

T. C
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TUTUKLANMIŞ *Dunaliella viridis* İLE TEKSTİL BOYAR
MADDELERİNİN DEN REMAZOL BRİLLİANT BLUE R VE CİBACRON
BRİLLİANT RED'İN GİDERİMİ

HASAN DEMİRTAŞ

NİSAN 2008

Fen Bilimleri Enstitü Müdürünün onayı.

15/04/2008

Doç. Dr. Burak Birgüven

Müdür V.

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

Anabilim Dalı Başkanı

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

Yrd. Doç. Dr. Sema TAN

Danışman

Tez Jüri Üyeleri

Doç.Dr. Yusuf MENEMEN

Yrd.Doç Dr. Hikmet KATIRCIOĞLU

Yrd.Doç.Dr. Sema TAN

ÖZET

TUTUKLANMIŞ *Dunaliella viridis* İLE TEKSTİL BOYAR MADDELERİNDEN
REMAZOL BRİLLİANT BLUE R VE CİBACRON BRİLLİANT RED'İN
GİDERİMİ

DEMİRTAŞ, Hasan

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman : Yrd.Doç.Dr.Sema Tan

Nisan 2008,43 sayfa

Chlorophyta sınıfına ait *Dunaliella viridis*, kalsiyum aljinat içerisine tutuklanmıştır. Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red boyalarının renk giderimi için boş aljinat küreleri, tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş algler kullanılmıştır. Her iki boya için de en uygun boya konsantrasyonu 0.015 g/ 100 ml olarak tespit edilmiş ve adı geçen boyaların renk giderimi için pH' ın ve sıcaklığın etkisi çalışılmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Dunaliella viridis*, aljinat, renk giderimi, Remazol Brilliant Blue R, Cibacron Brilliant Red.

ABSTRACT

DECOLORIZATION OF TEXTILE DYE REMAZOL BRILLIANT BLUE R AND
CIBACRON BRILLIANT RED WITH IMMOBILIZED *Dunaliella viridis*

DEMİRTAŞ, Hasan

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor : Assist. Prof. Dr. Sema Tan

April 2008, 43 pages

Dunaliella viridis was immobilized in calcium alginate. The alginate beads, immobilized live and inactivated algae with heat were used for decolorization of Remazol Brilliant Blue R and Cibacron Brilliant Red. The most suitable dye concentration was defined as 0.015 g /100 ml for both dyes. The effect of pH and heat was studied for decolorization of both dyes.

Key Words: *Dunaliella viridis*, alginate, immobilized, decolorization, Remazol Brilliant Blue R, Cibacron Brilliant Red.

TEŐEKKÖR

Tez alıŐma konumu belirleyerek, yardımlarını ve desteğini esirgemeyen danıŐmanım Yrd. Doç.Dr. Sema TAN'a, deneysel çalıŐmalarına katkılarından dolayı Yrd. Doç. Dr. Hikmet Katırcıoğlu' na ve Doç.Dr. Aysun Ergene'ye ve Seçil Sarıkaya' ya teŐekkÖr ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Şekil 2.1. <i>Dunaliella viridis</i> ' in besi yerindeki görünümü.....	19
Şekil 2.2. Laboratuvar ortamında aydınlatılan alg kültürleri.....	19
Şekil 3.1. CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine boya konsantrasyonunun etkisi.....	23
Şekil 3.2. CBR ve RBBR için tutuklanmış aktif <i>D.viridis</i> ile renk giderimine boya konsantrasyonunun etkisi.....	24
Şekil 3.3. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif <i>D.viridis</i> ile renk giderimine boya konsantrasyonunun etkisi.....	24
Şekil 3.4. CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine pH'nin etkisi.....	25
Şekil 3.5. CBR ve RBBR için tutuklanmış <i>D.viridis</i> ile renk giderimine pH'nin etkisi.....	26
Şekil 3.6. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif <i>D.viridis</i> ile renk giderimine pH'nin etkisi.....	27
Şekil 3.7. CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine sıcaklığın etkisi.....	28
Şekil 3.8. CBR ve RBBR için tutuklanmış aktif <i>D.viridis</i> ile renk giderimine sıcaklığın etkisi.....	28
Şekil 3.9. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif <i>D.viridis</i> ile renk giderimine sıcaklığın etkisi.....	29
Şekil 3.10.CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine zamanın etkisi.....	30
Şekil 3.11. CBR ve RBBR için tutuklanmış aktif <i>D.viridis</i> ile renk giderimine zamanın etkisi.....	30
Şekil 3.12. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif <i>D.viridis</i> ile renk giderimine zamanın etkisi.....	31
Şekil 3.13. Değişen konsantrasyonlarda boş, tutuklanmış aktif ve inaktif <i>D.viridis</i> ile RBBR gideriminin karşılaştırılması.....	32

Şekil 3.14. Değişen konsantrasyonlarda boş, tutuklanmış aktif ve inaktif *D.viridis* ile CBR gideriminin karşılaştırılması.....33

ÇİZELGELER DİZİNİ

ÇİZELGE

Çizelge 1.1. Remazol Brilliant Blue R'nin kimyasal yapısı.....	8
Çizelge1.2. Cibacron Brilliant Red'in kimyasal yapısı.....	8
Çizelge 2.1. Johnson Besi Ortamı.....	17

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Çevre ve Çevre Kirliliği.....	1
1.2. Atık Suların Genel Özellikleri.....	2
1.3. Atık Sularda Kirletici Etki Oluşturan Bazı Unsurlar.....	3
1.4. Tekstil Sanayi.....	5
1.5. Boyar Maddeler.....	5
1.6. Atık Suların Arıtım Yöntemleri.....	9
1.7. Tekstil Endüstrisi Atık Sularını Arıtma Yöntemleri.....	11
1.8. Algler.....	12
2. MATERYAL VE YÖNTEM	16
2.1. Materyal.....	16
2.1.1. Kullanılan Mikroorganizma.....	16
2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	16
2.1.3. Kullanılan Cihazlar.....	16
2.2. Yöntem.....	16
2.2.1. <i>Dunaliella viridis</i> ' in Üretim Ortamı.....	18
2.2.1.1. Mikroalglerin Büyüme Tayin Yöntemleri.....	18
2.2.1.2. Hücre Sayısının Saptanması.....	18

2.2.1.3. Biomas Ölçümleri.....	18
2.2.2. <i>Dunaliella viridis</i> ' in Ca-Aljinata Tutuklanması.....	20
2.2.4. Tutuklanmış <i>Dunaliella viridis</i> ' in Renk Giderim Aktivitesi İçin Uygun Koşulların Saptanması.....	20
2.2.3.1. Uygun Boya Konsantrasyonunun Saptanması.....	20
2.2.3.2. Uygun pH Değerinin Belirlenmesi.....	21
2.2.3.3. Uygun Sıcaklığın Saptanması.....	21
2.2.3.4. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimine Etkisi.....	22
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	23
3.1. Tutuklanmış <i>D. viridis</i> 'in Renk Giderim Aktivitesi için Optimum Koşulların Saptanması.....	23
3.1.1. Optimum Boya Konsantrasyonunun Saptanması.....	23
3.1.2. Optimum pH Değerinin Saptanması.....	25
3.1.3. Optimum Sıcaklığın Saptanması.....	27
3.1.4. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimine Etkisinin Saptanması.....	29
3.1.5. RBBR Gideriminin Karşılaştırılması.....	31
3.1.6. CBR Gideriminin Karşılaştırılması.....	32
4. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
KAYNAKLAR	39

1. GİRİŞ

1.1.Çevre ve Çevre Kirliliği

Çevre, insanların biyolojik, sosyal ve ekonomik işlevlerini sürdürdükleri ortam olarak tanımlanabilir. Canlı ve cansız çevre arasında doğal olarak sürdürülen ilişkiler zinciri mevcuttur ve tüm varlıkların beraberliğinden oluşan doğa, dinamik bir dengeye sahiptir. Canlı ve cansızlar arasında sürdürülen ilişkilerden kaynaklanan doğanın dinamizmi, belirli bir düzen ve denge içinde gelişir ki bu, ekolojik denge olarak bilinir. Yüzyıllardır kendiliğinden işlevini sürdüren ekolojik denge, insanlar tarafından artık bu işlevini göremeyecek şekilde bozulmaya başlamıştır. Doğanın kendi yapısı içinde barındıramadığı veya yok edemediği sanayi atıklarının miktarı, ekolojik dengeyi bozacak boyutlara ulaşmıştır.

Gün geçtikçe çevre kirliliği ve çevre sağlığını tehdit eden unsurların artması, çok önemli problemlere yol açmaktadır. Çevreye atılan ve geri kazanılamayan veya değerlendirilemeyen her madde, atık olarak adlandırılır.. Buna göre sıvı, katı ve gaz olmak üzere 3 tip atık mevcuttur.

Enerji santralleri, konutlar, endüstri kuruluşları, tarım ve hayvancılık uygulamaları sonucu açığa çıkan ve değerlendirilemeyen veya geri kazanılamayan sular, atık su olarak tanımlanır.

Sıvı atıklar; evsel, endüstriyel atık sular ve doğaya direkt veya indirekt şekilde bulaşan sıvı formdaki maddeler olmak üzere 3 grupta incelenebilir. Günümüzde endüstriyel atık suların (tekstil-boya, alkol, zeytinyağı, peynir altı suyu) miktarı, ekolojik dengeyi bozar duruma gelecek kadar artmıştır.

Türkiye, hızla sanayileşen bir ülkedir. Bu büyük ölçekli gelişim yüksek miktarda atık su problemini de beraberinde getirmektedir. Tekstil endüstrisinde yüksek miktardaki su ve boya girdisi, yüksek miktarda su ve boyar madde içeren atık su olarak atılmaktadır. Tekstil atık sularının ortak özelliği; yüksek BOİ, sıcaklık, yüksek pH ve boyar maddelerden gelen renktir. Renk, atık sularda tanımlanmış ilk kirleticidir ve deşarj edilmeden önce atık sudan uzaklaştırılmalıdır. Boyar maddeler görünüm, ışık geçirgenliği ve gaz çözünürlüğü üzerine etkilidir. Bu nedenle boyar maddeler alıcı ortama verilmeden önce mutlaka rengi giderilmelidir. ⁽¹⁾. Boyar maddeler ve tekstil endüstrisi atık sularının bir kısmının toksik etkileri de bildirilmiştir. ^(2,3).

1.2. Atık Suların Genel Özellikleri

Atık suların özellikleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak gruplandırılabilir.

I-Fiziksel Özellikler:

Sıcaklık: Sularda biyolojik aktiviteyi etkiler, gazların sudaki çözünürlüğünü değiştirir. Suyun tabakalaşması, yoğunlaşması, viskozitesi, yüzey gerilimi vb. sıcaklıkla değişir.

Koku ve tat: Suyun estetik değerini etkiler. Diğer kirletici parametrelerin ve aerobik/anaerobik ortamların varlığının göstergelerinden birisidir.

Renk ve bulanıklık: Suya ışık sızmasını ve buna bağlı olarak organizmanın gelişimini etkiler. Suyun estetik özelliklerini değiştirir, sudaki yaşamı olumsuz etkileyebilir.

Ayrıca, diğer kirleticilerin varlığının da göstergelerinden biridir.

Toplam katılar: Çözünmüş ve çözünmemiş maddelerin göstergesidir.

II- Kimyasal özellikler:

Yağ ve gres: Havalanmayı, dolayısı ile sudaki oksijen miktarını etkiler. Estetik değeri ve tadı bozar.

Deterjan ve pestisitler: Köpük oluşturur, havalanmayı etkiler, oksijen gereksinimi yaratır, toksiktir.

pH: Su yaşamını etkiler, karbonat dengesini değiştirir.

İletkenlik: Çözünmüş maddelerin göstergesidir.

Tuzluluk: Yoğunluğu, tadı, osmotik basıncı ve iletkenliği değiştirir, oksijeni etkiler.

Ağır metal ve radyoaktivite: Serbest amonyak ve nitrit, toksik etki yaparken nitrat insan sağlığını olumsuz etkiler. Arsenik, alüminyum, baryum, bor, çinko, bakır, cıva, demir, kurşun, kadmiyum, krom, kobalt, nikel, selenyum, gümüş, mangan gibi maddelerin de önemli toksik etkileri mevcuttur. Bu maddelere maruz kalan canlılarda akut, subakut ve kronik zehirlenmeler ile ölüm ve üreme sistemiyle ilgili bozukluklar görülmektedir⁽⁴⁾.

III- Biyolojik özellikler:

Büyük nüfuslu yerleşim alanlarının ve endüstrinin yoğun olduğu bölgelerdeki fabrika sularının, arıtım tesislerinden geçirildikten sonra çevreye verilmesi gerekir. Ayrıca atık suyun karışacağı dere, nehir, göl veya denizdeki seyreltilme derecesi ve atık suyun karıştığı su kaynağının ne amaçla kullanılacağı da standart getirilmesi gereken faktörlerdendir. Kalite kriterini saptamak için gerekli olan parametre sayısı ve bu parametrelerin alt ve üst limitleri, suyun kullanılacağı amaca göre belirlenir.

