

8302

BENZOİK ASİT, P-KREZOL VE 8-HİDROKSİ KİNOLİN GİBİ
BAZI TOKSİK BİLEŞİKLERİN, SULU ORTAMDA OZON VE
BEYAZ KÜF MANTARI "*PHANEROCHAETE CHRYSOSPORIUM*" İLE
PARÇALANMASI

ŞERMİN GÜL

Ç. Ü.
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ

ADANA

ARALIK-1989

T. C.
YÜKSEKÖĞRETİM KURUMLARI
Dokümantasyon Merkezi

Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

Bu çalışma, jürimiz tarafından Kimya Bölümü, Anorganik Kimya Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Hamit Boztepe

Boztepe

Üye

Prof. Dr. Yılmaz Özbay

Yılmaz Özbay

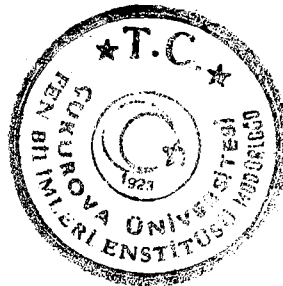
Üye

Doç. Dr. Selahattin Serin

Selahattin Serin

Kod No: 133

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım



Ural Dinç
Prof. Dr. Ural Dinç
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÇİZELGE LİSTESİ.....	I
ŞEKİL LİSTESİ.....	III
ÖZ.....	VI
ABSTRACT.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Ozonun Özellikleri.....	2
1.1.1. Fiziksel Özellikleri.....	2
1.1.2. Ozonun Spektral Karakteristikleri ve Moleküler Yapısı.....	2
1.1.3. Ozonun Kimyasal Yapısı.....	5
1.1.4. Ozonun Toksisitesi.....	6
1.1.5. Ozonun Uygulama Alanları.....	7
1.1.5.1. İçme Suyu Arıtımında Ozon Uygulamaları.....	7
1.1.5.2. Atık Su Arıtımı.....	8
1.1.5.3. Ozonun Dezenfektan Olarak Kullanımı.....	9
1.1.6. Sulu Ortamda Ozonun Etki Mekanizması.....	12
1.1.7. Ozonlama Sistemi.....	13
1.1.7.1. Ozon Üretimi Teorisi.....	14
1.2. Atık Su Arıtımında Beyaz Küf Mantarı <i>Phanerochaete chrysosporium</i> Kullanımı.....	18
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	21
2.1. Ozonla İlgili Çalışmalar.....	21
2.2. Biyolojik Arıtmayla İlgili Çalışmalar.....	22
3. MATERYAL VE METOD.....	24
3.1. Çalışılan Maddeler.....	24
3.2. Ozonlama.....	25
3.2.1. Jeneratörün Kalibrasyonu.....	27
3.2.2. Tepkimeye Giren ve Geri Kalan Ozon Miktarının Tayini.....	27
3.2.3. Ozonlanmış Örneklerde Yapılan Tayinler.....	28
3.2.3.1. Biyolojik Oksijen Gereksinimi (BOD ₅) Tayini.....	28
3.2.3.2. Kimyasal Oksijen Gereksinimi (COD) Tayini.....	29
3.2.3.3. Toplam Organik Karbon (TOC) Tayini.....	29

