase by surface modified magnetic nanoparticles. *Journal of Biotechnology*, 136: 435-440, 2008.

Zheng, F., Cui, B-K., Wu, X-J., Meng, G., Liu, H-X., Si, J., Immobilization of laccase onto chitosan beads to enhance its capability to degrade synthetic dyes, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 110: 69-78, 2016.

Zheng, H., Wang, Y., Zheng, Y., Zhang, H., Liang, S., Long, M., Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies on the sorption of 4-hydroxyphenol on Cr-bentonite. *Chemical Engineering Journal*, 14: 117-123, 2008.

Zhou, L., Jin, J., Liu, Z., Liang, X., Shong, C., Adsorption of acid dyes from aqueous solutions by the ethylenediamine-modified magnetic chitosan nanoparticles. *Journal of Hazardous Materials*, 185:1045-1052, 2011.

Zhou, Z., Lin, S., Yue, T., Lee, T-C., Adsorption of food dyes from aqueous solution by glutaraldehyde cross-linked magnetic chitosan nanoparticles. *Journal of Food Engineering*, 126: 133-141, 2014.

Zhua, Y., Jianga, R., Xiao, L., Li, W., A novel magnetically separable -  $\text{Fe}_2\text{O}_3$ /crosslinked chitosan adsorbent: Preparation, characterization and adsorption application for removal of hazardous azo dye. *Journal of Hazardous Materials*, 179: 251–257, 2010.