1.3.Atık Sularda Kirletici Etki Oluşturan Bazı Unsurlar

Tüm canlılar için vazgeçilmez bir öge olan su kaynakları, çeşitli etkinlikler sonucu sıvı ve katı atıklar için alıcı ve uzaklaştırıcı olarak da görev yapar ve böylece suların bileşimi sürekli değişime uğrar. Bu nedenle atık suların çevreye olan etkilerini değerlendirirken geniş, kompleks ve çok sayıda parametreleri olan değişik sektörleri ilgilendirmesi de kaçınılmazdır. Patojen mikroorganizmalar, ağır metaller, radyoaktif maddeler, azotlu bileşikler, inorganik maddeler, renk, pH, sıcaklık, organik maddeler ve fenolik bileşikler, atık sulardan kaynaklanan kirlilik unsurları arasında sayılabilir. *Escherichia coli*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae* ve bir amip olan *Entamoeba histolytica* patojen bakteri türlerinden en önemlileridir. Bunlar özellikle kliniklerin ve hastanelerin atık suları, evsel atık sular ile kanalizasyon alıcı ve taşıyıcı sistemlerinde görülür.

Biyolojik parametrelerin yanı sıra teknolojik gelişmeye paralel olarak endüstri atıklarının içerdikleri maddelerin çeşidi artmakta, diğer taraftan da bu bileşiklerin kimyasal yapıları kompleks bir hal almaktadır. Petrokimya, tekstil, boya, maden gibi endüstri kollarından çıkan suların çevre kirlenmesinde olumsuz etkileri oldukça fazladır. Çünkü bu endüstriyel atık suların bileşiminde aromatik ve alifatik hidrokarbonlar, ağır metaller, plastikler, siyanür, fenol, poliklorobifenil, pestisitler ile renk, köpük ve ısı gibi kirleticiler de mevcuttur. Renk (tekstil), köpük (kağıt endüstrisi ve deterjanlar) gibi kirleticiler estetik açıdan olumsuz parametrelerdir. Bu kirleticiler ışığın su ortamına geçişini azaltarak sudaki doğal ekolojik dengeyi bozar. Diğer bir kirletici olan sıcaklık ise akuatik canlıların büyüme hızını yükselterek organik maddelerin dekompozisyonunu hızlandırır ve böylece oksijen tüketim hızını artırır.⁽⁵⁾

1.4. Tekstil Sanayi

Tekstil endüstrisi bugün, en çok su kullanan ve bunun sonucunda da büyük miktarda atık su üreten endüstrilerden birisidir. Tekstil endüstrisinde ana işlemler ham elyafı temizleme, dokuma, boyama, baskı ve apre işlemleridir. Bu işlemlerin bir kısmı mekanik olup su gerektirmez. Ancak tekstil işlemlerinin çoğu ham elyafa, çeşitli inorganik ve organik maddelerle suyun eklenmesini gerektirir. Değişik kimyasal maddelerin işlemlere girmesi ve ham elyafın yabancı maddelerden arındırılması sonucunda, içinde çeşitli kirleticilerin bulunduğu atık sular oluşur. Tekstil atıklarının ortak özellikleri yüksek pH, çok miktarda askıdaki maddeler ve çeşitli boyaların neden olduğu renkliliktir⁽⁶⁾.

1.5. Boyar Maddeler

Elyaf ve kumaş gibi maddeleri renkli hale getirmede kullanılan maddeler boyar madde olarak bilinir. Boyar maddeler genellikle çözeltiler ve süspansiyonlar halinde çeşitli boyama yöntemleri ile uygulanırlar. Boyar maddeler organik bileşiklerdir. Boya molekülleri kromajenik yapılar içerir ki bu yapılar görünür ışığın absorbe edilmesini sağladığı gibi boyanın elyafın üzerine veya içine tutulmasını da sağlarlar. Boya molekülünde bulunan oksokrom grubu, moleküle elektrolitik çözünme özelliği veren ve boya molekülünün tuz meydana getirmesini sağlayan bir grup olup boyanın asidik ya da bazik özellikte olduğunu belirler.⁽⁷⁾

Boyar maddeler, çözünürlükleri, boyama özellikleri ve kimyasal yapılarına göre 3 grupta toplanır.

I-Çözünürlüklerine göre

- a) Suda çözünen boyar maddeler
- b) Suda çözünmeyen boyar maddeler

II-Boyama özelliklerine göre

- a) Bazik (katyonik) boyar maddeler
- b) Asit boyar maddeler
- c) Direkt boyar maddeler
- d) Pigment boyar maddeler
- e) Metal-kompleks boyar maddeler
- f) Dispersiyon boyar maddeleri
- g) Küpe boyar maddeler
- h) Mordan boyar maddeler
- i) Reaktif boyar maddeler

III- Kimyasal yapılarına göre

- a) Azo boyar maddeler
- b) Nitro ve nitrozo boyar maddeler
- c) Polimetin boyar maddeler
- d) Arilmetin boyar maddeler
- e) Aza (18) boyar maddeler
- f) Karbonil boyar maddeler
- g) Kükürt boyar maddeler

Çalışmamızda boyama özelliklerinden dolayı tercih edilen reaktif boyalar suda da çözünür özellik de gösterirler. Bu boyaların bir kısmı tekstil fiberlerine bağlanırken bir kısmı da atık su ile deşarj edilmektedir^(8,9) ve bunlar aerobik çevrede çok zor

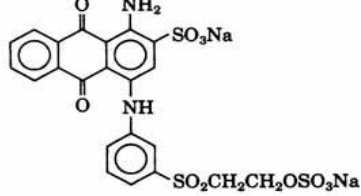
biyolojik indirgenmeye uğradıkları için tekstil atık sularında problem yaratan bileşikler olarak da tanımlanırlar^(10,11).

Tekstil endüstrisinde çok kullanılan reaktif boyalar, reaktif grupları sayesinde selüloz, yün, ipek, poliamid gibi elyaf türleri ile kovalent bağ yaparak elyafın boyanmasını sağlarlar. Bütün reaktif boyar maddelerin ortak özelliği hepsinde kromofor taşıyan grupların bulunmasının yanı sıra, hem moleküle çözünürlük sağlayan, hem de reaktif olan gruplara sahip olmalarıdır⁽¹²⁾.

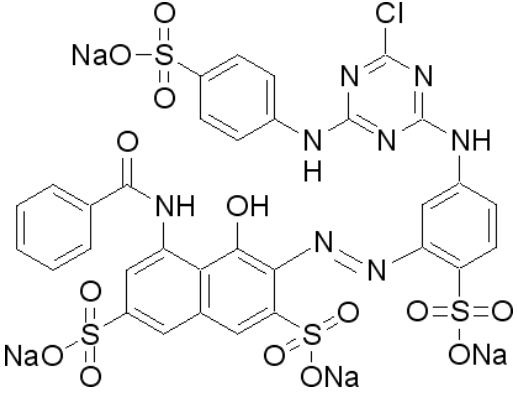
Boyadaki reaktif grup ile reaksiyona girecek fonksiyonel gruplar, selüloz materyalinde hidroksil, yün ve ipekte ise amino, karboksil, hidroksil ve tiyaoalkol gruplarından oluşurlar. Poliamid özelliğindeki elyafta ise boyanmanın gerçekleşmesini sağlayan birden fazla amino ve karboksil grubu bulunmaktadır. Bütün bu gruplar nükleofilik karakterdedir ve bu nedenle reaktif grubun yapısındaki elektrofilik merkeze katılırlar.

Çalışmamızda kullanılan reaktif boyar maddeleri Remazol Brilliant Blue R (RBBR) (Çizelge1.1) ve Cibacron Brilliant Red (CBR) (Çizelge1.2), renk bakımından oldukça çeşitlilik gösteren ve sentetik boyaların en büyük grubunu oluşturan boyar maddelerdir⁽¹³⁾. Çevrede oluşturabilecekleri olası mutajenik etkileri ve yüksek renk yoğunlukları nedeni ile üzerinde dikkatle durulmalıdır^(14,15)

Çizelge 1.1. Remazol Brilliant Blue R'nin kimyasal yapısı

Boya	Kimyasal yapı
	
Remazol Brilliant Blue R	
Dalga Boyu (nm)	595
Molekül formülü	$C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$
Molekül ağırlığı	626.54

Çizelge1.2. Cibacron Brilliant Red'in kimyasal yapısı

Boya	Kimyasal Yapı
	
Cibacron Brilliant Red	
Dalga boyu (nm)	520
Molekül formülü	$C_{32}H_{24}ClN_8Na_4O_{14}S_4$
Molekül ağırlığı	1000.25

1.6.Atık Suların Arıtım Yöntemleri

Atık su arıtımı; suların çeşitli kullanımlar sonucunda atık su haline dönüşerek yitirdikleri kimyasal, fiziksel ve bakteriyolojik özelliklerinin bir kısmını veya tamamını tekrar kazandırabilmek ve boşaldıkları alıcı ortamın doğal, fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik ve ekolojik özelliklerini değiştirmeyecek hale getirebilmek için uygulanan fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtma işlemlerinin biri veya birkaçı olarak tanımlanabilir. Genel olarak atık su arıtımını, fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtım olmak üzere üç gruba ayırmak mümkündür ⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

I-Fiziksel Arıtım Yöntemleri

Fiziksel arıtım işlemleri, atık suyun içerdiği askıda kolloidal parçacık ve diğer iri katı maddeleri sudan ayırarak, arıtılmak üzere daha sonraki işlemlere hazırlayan yöntemlerdir.

II-Kimyasal Arıtım Yöntemleri

Kimyasal arıtım işlemleri, atık sudaki bileşiklerin kimyasal yapısını değiştirerek onları arıtmaya yarar ve bu işlemlerin sonucunda daha az zararlı veya zararsız atıklar oluşur. Kullanılan kimyasal yöntemlerden birisi olan adsorpsiyon, klasik arıtma ile arıtılması güç olan ve zehirlilik, renk, koku vb. ile kirlilik oluşturan kimyasal maddelerin adsorblayıcı bir katı madde (adsorbent) yüzeyinde kimyasal bağlarla ayrılması işlemidir. Biyosorpsiyon işlemi ise, çeşitli bileşenlerin (organik, inorganik, metal iyonu, vb.), biyolojik kökenli malzemeler tarafından ortam pH'sına bağlı olarak aktif ya da pasif adsorpsiyonu olarak tanımlanır. Pasif alınımlar; biyosorbent yüzeyindeki aktif merkezlere yüzey adsorpsiyonu, kompleks ve şelat oluşumu, yüzey çöktürme gibi mekanizmalarla gerçekleşir. Aktif alınımlar ise, kirleticinin canlı hücre içine alınımı şeklinde olup, kovalent bağ oluşumu, yüzey çöktürme, redoks

reaksiyonları, hücre zarından sitoplazmaya taşınım, sitoplazmadaki protein, lipid gibi yapılara bağlanma ve vakuollerde birikme şeklindedir. Biyosorpsiyon oldukça hızlı bir işlem olmasına rağmen çoğunlukla seçicidir. İyon ya da moleküllerin mikroorganizmaya biyosorpsiyon hızı ve kapasitesi; ortam pH'sı, sıcaklık, başlangıç kirletici derişimi, biyosorbent miktarı, ortamda bulunan diğer anyon ve katyon derişimleri gibi pek çok parametreye bağlıdır^(19,20). Mikroorganizmanın türü, yüzey özellikleri ve yapısındaki bileşenler, adsorplanan bileşenin cinsi, derişimi, fiziksel ve kimyasal özellikleri, ortam pH'ı ve sıcaklığı, diğer bileşenlerin varlığı, biyosorpsiyonu etkileyen en önemli parametreler arasında sayılabilir⁽²¹⁾.

Mikroorganizmanın yapısının karmaşıklığı, hücreler tarafından iyonların tutulması için birçok yol olduğunu gösterir. Ölü hücrelere biyosorpsiyon kinetiği iki basamakta incelenebilir. Birinci basamak yığın akıştaki adsorplanacak bileşenin hücre yüzeyine taşınması, ikinci basamak ise hücre yüzeyinde adsorpsiyon işlemidir. Genelde biyosorpsiyon oldukça hızlı olup, mikroorganizma adsorplanan bileşen ile temasa geldikten kısa bir süre sonra dengeye ulaşır^(22,23).

Mikroorganizmaların adsorpsiyon işleminde kullanılmasında, adsorpsiyon malzemesine biyosorbent adı verilir. Mikroorganizmalar ısı ile işlemle ya da özel kimyasallarla muamele edilerek biyosorbent olarak hazırlanabilir. Isıl işlemler; etüvde kurutma, otoklavlama gibi yöntemleri kapsarken, kimyasal işlemler; etil alkol, formaldehit, sodyum hidroksit gibi kimyasallarla hücrelerin temas ettirilmesini içerir⁽²⁰⁾.

III-Biyolojik Arıtım Yöntemleri

Bu işlemlerde doğal ve yapay biyolojik tesislerde, kendi ağırlığı ile çökemeyen asılı ya da koloidal taneciklerle çözünmüş organik maddelerin giderilmesi, organizmalar tarafından sağlanır. Suda yaşayan canlılar bu maddeleri, besin ve enerji kaynağı

olarak kullanılır. Bu kullanım sırasında organik maddelerin bir kısmı enerjiye dönüştürülürken, diğer bir kısmı da hücre için gerekli yeni maddelerin biosentezinde kullanılır. Organizmalar ve buna bağlı olarak arıtma sistemleri, oksijenin kullanımına göre iki ana gruba ayrılır. Birinci grup, moleküler oksijenden yararlanan ve oksijen bulunan yerlerde yaşayabilecek aerobik organizmalar, ikinci grup ise oksijensiz yerlerde yaşayabilecek anaerobik organizmalardır^(24,25). Atık suların biyolojik arıtımında önem taşıyan başlıca mikroorganizmalar; bakteriler, mantarlar, algler, protozoalar; rotiferler, kabuklular ve virüslerdir.