3.2.3.4.	Ozonlanma Örneklerde Toksikite Testi.....	30
3.3.	Model Bileşiklerin Biyolojik Olarak Parçalanması.....	31
3.3.1.	<i>P. chrysosporium</i> Kültür Ortamı.....	31
3.3.2.	<i>P. chrysosporium</i> 'un Büyüme Miktarının (Kuru Ağırlık) Tayini.....	32
3.3.3.	Glikoz Miktarının Tayini.....	32
3.3.3.1.	HPLC (Yüksek İşlevli Sıvı Kromatografisi).....	33
3.3.3.2.	Heksokinaz-UV Metod.....	34
3.4.	Model Bileşiklerin Ozonlama ve Biyolojik Parçalanma Ürünlerinin Tayini.....	34
4.	ARAŞTIRMA BULGULARI.....	39
4.1.	Model Bileşiklerin Ozonlanması.....	39
4.1.1.	Model Maddenin Parçalanmasının Ozon Dozuna Bağlılığı.....	39
4.1.2.	Model Maddenin Parçalanmasının Sabit Ozon Dozunda pH'a Bağlılığı.....	52
4.1.3.	Benzoik asit, P-krezol ve 8-HK'in Ozonla Reaksiyon Derecesi ve Hız Sabitlerinin Tayini.....	68
4.1.4.	Model Bileşiklerin Ozonla Parçalanma Ürünlerinin Tayini...78	
4.1.5.	Parçalanma Ürünlerinin Oksidasyon Hız Sabitlerinin Belirlenmesi.....	81
4.2.	Model Bileşiklerin Beyaz Küf Mantarı (<i>P. chrysosporium</i>) ile Biyolojik Olarak Parçalanması.....	90
4.2.1.	Benzoik asit, P-krezol ve 8-HK'in Beyaz Küf Mantarıyla Parçalanma Miktarının Tayini.....	91
4.2.2.	Model Bileşiklerin Beyaz Küf Mantarıyla Reaksiyon Derece ve Hız Sabitlerinin Tayini.....	97
4.2.3.	Beyaz Küf Mantarının (<i>P. chrysosporium</i>) Model Bileşikleri İçeren Besi Ortamında Büyümesi Üzerine Organiklerin Toksik Etkilerinin ve Substrat Tüketiminin Tayini.....	99
4.2.4.	Model Bileşiklerin Beyaz Küf Mantarı ile Parçalanma Ürünlerinin Tayini.....	104
5.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	106
5.1.	Model Maddelerin Ozonlanması ve Parçalanma Mekanizması...106	
5.2.	Benzoik asit, P-krezol ve 8-HK'in <i>P. chrysosporium</i> ile Biyolojik Parçalanması ve Mantarın Bu Ortamda Büyüme Hız Sabitlerinin Tayini.....	120

6.	ÖZET.....	128
7.	SUMMARY.....	131
8.	KAYNAKLAR.....	134
	TEŞEKKÜR.....	144
	ÖZGEÇMİŞ.....	145



ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
1.1. Ozonun Mikroorganizmaya Bağlı Olarak Öldürme Etkinliği.....	11
1.2. Ozonun Dezenfeksiyon Etkinliğinin (A) Diğer Oksitleyicilerle Kıyaslanması	11
1.3. <i>P. chrysosporium</i> tarafından parçalanabilen organik bileşikler.....	19
3.1. Benzoik asit için kullanılan çalışma programı.....	36
3.2. P-krezol için kullanılan çalışma programı.....	36
4.1. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak pH değişimi.....	46
4.2. P-krezolün ozon dozuna bağlı olarak pH değişimi.....	46
4.3. 8-HK'in ozon dozuna bağlı olarak pH değişimi.....	47
4.4. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak biyolojik parçalanırlığı (BOD ₅ /COD oranı)'nın ozonlama süresine karşı değişimi.....	51
4.5. P-krezolün ozon dozuna bağlı olarak biyolojik parçalanırlığı (BOD ₅ /COD oranı)'nın ozonlama süresine karşı değişimi.....	51
4.6. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak biyolojik parçalanırlığı (BOD ₅ /COD oranı)'nın ozonlama süresine karşı değişimi.....	52
4.7. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak pH değişimi.....	59
4.8. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak pH değişimi.....	59
4.9. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak pH değişimi.....	60
4.10. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak TOC değişimi ve biyolojik parçalanırlığı (BOD ₅ /COD).....	63
4.11. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak TOC değişimi ve biyolojik parçalanırlığı (BOD ₅ /COD).....	64
4.12. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak TOC değişimi ve biyolojik parçalanırlığı (BOD ₅ /COD).....	66
4.13. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak toksisite değişimi..	67