1.7. Tekstil Endüstrisi Atık Sularını Arıtma Yöntemleri

Pekçok tekstil-boya endüstrisi atık suları, işletmenin kanalizasyon suları ile karıştırılmaktadır. Bu da atık suyun mevcut biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ) ve kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) değerinin artmasına ve atık suyun, evsel atık su karakteri taşımasına neden olmaktadır.

KOİ ve BOİ, organik madde miktarını ifade etmektedir. Yüksek KOİ ve BOİ'ye sahip bir atık suyun içerisinde yüksek miktarda organik madde var demektir. Bu tip atık suların alıcı ortama arıtılmadan verilmesi, alıcı ortamdaki canlı yaşamı olumsuz etkilemektedir. Organik maddeler alıcı ortamda organizma üremesini indüklemekte ve öncelikle aerobik yaşam indüklenirken, daha sonra biyolojik oksidasyon sonucu çözülmüş oksijen azalacağından anaerobik yaşama doğru gidiş başlamakta, bunun sonucunda da sulu ortamdaki aerobik yaşam ortadan kalkmakta ve ötrofikasyon oluşmaktadır.

Birçok durumda renk, direkt olarak atık su içerisindeki mevcut zararlı potansiyeli olan maddeyi gösterdiği için BOİ veya KOİ'den daha büyük bir problemdir. Tekstil-

boya fabrikası atık sularının rengi de içerdığı boyar maddeden ileri gelmektedir. Bu tip renkli maddelerin nehir ve göl gibi alıcı ortamlara verilmesi sonucunda oluşacak renklenme, güneş ışığının su içerisine absorbe olmasını engellemektedir. Böylece fotosentez-solunum dengesi bozulmakta, çözülmüş oksijen seviyesi azalmakta, aerobik organizmalar olumsuz yönde etkilenmekte ve anaerobik süreç başlamaktadır⁽¹⁾.

Renk gideriminde kullanılabilecek yöntemler arasında adsorbsiyon, membran sistemi, ozonifikasyon, koagülasyon-flokülasyon, oksidasyon ve indirgenme, elektrokimyasal teknoloji, fotokatalizasyon gibi yöntemler sayılabilir. Ancak bu yöntemlerin tek başlarına yetersiz oluşları, yatırım ve işletme maliyetlerinin yüksek oluşu ve kullanımlarının yeni kirlilikler oluşturması gibi durumlar, alternatif arıtım yöntemlerinin geliştirilmesine neden olmuştur. Çevreyi kirletmeyen biyolojik yöntemler için kullanımı daha kolay ve ucuz olan çeşitli mikroorganizmalar tercih edilmektedir. Bu mikroorganizmalardan en önemlileri boyar maddeleri adsorplama yeteneği olan mantarlar, mayalar, bakteriler ve alglerdir.

1.8. Algler

Tohumsuz bitkilerin çok geniş bir grubunu teşkil eden algler, gerçek kök, gövde ve yaprak gibi organlar halinde farklılaşmamış, thallus adı verilen vücut yapılarına sahip, klorofil içeren çiçeksiz, sporlu bitkilerdir⁽²⁶⁾.

Algler genellikle tatlı su ve denizlerde yaşarlar. Ototrof olan bu canlılar, ışıpta fotosentez yolu ile karbondioksit ve inorganik maddelerden yüksek enerji potansiyeline sahip organik bileşikleri yaparlar. Bu fonksiyonları nedeniyle fitoplanktonik canlılar, iç sular ve denizlerdeki hayvanların beslenmesinde çok

önemli olup, sucul ortamda tüm üretimin temelidirler. Alg kültürü çalışmalarında, temel özellikler bakımından benzerlikler gösterdikleri için mikrobiyolojik yöntemler geçerlidir. Genellikle fotosentetik organizmalar olan algler, bir ışık kaynağına gereksinim duyarlar ve büyüme hızları mikroorganizmalara göre daha yavaştır.⁽²⁷⁾

Alglerin en belirgin ve dikkat çekici özellikleri, renkleridir. Farklı gruplara ait alglerin içerdikleri pigment çeşitleri, primer sınıflandırmada yardımcı olabilir. Alglerin içerdikleri pigmentleri klorofiller, karotenoidler ve fikobilinler olarak başlıca üç gruba ayırmak mümkündür⁽²³⁾. Tüm ototrofik canlılar, sahip oldukları pigmentler güneş enerjisinin organik maddeye dönüşümünü sağlarken fotosentez işlemini gerçekleştirirler⁽²⁷⁾.

Algler, fotosentez yetenekleri, yüksek protein ve çeşitli vitamin içerikleri, basit besiyerlerinde hızla çoğalmaları nedeniyle besin kaynağı olarak kullanılmaktadırlar. Diğer mikroorganizmalardan farklı olarak yeterli oranda karbondioksit, belirli derecede aydınlatma, geniş üretim ortamı gibi özel koşullara ihtiyaç duyarlar^(28,29).

Başlangıçta sınıflandırılmalarında birkaç temel özellik dikkate alınırken bugün, morfolojik, sitolojik ve evrimsel gelişmelerin yanı sıra mikroskobik, kimyasal ve genetiksel yapıları da dikkate alınarak değerlendirilmektedir. Algler yapısal özelliklerine göre 7 bölümde incelenirler:

1-Cyanophyta (mavi-yeşil algler)

2-Euglenophyta (kamçılı algler)

3-Pyrrophyta (ateş rengi algler)

4-Crysophyta (altın rengi algler)

5-Chlorophyta (yeşil algler)

6-Phaeophyta (kahverengi algler)

7-Rhodophyta (kırmızı algler)

Algler, görünüşleri bakımından değişik biçimler sergileyen canlılardır. Tek hücreli olabildikleri gibi koloniler de oluşturabilirler; iplikli formlardan hücre tabakalarından oluşmuş yapılara (tallus) kadar değişik formlarda bulunabilirler. Algleri morfolojik özelliklerine göre de tek hücreli kamçısız algler ve tek hücreli kamçılı algler şeklinde gruplandırabiliriz.

Chlorophyta grubuna dahil olan Chlorophyceae sınıfındaki Volvocales takımının Dunaliellaceae familyasında olan *Dunaliella* cinsinin belirgin bir hücre çeperi yoktur⁽²⁷⁾ ve 29 adet türü tanımlanmıştır⁽³⁰⁾. Bu cinsin sınıflandırılması, hücrenin rengine, büyüklüğüne ve halofilik veya halotoleranslı olmalarına bağlıdır⁽³¹⁻³³⁾. Yeşil bir alg olan *Dunaliella* sp., tek hücreli, çift kamçılı, çıplak, halofilik, oval, yumurta veya armut şeklinde olan ökaryotik bir organizmadır^(30,34-40). Kamçıları genellikle eşit boydadır. Bir adet kupa şeklinde kloroplastı bulunmaktadır ki bu, denizel ve halofilik türlerde merkezi pirenoidi oluşturmaktadır^(38,41). Hücrelerinde golgi kompleksi, küçük vakuoller, tek kloroplast ve çekirdek bulunur^(42,43).

Eşaysız üremeleri, hücrelerin uzunlamasına ikiye bölünmesiyle olurken, eşeyli üremesi izogami ile olur, ileri safhalarda da konjugasyon görülmektedir. Zigot, yeşil veya kırmızı olup etrafı pürüzsüz kalın bir duvarla çevrilidir. Hareketsiz dönemden (uyku hali) sonra zigottaki nükleuslar bölünerek 32 adet hücre oluşturmaktadır. Ana hücrenin parçalanmasıyla bu hücreler serbest hale geçmekte ve bölünme sırasında hareketine devam etmektedir^(44,45).

Çalışmanın Amacı:

Bu çalışmada, Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red tekstil boyalarının atık sulardan gideriminde aljinata tutuklanmış *D. viridis*' in iyi bir biyosorbent olup olmadığının tespit edilmesi amaçlanmıştır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Mikroorganizma

Çalışmalarda, TÜBİTAK Marmara Araştırma Merkezi'nden (MAM) elde edilen *D. viridis* kullanılmıştır.

2.1.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Aljinat, Kalsiyum klorür (CaCl_2), Sodyum hidroksit (NaOH), Remazol Brilliant Blue R (Sigma A 8001), Cibacron Brilliant Red Sigma-Aldrich firmasından, Hidroklorik asit (HCl) Merck AG (Darmstadt) firmasından; çalışmalarda kullanılan tüm kimyasallar, analitik saflıkta elde edildi.

2.1.3. Kullanılan Cihazlar

Çalkalamalı İnkübatör (Heidolp, Unimax 1010), pH metre (Hanna, pH 211), Elektronik terazi (Sartorius), Spektrofotometre (Schimatzu), Etüv (Nüve İnkübatör), Manyetik karıştırıcı (Nüve).

2.2. Yöntem

2.2.1. *Dunaliella viridis*' in Üretim Ortamı

Dunaliella viridis kültürleri (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2) için Johnson besiyeri kullanılmıştır (Çizelge 2.1)

Tüm besiyerleri 121 °C' de 15-20 dakika otoklavda sterilize edilmiştir. Sıvı besiyerinden, katı besiyerleri hazırlanırken % 1,5 agar ilave edilmiştir⁽⁴⁶⁾.

Çizelge 2.1. Johnson Besi Ortamı

<u>Maddeler</u>	<u>g/L</u>
NaCl	% 10-30
MgCl ₂ . 6H ₂ O	1,5
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,5
KCl	0,2
CaCl ₂ . 2H ₂ O	0,2
KNO ₃	0,1
NaHCO ₃	0,043
KH ₂ PO ₄	0,035
Fe Solusyonu	10 ml
Eser Elementler Solusyonu	10 ml
Distile Su	980 ml tamamlandı.
pH; 7,5	
<u>Fe Solusyonu Maddeleri</u>	<u>mg/L</u>
Na ₂ EDTA	189
FeCl ₃ . 6H ₂ O	244
<u>Eser Elementler Solusyonu Maddeleri</u>	<u>mg/L</u>

H ₃ BO ₃	61,0
(NH ₄)Mo ₇ O ₂₄ . 4H ₂ O	38,0
CuSO ₄ . 5 H ₂ O	6,0
CoCl ₂ . 6 H ₂ O	5,1
ZnCl ₂	4,1
MnCl ₂ . 4 H ₂ O	4,1

2.2.1.1. Mikroalglerin Büyüme Tayin Yöntemleri

Kültürlerin kantitatif değerlendirilmesi; hücre sayısı, hücre kuru veya yaş ağırlığı, optik yoğunluğu, klorofil miktarı, organik karbon vs. gibi algal büyüme ile ilgili parametrelerin ölçülmesi ile yapılmıştır⁽²⁷⁾.

2.2.1.2. Hücre Sayısının Saptanması

Alg kültüründe hücre sayısı ve büyümenin izlenmesinde kullanılan çeşitli özel sayma lamaları mevcuttur. Bu araştırmada, kültürlerin logaritmik ve duraklama fazlarında alglerin sayılarını tespit etmek için Neubauer lamından yararlanılmıştır^(47,48).

2.2.1.3. Biomas Ölçümleri

Kültürlerin verimi, hücre kuru ve yaş ağırlıklarının ölçülmesi ile tespit edilmiştir. Örneklerin hücre yaş ağırlıklarının saptanmasında, 40 ml'lik örnekler, 5000 rpm' de 10 dakika santrifüje edilmiş, tortu kısmının ağırlığı ölçülmüştür^(27,49).



Şekil 2.1. *Dunaliella viridis*' in besi yerindeki görünümü



Şekil 2.2. Laboratuvar ortamında aydınlatılan alg kültürleri

2.2.2. *Dunaliella viridis*' in Ca-Aljinata Tutuklanması

2 g aljinat (*Macrosytia pyrifera*, high viscosity, Sigma, Chem.Co.,USA) 100 ml distile su içerisinde karıştırılarak çözüldü ve 100 ml' lik alg kültürleri 4000 rpm' de 5 dakika santrifüje edilerek 3 kez yıkanan alg biyoması (1.10^7 cfu/ml) 50 ml distile su ile karıştırıldı. Karışım, sürekli karıştırılan 100 mM CaCl₂ çözeltisi içerisinde 1 saat karıştırıldı. Hazırlanan tutuklanmış *D. viridis* içeren aljinat küreleri, deneylerde kullanılmak üzere 5 mM CaCl₂ içinde + 4°C'de saklandı.

Alg içeren kürelerin bir kısmı ayrıldı ve 98 °C'de 10 dakika kaynatılarak tutuklanmış alglerin inaktif formları elde edildi. Boş aljinat küreleri ile tutuklanmış canlı ve inaktif alg içeren aljinat küreleri 50°C'de 1 gece kurutulup tartılarak tutuklanmış örneklerin kuru ağırlık tayinleri yapıldı.