4.14.	P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak toksisite değişimi.....	67
4.15.	8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak toksisite değişimi.....	68
4.16.	Benzoik asit ve p-krezolün ozonlandıktan sonra Gaz Kromatografisinde Apiezon L kolonu ile belirlenen ozonla parçalanma ürünleri ve alıkonma süreleri.....	79
4.17.	GC/MS kombine sisteminde belirlenen p-krezol ve ozonla parçalanma ürünlerinin gaz kromatografisindeki alıkonma süreleri ve kütle spektrum verileri.....	80
4.18.	8-HK ve ozonla parçalanma ürünlerinin GC'de Porapak Q kolonu ile elde edilen alıkonma süreleri.....	80
4.19.	Model bileşiklerin ve beyaz küf mantarıyla parçalanma ürünlerinin GC'de Porapak Q kolonunda alıkonma süreleri.....	105
5.1.	Benzoik asitin parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi.....	107
5.2.	P-krezolün parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi.....	107
5.3.	8-HK'in parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi.....	108
5.4.	Benzoik asitin sabit ozon dozunda, farklı başlangıç pH değerlerinde parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi.....	110
5.5.	P-krezolün sabit ozon dozunda, farklı başlangıç pH değerlerinde parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi.....	110
5.6.	8-HK'in sabit ozon dozunda, farklı başlangıç değerlerinde parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi.....	111

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil	Sayfa
1.1. Ozonun IR spektrumu.....	3
1.2. Ozonun UV spektrumu.....	4
1.3. Ozonun rezonans gösterimleri.....	4
1.4. Ozonlama Prosesi.....	13
1.5. Ozonun iyonizasyon/deiyonizasyon periyodları sırasında oluşumu.....	16
1.6. Ozon üretiminin güç kaynağı frekansı ile ilişkisi.....	17
3.1. Çalışılan deney düzenegi.....	26
3.2. HPLC sistemi.....	33
4.1. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak parçalanması.....	40
4.2. P-krezolün ozon dozuna bağlı olarak parçalanması.....	41
4.3. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak parçalanması.....	42
4.4. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak ozon tüketimi.....	43
4.5. P-Krezolün ozon dozuna bağlı olarak ozon tüketimi.....	44
4.6. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak ozon tüketimi.....	45
4.7. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak COD değişimi.....	48
4.8. P-krezolün ozon dozuna bağlı olarak COD değişimi.....	49
4.9. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak COD değişimi.....	50
4.10. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak parçalanması.....	53
4.11. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak parçalanması.....	54
4.12. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak parçalanması.....	55
4.13. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak ozon tüketimi.....	56
4.14. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak ozon tüketimi.....	57
4.15. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak ozon tüketimi.....	58
4.16. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak COD değişimi.....	60
4.17. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak COD değişimi.....	61
4.18. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak COD değişimi.....	62

4.19. Benzoik asitin farklı ozon dozlarında, zamana karşı logC grafiği.....	69
4.20. Farklı benzoik asit konsantrasyonlarında, zamana karşı logC grafiği	70
4.21. Benzoik asitin farklı ozon dozlarında, logC'ye karşı logk grafiği.....	71
4.22. Benzoik asitin farklı derişimleri için, logC'ye karşı logk grafiği.....	71
4.23. P-krezolün farklı ozon dozlarında zamana karşı logC değişimi..	72
4.24. Farklı p-krezol konsantrasyonlarında, zamana karşı logC değişimi.....	73
4.25. P-krezolün farklı ozon dozlarında logC'ye karşı logk grafiği..	74
4.26. P-krezolün farklı derişimleri için logC'ye karşı logk grafiği.	75
4.27. 8-HK'nin farklı ozon dozlarında zamana karşı log C değişimi...	75
4.28. 8-HK'nin farklı derişimleri için zamana karşı logC grafiği....	76
4.29. 8-HK'nin farklı ozon dozlarında logC'ye karşı logk grafiği....	77
4.30. 8-HK'nin farklı derişimleri için logC'ye karşı logk grafiği...78	
4.31. P-krezolün ozonla reaksiyon ürünlerinden maleik ve p-hidroksi benzoik asitin, p-krezolün GC ile nicel tayininde belirlenen pikleri.....	82
4.32. P-krezolün ozonlanması sırasında, p-krezol ve parçalanma ürünlerinin konsantrasyon değişimi.....	83
4.33. P-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin, p-krezole göre ozonla oksidasyonu.....	84
4.34. P-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin, p-krezole göre bağlı hızları.....	85
4.35. 8-HK'nin ve ozonla parçalanma ürünlerinin zamana bağlı olarak değişimi.....	87
4.36. Kinolik ve nikotinic asitin, 8-HK'le göre ozonla oksidasyonu..	88
4.37. Kinolik ve nikotinic asitin, 8-HK'ne göre bağlı hızları.....	89
4.38. Benzoik asit için elde edilen kromatogram.....	91
4.39. Farklı konsantrasyonlardaki benzoik asitin beyaz küf mantarı ile parçalanma miktarı.....	93
4.40. P-krezol için elde edilen kromatogram.....	94

- 4.41. Farklı konsantrasyonlardaki p-krezolün beyaz küf mantarı ile parçalanma miktarları.....95
- 4.42. Farklı konsantrasyonlardaki 8-HK'in beyaz küf mantarı ile parçalanma miktarları.....96
- 4.43. Benzoik asitli kültür ortamlarında zamana karşı logC değişimi.97
- 4.44. P-krezollü kültür ortamlarında zamana karşı logC değişimi.....98
- 4.45. 8-HK'li kültür ortamlarında zamana karşı logC değişimi.....99
- 4.46. Benzoik asitin farklı konsantrasyonları için
P. chrysosporium'un büyüme ve glikoz tüketimi.....100
- 4.47. P-krezolün farklı konsantrasyonları için
P. chrysosporium'un büyüme ve glikoz tüketimi.....101
- 4.48. 8-HK'nin farklı konsantrasyonları için
P. chrysosporium'un büyüme ve glikoz tüketimi.....101
- 4.49. Benzoik asitin farklı konsantrasyonlarında
P. chrysosporium'un zamana karşı logC_{k_{max}} grafiği.....102
- 4.50. P-krezolün farklı konsantrasyonlarında
P. chrysosporium'un zamana karşı logC_{k_{max}} grafiği.....103
- 4.51. 8-HK'nin farklı konsantrasyonlarında
P. chrysosporium'un zamana karşı logC_{k_{max}} grafiği.....104

ÖZ

Bu çalışmada, benzoik asit, p-krezol ve 8-hidroksi kinolin gibi toksik bazı model bileşiklerin değişik konsantrasyonlardaki sulu çözeltileri hazırlanarak ozon ile kimyasal, beyaz küf mantarı (*Phanerochaete chrysosporium*) ile biyolojik olarak parçalanması araştırıldı.

Organiklerin ozonla parçalanma miktarları, organiklerin kimyasal yapısına, ortamın pH'na ve ozon dozuna bağlı olmaktadır. Bu model maddelerin ozonla parçalanma miktarlarının ozon dozu ve pH'nın artışıyla arttığı; ozonlanan çözeltilerin COD, TOC, toksisite ve pH değerlerinin azaldığı, BOD₅ ve biyolojik parçalanabilirliklerinin arttığı belirlendi.

Organiklerin ozonla parçalanma mekanizmaları parçalanma ürünlerine bağlı olarak ileri sürüldü. Model bileşiklerin ozonla reaksiyon derecesi ve reaksiyon hız sabitleri belirlendi. Model bileşiklerin ozonlama ve biyolojik parçalama işlemleri sırasında alınan parçalanma ürünlerinin nicel ve nitel analizleri gaz kromatografik ve spektrofotometrik metodlarla yapıldı.

ABSTRACT

In this study, aqueous solutions which have different concentrations of toxic model compounds such as benzoic acid, p-cresol, and 8-hydroxy quinoline were prepared and chemical and biological degradation of these substances were investigated by using ozone and white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* respectively.

The amounts of degradation of organics with ozone depends upon chemical structures of organics, pHs of media and ozone dosages. It was determined that, values of COD, TOC, toxicity and pH of solutions decrease, BOD₅ and biological degradation of them increase with increasing ozone dosage and pH.