2.2.3. Tutuklanmış *Dunaliella viridis*' in Renk Giderim Aktivitesi İçin Optimum Koşulların Saptanması

2.2.3.1. Optimum Boya Konsantrasyonunun Saptanması

Uygun boya konsantrasyonunun saptanması amacıyla, iki boya için de ayrı ayrı 100 ml distile su /250 ml' lik erlenmayer olacak şekilde hazırlanan ortamlara sırasıyla 0.0025, 0.0050, 0.0075, 0.010, 0.015, 0.025 g Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red boyası eklendi. Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak boyanın tamamen çözünmesi sağlandı. Ca-aljinata tutuklanmış (30 aljinat küresi) canlı ve ısıyla inaktive edilmiş *D. viridis* ve boş aljinat küreleri 100 rpm döngüsel çalkalama hızında farklı konsantrasyonda hazırlanan boyalar ile 24 saat muamele edildi.

İnkübasyon süresinin sonunda Ca-aljinata tutuklanmış canlı ve boş aljinat küreleri süzülerek ortamdan ayrıldı. Renk giderim ölçümleri spektrofotometre kullanılarak Remazol Brilliant Blue R (RBBR) için 595 nm, Cibacron Brilliant Red (CBR) için ise 520 nm dalga boyunda yapıldı.

2.2.3.2. Optimum pH Değerinin Belirlenmesi

Optimum pH değerinin saptanması amacıyla, iki boya için de ayrı ayrı pH 2.0-8.0 aralığında ayarlanmış 100 ml distile su /250 ml'lik erlenmayer olacak şekilde hazırlanan ortamlara sırasıyla 0.015 g Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red boyası eklendi. Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak boyanın tamamen çözünmesi sağlandı. Ca-aljinatla tutuklanmış (30 aljinat küresi) canlı ve ısıyla inaktive edilmiş *D. viridis* ve boş aljinat küreleri ile hazırlanan boyalar 150 rpm döngüsel çalkalama hızında 24 saat karıştırıldı. İnkübasyon süresinin sonunda Ca-aljinata tutuklanmış canlı ve ısıyla inaktive edilmiş *D. viridis* ile boş aljinat küreleri süzülerek ortamdan ayrıldı ve bölüm 2.2.3.1' de anlatıldığı gibi spektrofotometrik tayinler yapıldı.

2.2.3.3. Optimum Sıcaklığın Saptanması

Optimum sıcaklığın saptanması amacıyla, iki boya için de ayrı ayrı pH 2.0'ye ayarlanmış 100 ml distile su /250 ml'lik erlenmayer olacak şekilde hazırlanan ortamlara 0.015 g Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red boyası eklendi. Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak boyanın tamamen çözünmesi sağlandı.

Ca-aljinata tutuklanmış (30 aljinat küresi) canlı ve ısıyla inaktive edilmiş *D. viridis* ve boş aljinat küreleri ile hazırlanan boyalar 25°C, 30°C, 35°C, 40°C ve 45°C’de 150 rpm döngüsel çalkalama hızında 24 saat karıştırıldı. İnkübasyon süresinin sonunda Ca-aljinata tutuklanmış canlı ve ısıyla inaktive edilmiş *D. viridis* ile boş aljinat küreleri süzülerek ortamdaki ayrıldı ve bölüm 2.2.3.1’ de anlatıldığı gibi spektrofotometrik tayinler yapıldı.

2.2.3.4. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimine Etkisi

İnkübasyon süresinin renk giderimine etkisinin saptanması amacıyla, iki boya için de ayrı ayrı pH 2.0’ ye ayarlanmış 100 ml distile su /250 ml’lik erlenmayer olacak şekilde hazırlanan ortamlara 0.015 g Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red boyası eklendi. Manyetik karıştırıcı ile karıştırılarak boyanın tamamen çözünmesi sağlandı. Ca-aljinatla tutuklanmış (30 aljinat küresi) canlı ve ısıyla inaktive edilmiş *D. viridis* ve boş aljinat küreleri ile hazırlanan boyalar 25°C’ de 150 rpm döngüsel çalkalama hızında 30 dakika, 1, 3, 5, 7, 9, 16, 18 ve 24 saat karıştırıldı. İnkübasyon süresinin sonunda Ca-aljinatla tutuklanmış canlı ve ısıyla inaktive edilmiş *D. viridis* ile boş aljinat küreleri süzülerek ortamdaki ayrıldı ve bölüm 2.2.3.1’ de anlatıldığı gibi spektrofotometrik tayinler yapıldı.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

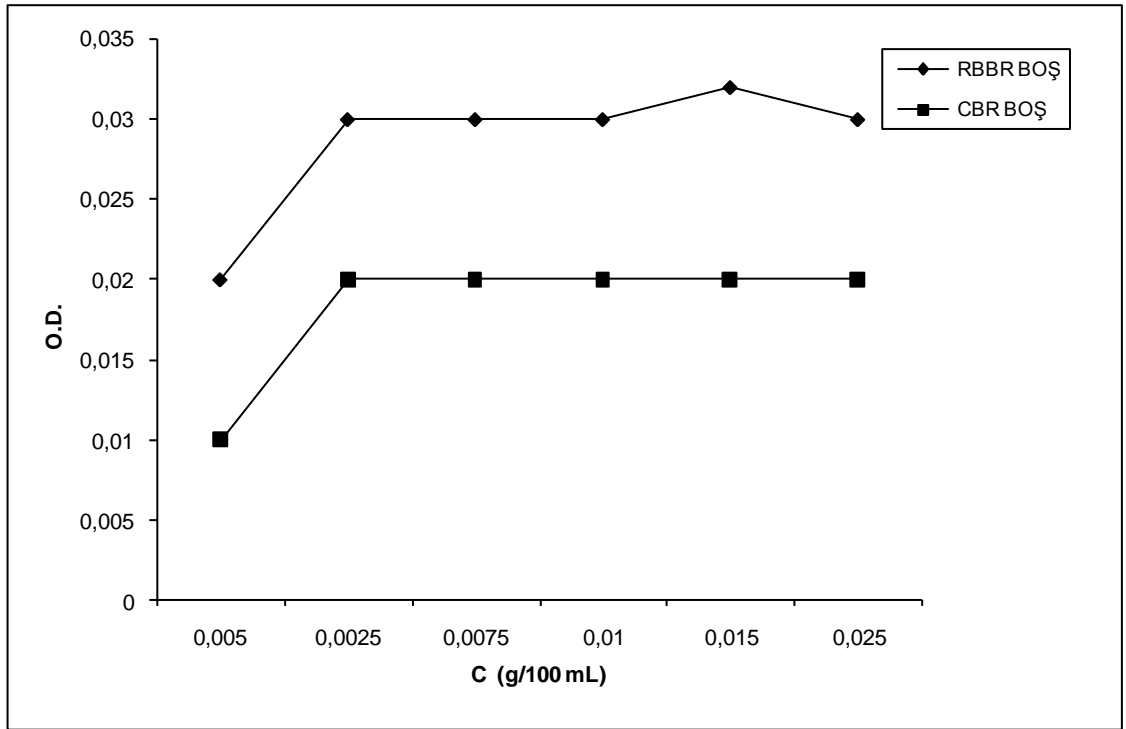
Çalışmamızda Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red tekstil boyalarının atık sulardan gideriminde aljinata tutuklanmış *D. viridis*' in iyi bir biyosorbent olup olmadığı araştırılmıştır.

3.1. Tutuklanmış *D. viridis*'in Renk Giderim Aktivitesi İçin Optimum

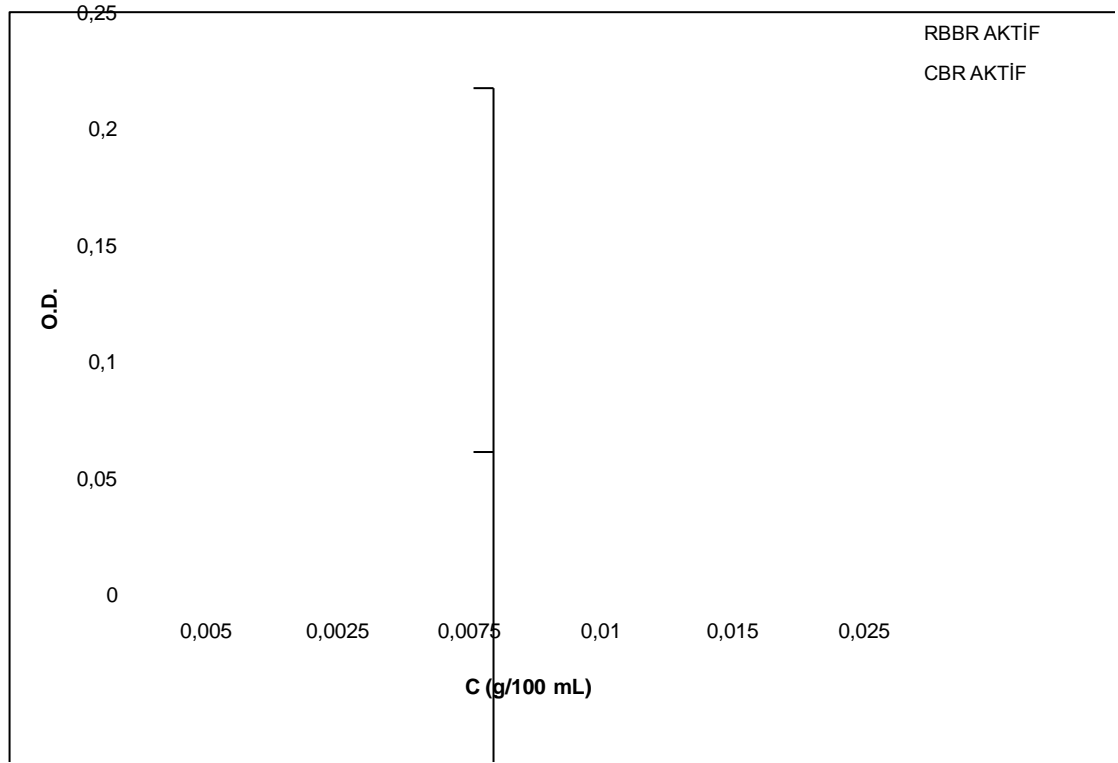
Koşulların Saptanması

3.1.1. Optimum Boya Konsantrasyonunun Saptanması

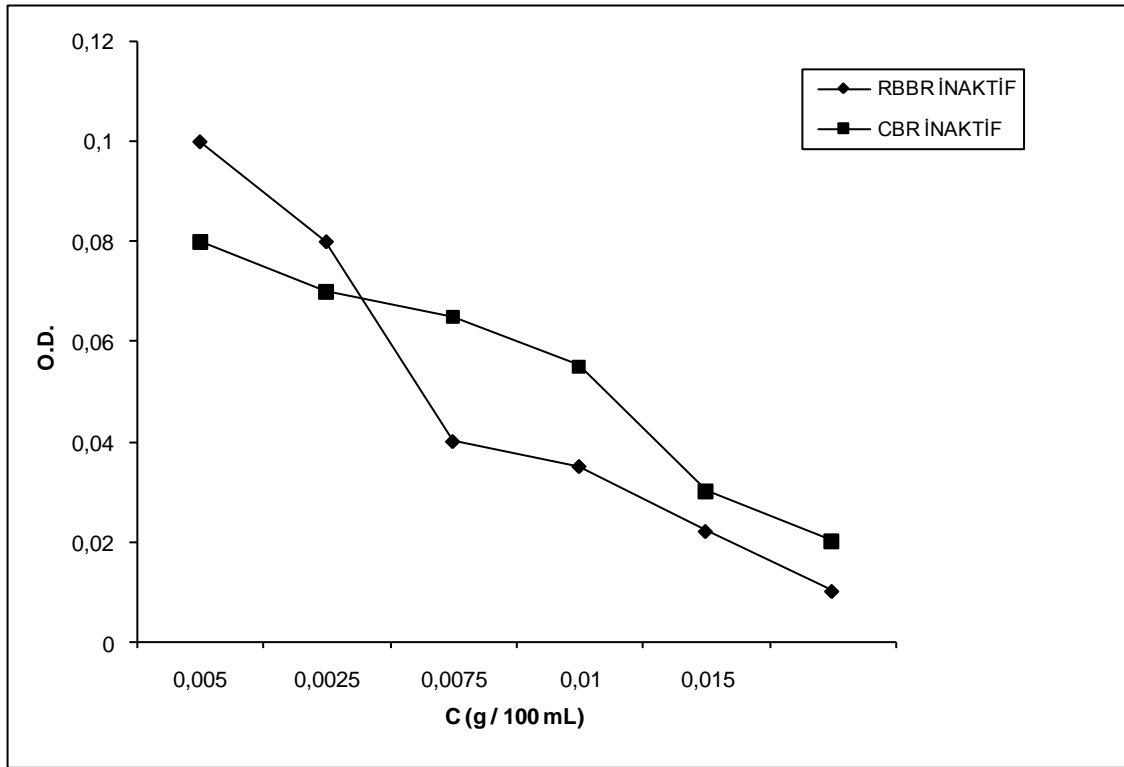
Farklı boya konsantrasyonları ile yapılan çalışma sonucunda en uygun boya konsantrasyonunun 0,015 g olduğu tespit edilmiştir. Spektrofotometre ile yapılan ölçümler sonucu elde edilen sonuçlar Şekil 3.1, Şekil 3.2. ve Şekil 3.3' de verilmiştir.