The degradation mechanism of organics with ozone were proposed according to degradation products. Rate order and rate constants of reactions of model compounds with ozone were determined. Quantitative and qualitative determinations of degradation products of model compounds in samples which were taken during ozonation and biodegradation processes were performed by gas chromatography and spectrophotometric methods.

1. GİRİŞ

Bu çalışmada; sulu ortamdaki düşük konsantrasyonları bile toksik olabilen organik bileşiklerin, ozon veya aerobik mikroorganizma ile parçalayarak zararsız ürünlere dönüştürülmesi amaçlanmaktadır.

Suda çözülmüş düşük konsantrasyonlardaki organik maddelerin uzaklaştırılması için etkili yöntemlere gereksinim vardır. Fiziksel arıtma yöntemleri ile sulu ortamdan bu tür zararlı maddeleri gidermek mümkün olmamaktadır. Koagülasyon, flotasyon, adsorbsiyon ve ısı ile parçalama gibi yöntemlerle düşük derişimli organiklerden suyu arındırmak hem pratik hem de ekonomik olmayan bir uygulamadır. Suyun dezenfeksiyonunda yaygın olarak kullanılan klor, hipoklorit, klordioksit sudaki eser organiklerle tepkime sonucu daha toksik olabilen klorlu organik bileşikler oluşturarak suyun tad ve kokusunu bozmaktadırlar. Buna karşın ozon sudaki organikleri karbondioksit ve suya kadar parçalamaktadır.

Ozonun içme suyu arıtımında kullanılması; yüksek oksidasyon potansiyeline sahip olması, klora göre daha düşük konsantrasyonlarda her türlü mikroorganizmaya karşı etkili olabilmesi, düşük derişimli organik maddeleri kolayca parçalaması, Fe(II) ve Mn(II) gibi inorganik maddeleri yükseltgeyerek çökelmelerini sağlaması, suyu dezenfekte etmesi ve organik safsızlıkların biyolojik parçalanabilirliklerinin artırılması gibi nedenlerle çok yönlü uygulamalar sağlamaktadır. Bu amaçla model olarak seçilen bazı organik maddelerin sulu ortamda belirli derişimlerde çözeltileri hazırlanarak ozonlanmış ve parçalanmaları araştırılmıştır.

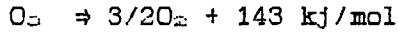
Su arıtımında organik maddeleri uzaklaştırma yöntemlerinden biri de mikroorganizmalar kullanarak biyolojik parçalama ile gidermedir. Bu amaçla belirli konsantrasyonlarda hazırlanan organik maddelerin sulu çözeltileri, beyaz küf mantarı *P. chrysosporium* ile muamele edilerek biyolojik olarak parçanmaları incelendi.

P. chrysosporium, salgıladığı özel enzimlerle farklı yapıda pek çok bileşiği mineralize edebilmektedir.

1.1. Ozonun Özellikleri

1.1.1. Fiziksel Özellikleri

Oksijenin bir allotropu olan ozon renksiz ve kararsız bir gazdır. Yavaş olmakla birlikte kendisini oluşturan oksijene bozunabilir. Ozonun spesifik fiziksel ve kimyasal özelliklerinin sonucu en önemli niteliği molekülünün aşırı miktardaki enerjisidir (RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984):



Ozon oksijen, azot ve hava ile ideal karışımlar oluşturur. Ozon oksijen karışımları %20 ozon konsantrasyonu üzerinde patlayıcıdır. Emniyetli çalışma aralığı %15 ozon konsantrasyonuna kadar olan derişimlerdir. Ancak ticari jeneratörlerde düşük derişimlerde ozon üretildiği için patlama tehlikesi yoktur. Ozon üretimi için hava kullanıldığında %1-3 oranında, saf oksijen kullanıldığında %2-6 oranında ozon üretilir.

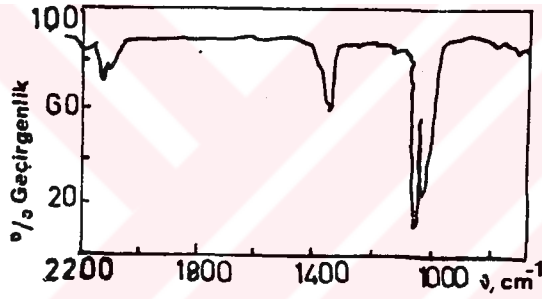
Ozon suda kısmi olarak çözünür. Çözünürlüğü oksijenden 20 kat fazladır. Ozonun değişik çözücülerdeki çözünürlüğü ile ilgili çalışmalar da mevcuttur. Çalışma sonuçlarına göre ozon, sulu tuz çözeltilerinde suya göre daha az çözünmektedir (NEKRASOV ve ark., 1970). H_2SO_4 içindeki ozonun çözünürlüğü asit konsantrasyonu artıkça artmaktadır (RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984).

1.1.2. Ozonun Spektral Karakteristikleri ve Moleküler Yapısı

Ozonun optik aktifliği doğrudan gözlenebilir. Ozon çözeltileri konsantrasyona bağlı olarak açık maviden- siyaha kadar renklere sahiptir. Konsantre ozon çözeltisi mavi-siyahtır. Ozonun mikrodalgadan vakum ultraviyole bölgeye kadar olan bölgedeki spektral karakteristikleri ile ilgili pek çok yayın vardır (YAGDOVSKAYA, 1967; HUDSON, 1974; WEISS, 1977; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984'den).

Araştırmaların çoğu gaz fazıyla ilgilidir. Sıvı fazla ilgili spektral karakteristikler de mevcut olmasına karşın, katı fazla ilgili bir çalışma mevcut değildir.

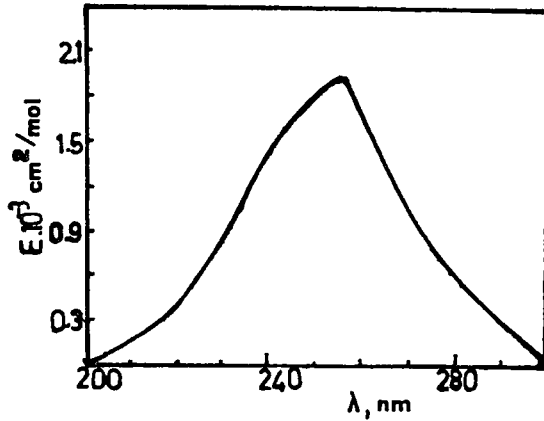
IR spektrumunda $15-1.5 \cdot 10^4 \text{Å}$ dalga boyu aralığında 705, 1043, 1740, 2105, 2800 ve 3050 cm^{-1} bandları görülmüştür. Maksimum şiddetli band 1043cm^{-1} dalga boyunda gözlenmiştir. Şekil 1.1. IR spektrometresi kullanarak kaydedilmiş ozon spektrumunu göstermektedir. Bazı absorpsiyon bandları örneğin 1110cm^{-1} dalga boyundaki band ancak yüksek ayırma gücü olan spektrometrelerde gözlenebilmektedir. Fotometrik IR bölgesinde (10^4Å altında) absorpsiyon zayıftır. 6100 ve 5500 Å arasında daha şiddetli absorpsiyonun olduğu ikinci bir bölge vardır.



Şekil 1.1. Ozonun IR spektrumu

UR-10 spektrometre, NaCl prizma, 100 mm.lik hücre

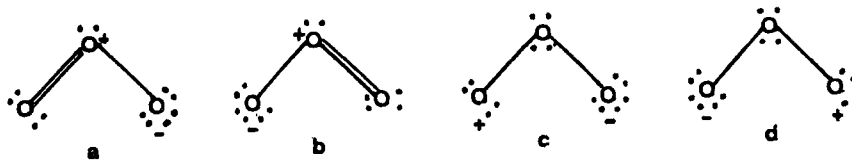
Ultraviyole bölgede 300 ve 220 nm arasında simetrik bir band gözlenmektedir (Şekil 1.2). Bu bandın maksimum şiddeti 255 nm civarındadır.



Şekil 1.2. Ozonun UV spektrumu.