Şekil 3.1. CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine boya konsantrasyonunun etkisi (Sıcaklık= 25 °C, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm).



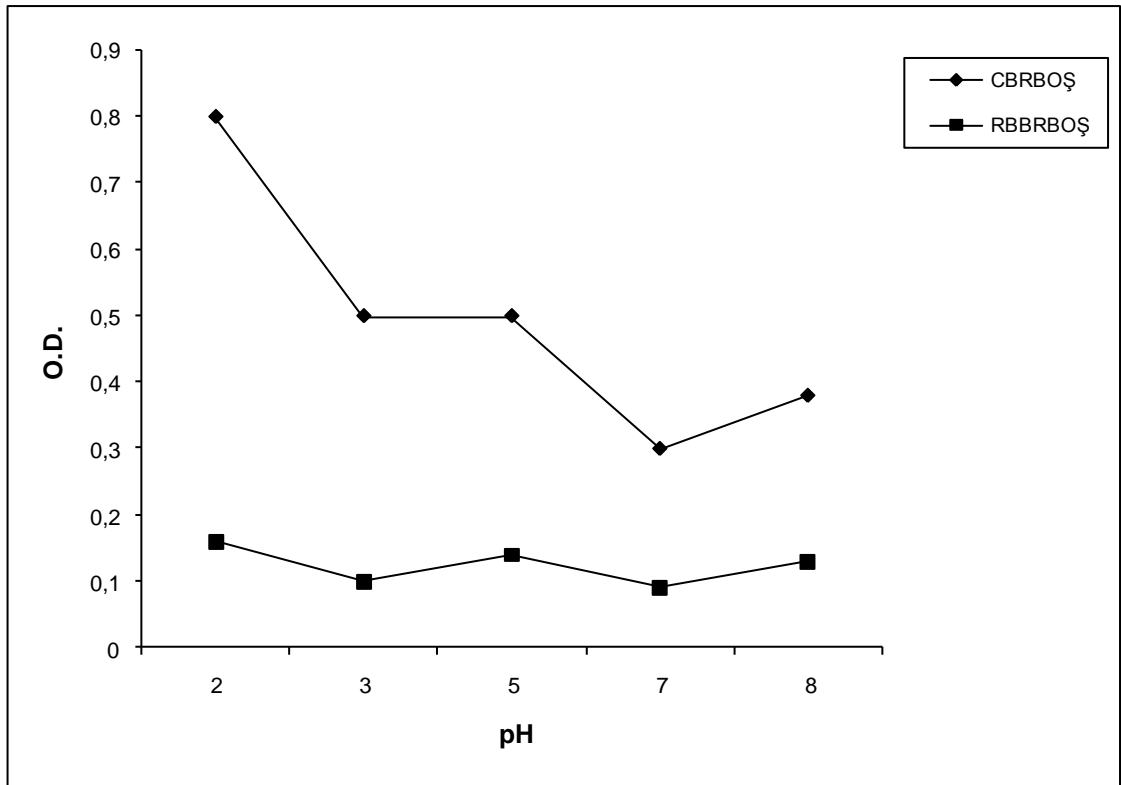
Şekil 3.2. CBR ve RBBR için tutuklanmış aktif *D.viridis* ile renk giderimine boya konsantrasyonunun etkisi (Sıcaklık= 25 °C, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm).



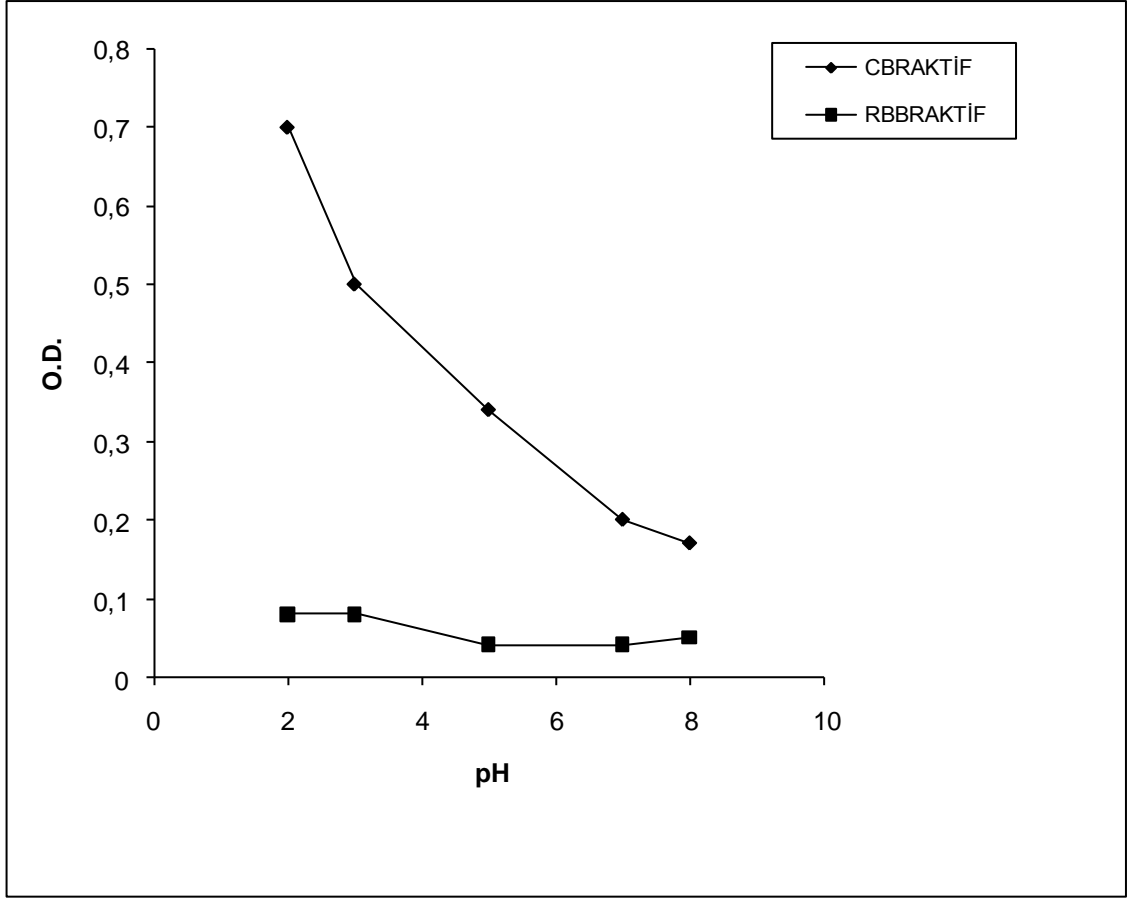
Şekil 3.3. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif *D.viridis* ile renk giderimine boya konsantrasyonunun etkisi (Sıcaklık= 25 °C, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm).

3.1.2. Optimum pH Değerinin Saptanması

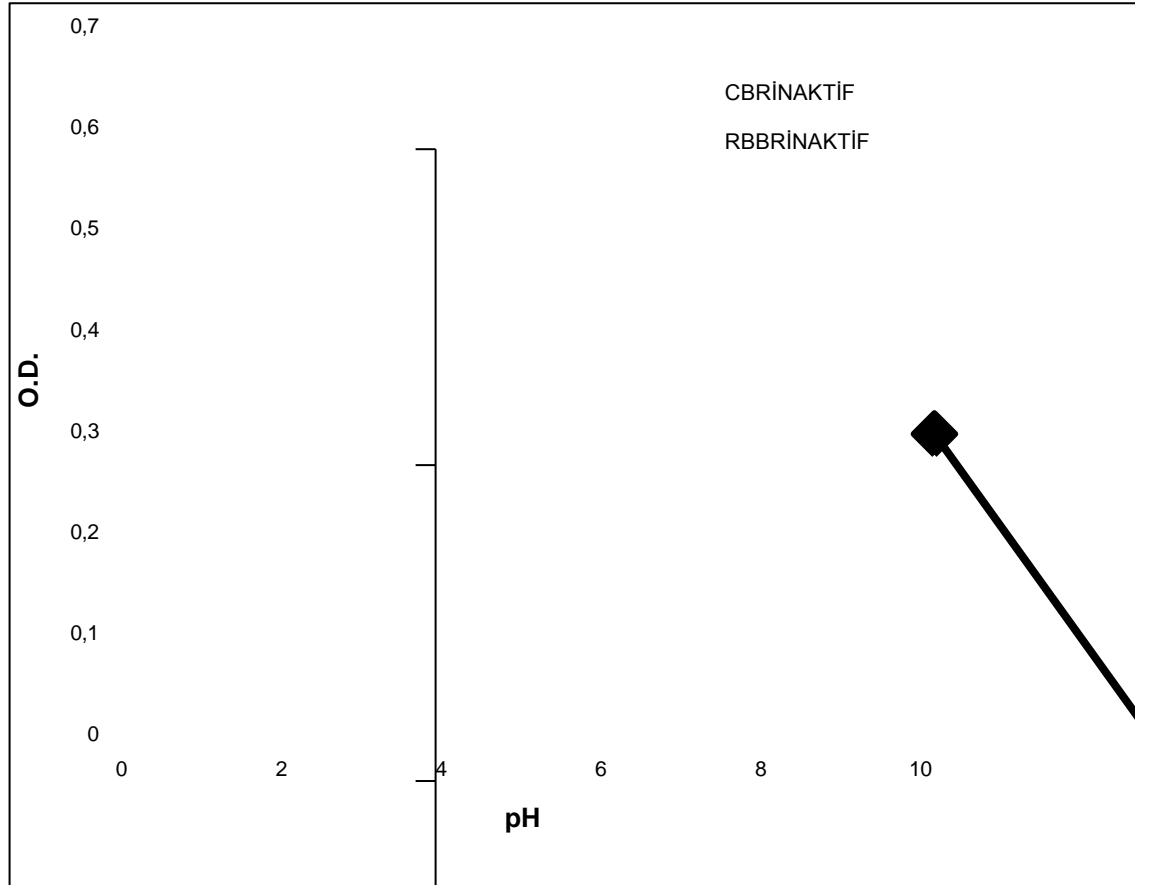
Boş küre, tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *D. viridis*' in Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red' in renk giderimine, farklı pH'ların etkisi denenmiştir. Her iki boya için de en uygun pH'ın 2.0 olduğu tespit edilmiştir. Spektrofotometre ile yapılan ölçümlerden elde edilen sonuçlar Şekil 3.4, Şekil 3.5 ve Şekil 3.6' de verilmiştir.



Şekil 3.4. CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine pH'ın etkisi (Sıcaklık= 25 °C, başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, çalkalama hızı=100 rpm).



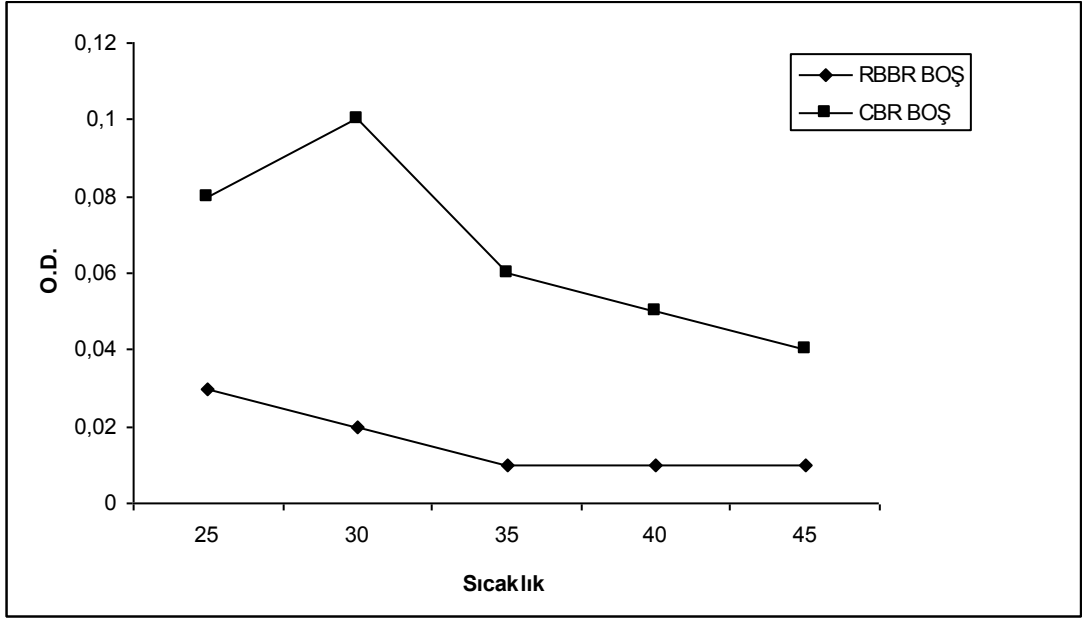
Şekil 3.5. CBR ve RBBR için tutuklanmış aktid *D. viridis* ile renk giderimine pH'ın etkisi (Sıcaklık= 25 °C, başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, çalkalama, hız=100 rpm).



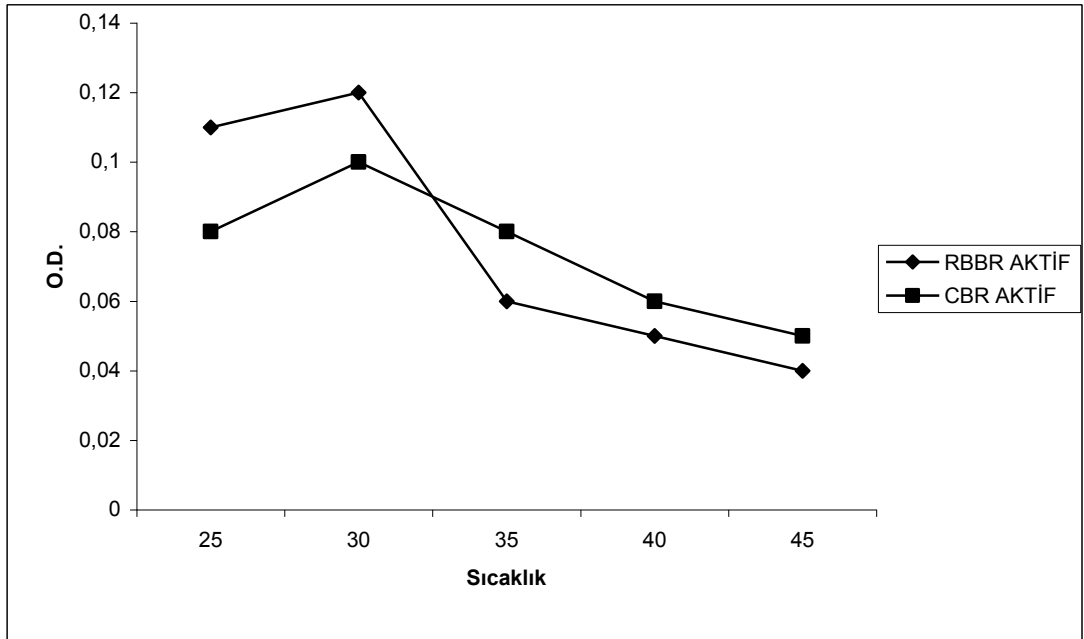
Şekil 3.6. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif *D.viridis* ile renk giderimine pH'ın etkisi (Sıcaklık= 25 °C, başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, çalkalama hızı=100 rpm).

3.1.3. Optimum Sıcaklığın Saptanması

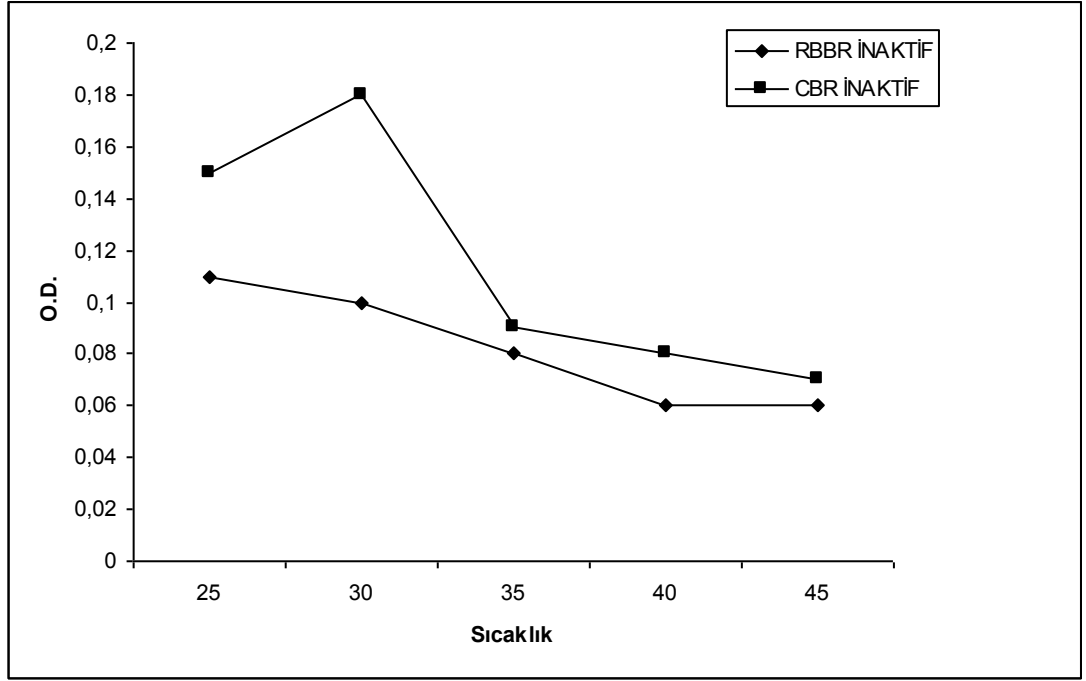
Boş küre, tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *D. viridis*' in Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red' in renk giderimine farklı sıcaklıkların etkisi araştırılmıştır. Her iki boya için de en uygun sıcaklığın 25 °C olduğu tespit edilmiştir. Spektrofotometre ile yapılan ölçümlerden elde edilen sonuçlar Şekil 3.7, Şekil 3.8 ve Şekil 3.9' da verilmiştir.



Şekil 3.7. CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine sıcaklığın etkisi (başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm).



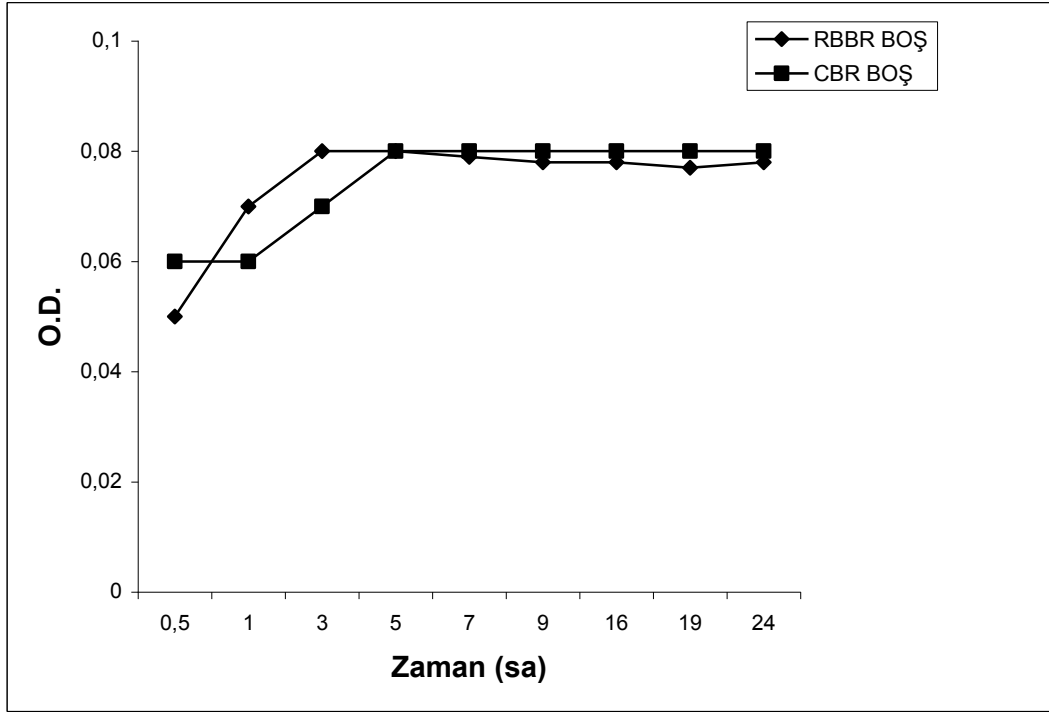
Şekil 3.8. CBR ve RBBR için tutuklanmış aktif *D.viridis* ile renk giderimine sıcaklığın etkisi (başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm).



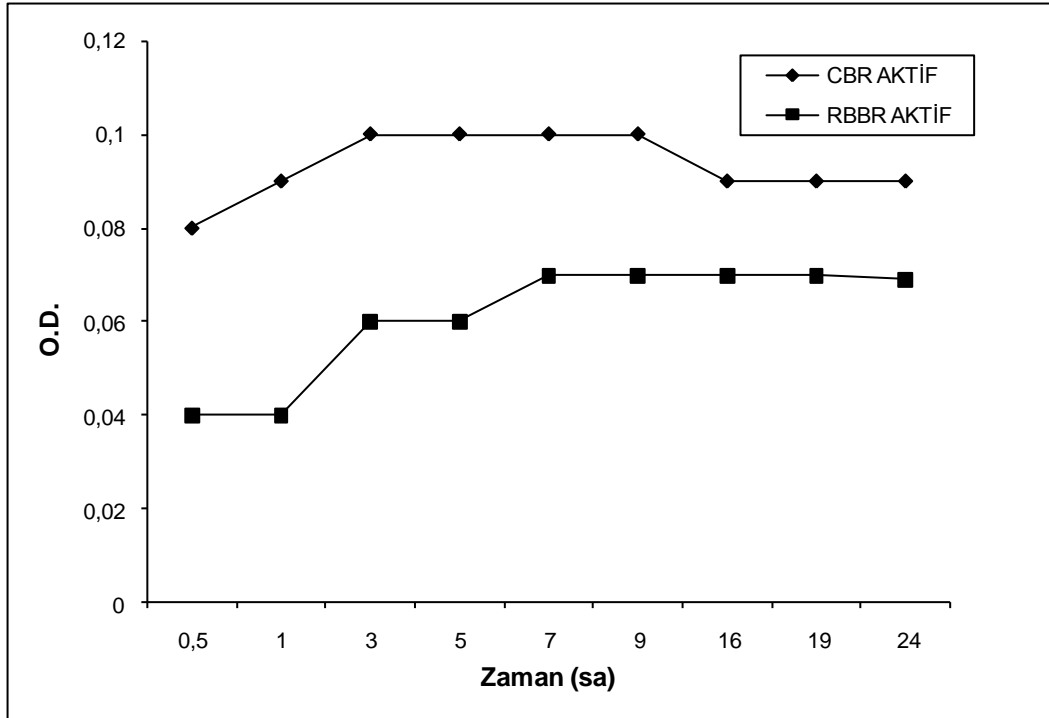
Şekil 3.9. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif *D.viridis* ile renk giderimine sıcaklığın etkisi (başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm)

3.1.4. İnkübasyon Süresinin Renk Giderimine Etkisinin Saptanması

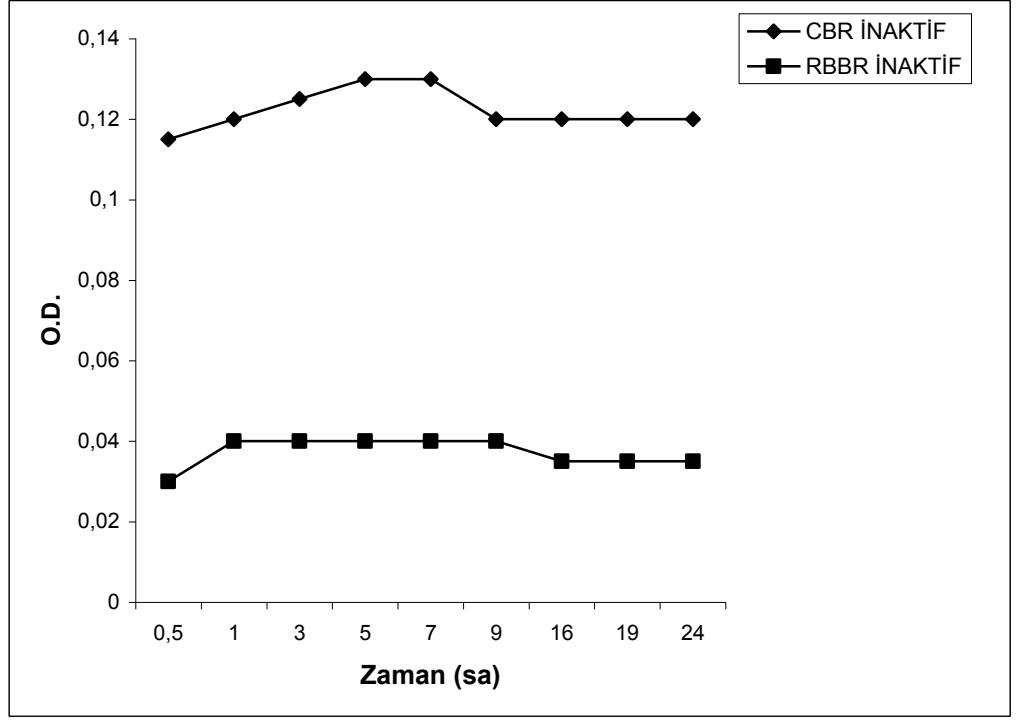
Boş küre, tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *D. viridis*' in Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red' in renk giderimine inkübasyon süresinin etkisi araştırılmıştır. Spektrofotometre ile yapılan ölçümlerden elde edilen sonuçlar Şekil 3.10, Şekil 3. 11 ve Şekil 3.12' de verilmiştir.



Şekil 3.10.CBR ve RBBR için boş aljinat küreleri ile renk giderimine zamanın etkisi (Sıcaklık= 25 °C, başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm).



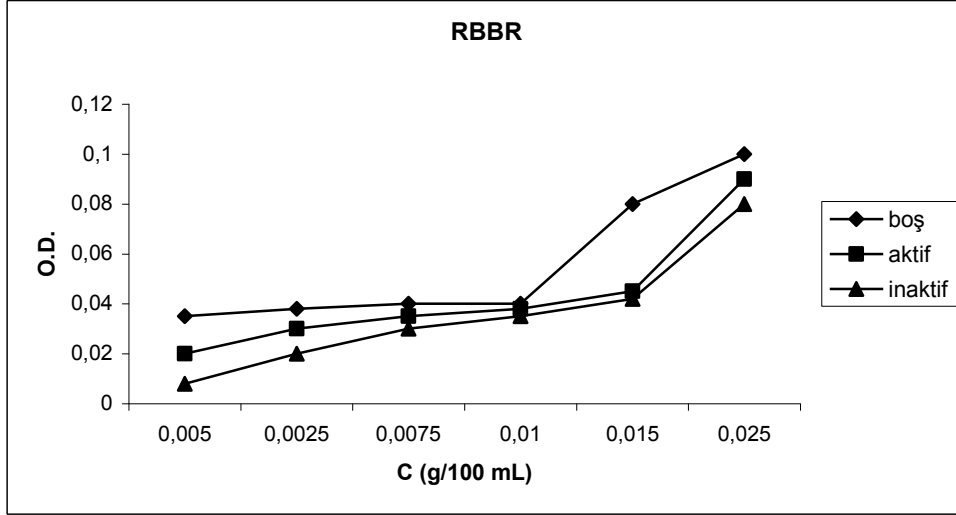
Şekil 3.11. CBR ve RBBR için tutuklanmış aktif *D.viridis* ile renk giderimine zamanın etkisi (Sıcaklık= 25 °C, başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm)



Şekil 3.12. CBR ve RBBR için tutuklanmış inaktif *D.viridis* ile renk giderimine zamanın etkisi (Sıcaklık= 25 °C, başlangıç boya konsantrasyonları= 0.015 g /100 mL, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm)

3.1.5. RBBR Gideriminin Karşılaştırılması

Boş, tutuklanmış aktif ve inaktif *D.viridis* ile sonuçları değişen konsantrasyonlarda RBBR gideriminin, spektrofotometrik sonuçları karşılaştırılmalı olarak Şekil 3.13'te verilmiştir.

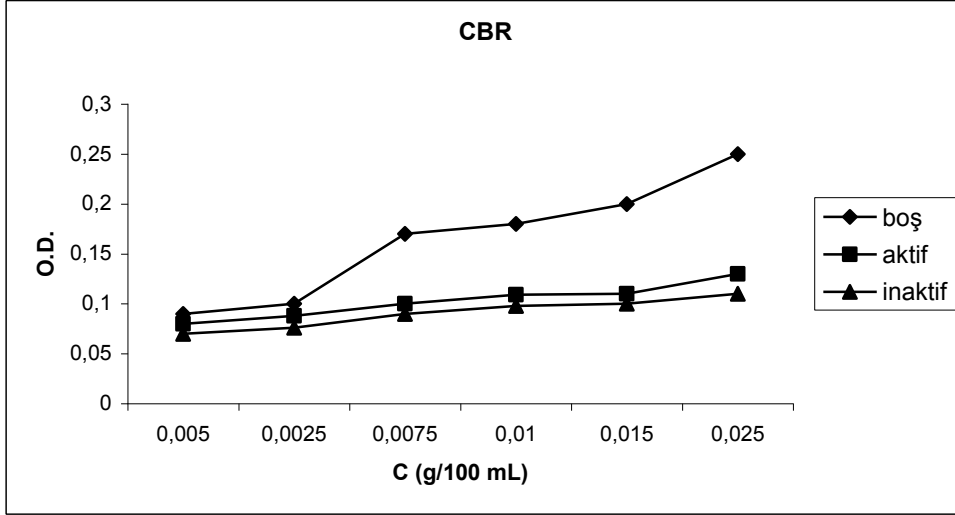


Şekil 3.13. Değişen konsantrasyonlarda boş, tutuklanmış aktif ve inaktif *D.viridis* ile RBBR gideriminin karşılaştırılması

(Sıcaklık= 25 °C, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm)

3.1.6. CBR Gideriminin Karşılaştırılması

Boş, tutuklanmış aktif ve inaktif *D.viridis* ile sonuçları değişen konsantrasyonlarda CBR gideriminin, spektrofotometrik sonuçları Şekil3.14'te karşılaştırılmalı olarak verilmiştir.



Şekil 3.14. Değişen konsantrasyonlarda boş, tutuklanmış aktif ve inaktif *D.viridis* ile CBR gideriminin karşılaştırılması

(Sıcaklık= 25 °C, pH= 2.0, çalkalama hızı=100 rpm)

4.TARTIŞMA VE SONUÇ

Dünyada endüstriyel gelişmeye bağlı olarak toksik ağır metallerden ve özellikle tekstil endüstrisinde kullanılan boyar madde atık sularından kaynaklanan çevresel kirlenme son yıllarda önemli bir problem oluşturmaktadır. En önemli kirleticilerden biri olan ağır metallerin eser miktarı enzimatik reaksiyonların kofaktörü olarak önemlidir, fakat yüksek miktarları canlı organizmalar için aşırı derecede toksik sonuç verir ve metabolik reaksiyonları yavaşlatabilir. Diğer bir kirleticisi olan tekstil boyar maddeler ise sularda oluşturdukları bulanıklık nedeniyle canlıların yaşamını tehdit eder. Bu nedenle arıtılabilirliklerinin araştırılması büyük önem taşımaktadır⁽⁵⁰⁾. Biyolojik arıtım yöntemleri kapsamında mikroorganizmaları kullanarak ağır metallerin biyolojik adsorpsiyonu ve renk giderimi, sadece bilimsel yenilik açısından değil, bunun yanında endüstrideki potansiyel uygulanırlığı açısından da son yıllarda büyük ilgi görmeye başlamıştır.

İlk olarak radyoaktif elementlerin sulu ortamda mikroorganizmalar tarafından doğrudan adsorplanabildiğine dikkat çekilerek, bu özelliğin mikroorganizmaların yaşam fonksiyonlarından bağımsız olduğu belirtilmiştir^(51,52). *Saccharomyces cerevisiae*'nin uranyum adsorpsiyonu üzerine pH, sıcaklık ve ortamda bulunan diğer anyon ve katyonların derişimlerinin etkisini incelemişlerdir. *Chlorella vulgaris*'e metal iyonlarının farklı pH değerlerinde seçici olarak bağlandığını gözlemlemişlerdir⁽⁵³⁾. Benzer çalışmalarda ölü veya canlı hücrelerin metal adsorpsiyon kapasiteleri karşılaştırılmış, çoğu kez ölü durumdaki mikroorganizmanın daha yüksek adsorplama kapasitesine sahip olduğu gözlenmiş ve buna neden olarak ölü hücre yüzeyinin yapısındaki değişiklikler gösterilmiştir.

Günümüzde, bilim adamları arıtım için kullanılan klasik yöntemlerin ekonomik ve pratik olmadığını, en ucuz ve etkili arıtma yönteminin mikrobiyal biyokütle kullanımıyla gerçekleştiğini ileri sürmüşler ve ağır metallerin seyreltik solüsyonlardan biyolojik materyallerle alınmasını amaçlayan bu teknolojiyi biyosorpsiyon olarak tanımlamışlardır. Biyosorpsiyon ile metallerin ayrılması, hücre duvarı ile metal arasındaki etkileşimin sonucudur. Metal iyonları hücre yüzeyindeki reaksiyon alanları (hücre duvarındaki proteinlerin fonksiyonel gruplarına ve peptid bağları) ile kompleks yaparak adsorblanabildikleri gibi bazı mikroorganizmalar hücrelerin dış zarlarından uzanan polimerler sentezleyerek çözeltiden metal iyonlarını bağlayabilirler⁽⁵⁴⁾. Cyanobacteria (*Spirulina*, *Synechococcus*, *Aphanoteche*, *Microcystis* vb.), *Bacillus*, *Citrobacter*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Saccharomyces* ve *Candida* gibi birçok mikroorganizma hayat döngüleri içerisinde ekzopolimer üretebilme yeteneğine sahip canlılar olup, ürettikleri bu ekzopolimer yapı ile mikrobiyal biyofilmleri meydana getirebilirler. Birçok ağır metal de bu anyonik ekzopolimerlere karşı yüksek oranda afinite gösterir⁽⁵⁵⁾. Bugüne kadar yüksek metal bağlama kapasitelerinden dolayı bakteriler, mayalar, küfler, tatlı su ve deniz algleri biyosorbent olarak kullanılmıştır. Ancak, metallerin biyosorpsiyonunda alg ve küfler, daha geniş yüzey alanına sahip olduklarından dolayı bakterilere göre daha etkili biyolojik materyaller olarak belirlenmiştir⁽⁵⁴⁾. Bu nedenle çalışmamızda Chlorophyta familyasından yeşil bir alg olan *D. viridis* kullanılması tercih edilmiştir.

Son yıllarda, ağır metal kirlenmesi kadar önem arz eden bir diğer kirlilik ise renk kirliliğidir. Şu an için ülkemizde uygulanan Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği'nde renk ile ilgili bir parametre bulunmamasına rağmen, Avrupa Birliği Çevre Yasaları kriterleri göz önüne alındığında renk, özellikle tekstil endüstrisi için bertaraf edilmesi zor bir parametre haline gelmektedir. Renkli organik bileşikler atık suyun organik

yük bakımından genellikle az bir miktarını oluşturmaya rağmen ortama renk vermeleri bunları estetik olarak kabul edilmez kalmaktadır.

Renk, atık suya bakıldığında saptanabilen ilk kontaminanttır ve su yataklarına verilmeden önce uzaklaştırılması gerekmektedir. Alıcı sulara verilen renkli atık sular su ortamındaki ışık geçirgenliğini azaltır ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkiler.

Renk giderim prosesi ekolojik açıdan önemlidir⁽⁵⁶⁾. Tekstil boyalarının kimyası geniş bir yelpazede değişiklik gösterdiği için, mikroorganizmalarla olan etkileşimler boyanın ve mikrobiyal kütlelerin spesifik kimyasına dayanmaktadır⁽⁵⁷⁾. Bu nedenle, kullanılan mikroorganizmanın cinsine ve boyaya bağlı olarak farklı bağlanma hızları ve kapasiteleri söz konusudur⁽⁵⁸⁾.

Bugüne kadar renk giderimi için genelde fizikokimyasal yöntemler kullanılmıştır. Fakat bu işlemlerin maliyetlerinin yüksek oluşu ve bazı boyalar için uygun olmaması, alternatif yöntemlere ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir. Boyalar genelde kompleks aromatik yapıda olduklarından kimyasal arıtımları oldukça zordur. Bu yüzden araştırmacılar alternatif yöntemlerden biyopsiyonla renk giderimi üzerinde durmaktadırlar.

Çalışmamızda reaktif bir boya olan Remazol Brilliant Blue R ve Cibacron Brilliant Red' in gideriminde *D. viridis*' in biyosorbent özelliği araştırılmıştır. Bu çalışmada her iki boyanın da en uygun renk giderim koşulları ve tutuklamanın kullanılabilirliği ortaya konmuştur. Elde edilen verilere göre, *D. viridis* tarafından renk gideriminde her iki boya için de en uygun pH, *Chlorella vulgaris* ⁽²¹⁾ ve *Scenedesmus quadricauda* ⁽²²⁾ ile yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi uygun pH 2.0 olarak tespit edilmiştir. Boya konsantrasyonu olarak ta en yüksek renk giderimi

hem Remazol Brilliant Blue R, hem de Cibacron Brilliant Red için 0.015 g/ 100 ml olarak bulunmuştur. Şu an için ülkemizde uygulanan Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği'nde renk ile ilgili bir parametre bulunmadığı ve Avrupa Birliği Çevre Yasaları kriterleri göz önüne alındığında, bu konsantrasyondaki bir atık suyun arıtımında çalışmamızda kullanılan bisorbent ne kadar etkili olduğu görülmektedir.

Biyosorpsiyonda sıcaklık pH kadar etkili olmasada adsorpsiyonu etkileyen önemli bir parametredir. Çalışmamızda denenen iki boya için de 25-30°C sıcaklıklarda daha yüksek adsorpsiyon elde edilmiştir. Bu sonuçta bize boyaların mikroalge adsorpsiyonunun fiziksel olduğunu göstermektedir. Bu olay tersinirdir. Bu adsorpsiyon türünde boya ile hücre yüzeyindeki bileşenler arasında zayıf bağlar mevcuttur. Sıcaklık artışıyla bu bağlar kopar. Bu olay tutuklanmış materyalde daha geç olur. Birçok araştırmacı atıksuların arıtılmasında kuru hücrelere nazaran tutuklanmış biyolojik materyal kullanılması gerektiğini belirtmişler ve canlı biyosorbentler için tutuklamanın kirleticilere toleransı arttırdığını vurgulamışlardır⁽⁵⁹⁻⁶¹⁾.

Sorpsiyonun dengeye ulaştığı zaman ve mikroalglerin miktarları biyosorpsiyon kinetiği açısından önem taşımaktadır. Biyosorpsiyon iki aşama da incelenebilir. Birincisi, mikroorganizma ile kirletici arasında kısa süreli dengenin kurulduğu fiziksel (iyon değişimi) adsorpsiyon; ikincisi metabolik aktiviteye bağlı kimyasal adsorpsiyondur ve bu işlem daha yavaştır (İleri, 2000). Buna göre, tutuklanmış formdaki aktif ve inaktif suşlarımızda her iki boya için dengenin sağlandığı zaman 3 ile 7. saatler arası tespit edilmiştir. Tutuklanmış biyokütle miktarları ise 0,001 gr (tek bir aljinat küresi içinde bulunan mikroorganizma miktarı) olarak bulunmuştur. Sonuç olarak tutuklanmış canlı *D. viridis* içeren aljinat kürelerinin biyosorpsiyon kapasiteleri, ısı ile inaktive edilmiş *D. viridis*' e kıyasla

daha düşük tespit edilmiştir.

Mikroorganizmaların tutuklanması günümüzde biyoteknolojide en ilgi çeken uygulamalardan birisidir. Bu uygulama ile mikroorganizmanın uzun süreli muhafazası ve tekrarlı kullanımı mümkün olabilmektedir. Farklı tutuklama teknikleri arasında kalsiyum ve sodyum aljinat matrisi en yaygın kullanımlardan biridir. Diğer tutuklama materyalleri ile karşılaştırıldığında, kalsiyum ve sodyum aljinat mikroorganizmanın büyümesinde olumsuz çok az etkiye sahip olup toksik özellik göstermemektedir. Bunun yanısıra, suda çözünebilen doğal bir polimer olması ve kalsiyum içerisinde hidrojel oluşturabilmesi nedeniyle mikroorganizmaların ve enzimlerin tutuklanmasında tercih edilmektedir. Çalışmamızda tutuklanmış hücreler ile yüksek renk giderim değerlerine ulaşılmış olması, tutuklama materyalinin bu algler için uygun olduğunu ortaya koymaktadır. Tutuklanmış hücreler kullanmanın en önemli avantajı, hücrelerin tekrar tekrar kullanılabilmesi ve yöntemin ekonomik olmasıdır. Sonuç olarak, klasik arıtım yöntemlerine alternatif bir yöntem olan biyosorpsiyonla metal arıtımı için *D. viridis* suşunun aljinatla tutuklanmış formları iyi bir biyosorbenttir ve toksik olmayan bu yeşil alg, atık sulardan toksik metallerin uzaklaştırılmasında güvenli bir biyofiltre olarak değerlendirilebilir.

KAYNAKLAR

1. M. Banat, P. Nigam, D. Singh and R. Marchant, *Bioresource Technology*, **58**, 217-227(1996).
2. S. Ramehandani, M Das and S.K. Khanna, *Fd Chem. Toxic*, **32**(6):559-563(1994).
3. T. L. Hu and S. C. Wu, *Bioresource Technology*, **77**:93-95(2001).
4. Ö. Yeşilada, *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **11**: 601-602(1995).
5. K. Kök, I. Atıksu Sempozyumu, Kayseri, 96-101(1998).
6. Anonim, Çevre Sorunları, MTA Enstitüsü Yayınları, Ankara, 39-56 (1980).
7. A. Temiz, Genel Mikrobiyoloji Uygulama Teknikleri, Şafak Matbaacılık, Ankara, 86-89(1994).
8. T. Panswad, W. Luangdilok, *Wat. Res.*, **34**(17), 4277-4184(2000).
9. D. A. Oxspring, G. McMullan, W. Franklyn and R. Merchant, *Biotechnology Letters*, **18**(5), 527-530(1996).
10. C. M. Carliell, S. J. Barclay, N. Naidoo, C. A. Buckley, D.A. Mulholland and E. Senior, *Water SA*, **21**(1), 61-69(1995).
11. S. Chinwetkitvanich, M. Tuntoolvest and T. Panswad, *Wat. Res.*, **34**(8), 2223-2232(2000).
12. İ. Başer, Y. İnancı, Boyar Madde Kimyası, Marmara Üniversitesi, Teknik Eğitim Fak. Yayın No:2, İstanbul, 47-52, 103-105(1990).
13. A:B:M, Helal Udin, A.N.A. Sujari, M. A. M. Nawi, *Malasian Journal of Chemistry*, **5**(1): 34-43(2003).
14. K. T. Chung, S. J. R. Stevens, *Environ. Toxic. Chem.*, 2121-2132(1993).

15. J. S. Knapp, P. S. Newby, L. P. Reece, Enzyme and Microbial Technology, **17**, 664-668(1995).
16. L. Metcalf, H. P. Eddy, Wastewater Engineering, 3rd Ed. Mc Graw Hill, N. Y., 48-126(1991).
17. D. W. Sundstrom, H. E. Klei, Wastewater Treatment, Prentice Hall., Inc. U. S. A.(1979).
18. J. E. Zajic, Water Pollution, Marcel Dekker Inc., 389p(1971).
19. Y. Sađ, Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Giderilmesi ve Geri kazanılması için En Uygun Biyosorbent Türünün Seçilmesi ve Değişik Reaktör sistemlerin Matematiksel İncelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara(1993).
20. Z. Aksu, Atık Sulardaki Ağır Metal İyonların Yeşil Alglerden *Chlorella vulgaris*' e Adsorpsiyonunun Kesikli Düzendeki Karıştırmalı ve Akışkan Yatak Tepkime Kaplarında İncelenmesi: Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara(1988).
21. Z. Aksu, T. Kutsal, Environ. Technol., **11**, 979-987(1990).
22. M. Tsezos, B. Volesky, Biotechnol. Bioeng., **23**, 583-604(1981).
23. Y. P. Ting, F. Lawson and I. G. Prince, Biotechnol. Bioeng., **37**, 445-455(1991).
24. I. E. Gönenç, Endüstriyel Atıksuların Ön Arıtması, Su Kirlenmesi Araştırmaları, Türk Milli Komitesi Teknoloji İletimi Semineri, No:1, İstanbul sanayi Odası, 16-19,1991.
25. W. J. Clark, W. Viessman and M. J. Hanmer, Water Supply and Pollution Control, 2nd ed., International Textbook company, 285-566(1971).
26. Z. Altuner, Tohumuz Bitkiler Sistematığı, I. Cilt, Gaziosmanpaşa Ün. Fen

- Ed. Fak. yayınları No:2, 194 sayfa(1994).
27. S. Cirik, Ş. Gökpınar, Plankton Bilgisi ve Kültürü, Ders kitabı, Ege Üniversitesi Basımevi, 274 sayfa, Bornova/İzmir(1993).
 28. M. Borcaklı, Laboratuvarda Mikroalg (*Scenedesmus obligus*) yetiştirme denemeleri, TÜBİTAK, Proje No: 05 04 01 8403, Marmara Bilimsel Araştırma Enstitüsü Beslenme ve Gıda Teknolojisi Bölümü, 4-36(1986).
 29. C. Johansson, *Scenedesmus quadricauda'nin* kültürü, Kimyasal Bileşimi ve Protein Niteliği Üzerinde Çalışmalar, Doçentlik tezi, İstanbul Tıp Fak., Tropikal Hastalıklar ve Parazitoloji Kürsüsü Yayını, 138(1978).
 30. N. P. Massyuk, Morphology, Taxonomy, Ecology and Geographic Distribution of the Genus *Dunaliella Teod* and Prospects for its Potential Utilization, Naukova Dumka, Kiev(1973).
 31. B. Z. Ginzburg, M. Ginzburg, British Phycological Journal, **20**, 277-283(1985).
 32. A. Zimiri, Y. Wax, B. Z. Ginzburg, Plant Cell and Environment, **7**, 229-237(1984).
 33. G. M. Smith, Marine Algae of the Monterey Peninsula California, 2nd Edition, pp.8, Stanford University Press, California(1969).
 34. S. Golubic, Halophily and Halotolerance in Cyanophytes, Origins of life, **10**, 169-183(1980).
 35. G. W. Prescott, How to know the Fresh Algae, W. M. C. Brown Company Publishers, pp. 348, Iowa(1970).
 36. H. C. Bold, M. J. Wynne, Introduction to the Algae, Prentice Hall, INC., Englewood Cliffs, pp. 720, New Jersey(1985).
 37. A. Ben-Amotz, M. Avron, Plant Physiology, **51**, 875-878(1973).

38. H. T. Montoya, A. G. Olivera, *Hydrobiologia*, **267**, 155-161(1993).
39. A. Ben-Amotz, A. Katatz, M. Avron, *J. Phycol.*, **18**,529-537(1982).
40. A. Ben-Amotz, M. Avron, The Potential Use of *Dunaliella* for the Production of Glycerol, -carotene and High Protein Feed. In *Biosaline Research, A Look to the Future*, eds. A.San Pietro. Plenum Publishing Corporation, 207-214, New York(1982).
41. M. A. Borowitzka, L. J. Borowitzka, Limits to Growth and Carotenogenesis in Laboratory and Large-scale culture of *Dunaliella salina*, In *Algal Biotechnology*, Eds. T. Stadler, J. Mollion, M-C. Verdus, Y. Karamanos, H. Morvan & Christiaen., D., Elsevier Applied Science Publishers, Barking, pp. 371-382(1988).
42. M. Melkonian, Phylum Chlorophyta, Introduction to the Chlorophyta, *Handbook of Protocista*, Margulis, L, Corliss, O., Melkonian, M. and Chapman, D. J., Eds., Jones and Bartlett publishers, pp. 914, Boston(1990).
43. R. W. Hoshaw, *Arizona Nevada Academy of Science Journal*, 13 Proceeding Supplement, 15(1978)
44. G. E. Fogg, *Algal Cultures and Phytoplankton Ecology*, The University of Wisconsin Press, pp. 91-92, Madison, Milwaukee and London(1965).
45. F. E. Fritsch, *The Structure and Reproduction of the Algae*, Cambridge Press, pp. 110, Cambridge(1935).
46. T. Atıcı, H. Katırcıoğlu, İç Anadolu Bölgesi Tatlı su Rezervlerinden İzole Edilen Mikroalglerin Laboratuvar Ortamlarında Üretilmesi ve Kültür Koleksiyonları, G. Ü. Bilimsel Araştırma Proje Raporu, 1-53(2005).
47. V. Gürgün, A. K. Halkman, *Mikrobiyolojide Sayım Yöntemleri*, Gıda Teknolojisi Derneği Yayın no:7, 2. Baskı, 146 sayfa, Ankara(1990).

48. A. Oren, P. Gurevich, D. A., Anati, E. Barkan, B. Luz, *Hydrobiologia*, **297**, 173-185(1995).
49. İ. Özel, *Planktonoloji*, I. cilt, E.Ü. Fen Fak. Yayınları, No.145,270 sayfa Bornova-İzmir(1992).
50. T. Ölmez, I. Kabdaşlı, O. Tünay, *Tekstil Endüstrisi Reaktifboya Banyolarında Üzen ile Renk Giderimine Etki Eden Faktörlerin Belirlenmesi*. In: Akça ve ark. (eds), 8. Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Sempozyumu, 18-20 Eylül 2002, İstanbul, 191-197.
51. M. Tsezos, B. Volesky, *Biotechnology and Bioengineering* **23**, 583-604(1981).
52. G. W. Strandberg, S. E. Shumate, J. R. Parrott, *Applied and Environmental Microbiology* **41**(1):237-245(1981).
53. M. Hosea, B. Grene, R. Mcpherson, M. Henzl, M. D. Alexander, W. D. Damall, *Inorganica Chimica Acta* **123**(3): 161-165(1986).
54. R. İleri, *Çevre Biyoteknolojisi*, Değişim Yayınları, Adapazarı, sf. 501-544(2000).
55. T. M. Roane, *Microbial Community Analysis in Heavy Metal Contaminated soils*. In *Proceedings of 9th Annual Conference on Hazardous Waste Remediation*. Edited by L.E. Erickson, D.L. Tellinson, S.c. Grant and J.P. McDonald. Kansas State University, Manhattan, Kans. Pp. 247-259 (1994).
56. O. Kocaer, U. Alkan, *Boyar Madde İçeren Tekstil Atıksularının Arıtım Alternatifleri*. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi* **7**, 1, 47-55(2002).
57. L. Levin, L. Papunutti, F. Forchiassin, *Bioresource Technology* **94**, 2,169-176(2004).

58. A. Elmacı, T. Yonar, N. Özengin, H. Türkoğlu, *Ekoloji*, **14**,55, 24-31(2005).
59. C. R. Ferguson, M. R. Peterson, T. H. Jeffers, Removal of Metal Contaminants from Waste Waters Using Biomass Immobilised in Polysulfone Beads. In: Scheiner. R. J., Doyle, F.M., Kawatras, S.K., (Eds.), *Biotechnology in Minerals And Metal Processing*. Society of Mining Engineers. Littleton. CO. Pp.193-199(1989).
60. M. Tsezos, R. G.L McCready, J. P. Bell,. *Biotechnological Bioengineering* **34**, 10-17(1989).
61. J. L. Zhou, R. J. Kiff, *Journal of Technology and Biotechnology* **52**, 317-330(1991).