Vakum ultraviyole bölgede ozon spektrumu birkaç yaygın band halinde gözlenmektedir (WEISS, 1977; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984'den). Bu bölgede maksimum absorpsiyonlar 142.5, 145, 133, 121.5, 112 ve 75 nm dalga boylarında gözlenmektedir.

Ozonun spektral özellikleri yapısını aydınlatma açısından önemlidir. Doğrusal olmayan, simetrik, üç atomlu ozon molekülü, H_2O moleküllerinde olduğu gibi spektral verileri kullanarak bağ açıları hesaplamada ve merkez açısının değerini bulmada klasik bir örnektir. Simetrik olmayan molekül için dönme sabitleri A, B ve C_∞ , eylemsizlik momenti, bağ uzunlukları (ρ) ve merkez açısı (α) gibi değerler bulunmuştur (EL'YASHEVICH, 1962). $A=106,530.0 \text{ MHz}$; $B=13,349.1 \text{ MHz}$; $C_\infty=11,834.3 \text{ MHz}$; $\rho_{\text{OO}}=1,278 \pm 0.003 \text{ \AA}$; $\alpha_{\text{OOO}}=116^\circ 50' \pm 30'$. ρ_{OO} bağ uzunlukları O_2 molekülünden daha uzun (1.21 \AA) fakat H_2O_2 molekülünden daha kısadır (1.49 \AA). Ozonun molekül yapısı dört rezonans formu şeklinde verilmektedir (Şekil 1.3):



Şekil 1.3. Ozonun rezonans gösterimleri

1.1.3. Ozonun Kimyasal Özellikleri

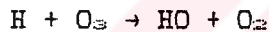
Ozonun kimyasal özelliklerinin en önemlisi kuvvetli oksitleyici olmasıdır. Florürden sonra (-2.7V) oksitleme kapasitesi en yüksek olan (-2.07V) ikinci oksidanttır. .

Ozonun yarı ömrü oda sıcaklığında, havada 14 saat olmasına karşın, sulu çözeltilerde 20-30 dakikadır. Bozunma hızı sıcaklıkla artar.

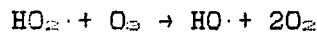
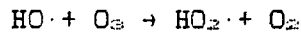
Ozonun asidik çözeltileri oldukça kararlıdır. Bazik çözeltilerinde ise ozon çok çabuk bozunur.

Aktif karbon, geçiş metalleri (Mn, Co, Fe gibi) pek çok oksit (P_2O_5), peroksitler (BaO_2) ve hidroksitler ozon bozunumuna neden olurlar . Çoğu metal yüzeyleri ozonla, metalin en yüksek oksitlenme basamağındaki oksitlerini oluşturarak bir film tabakası ile kaplanırlar (PbO_2 , Ag_2O veya Ag_2O_3 , HgO).

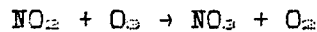
Ozonun atomik hidrojen ile reaksiyonu sonucu hidroksil radikalleri oluşur (NEKRASOV ve ark., 1970):



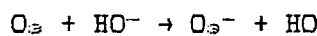
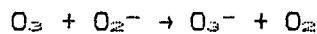
Oksijen atomunda ortaklanmamış elektronları bulunan serbest radikaller, ozonla kolaylıkla reaksiyona girerler:



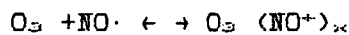
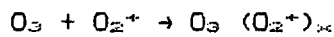
Azot oksitleri, atmosferik ozon dönüşümlerinde önemli rol oynarlar (MC ELROY, 1954; 1977; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984'den):



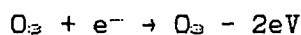
Ozon negatif iyonlarla reaksiyona girme özelliğine sahiptir:



Ozon ayrıca bazı pozitif iyonlarla reaksiyona girmektedir:

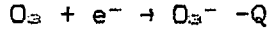


Ozonun elektron afinitesi ölçümler sonucunda



olarak bulunmuştur (ROTHER, 1975; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984'den)

Ozon molekülü bir elektronla birleşirse, enerji açığa çıkar:



Bazı kaynaklara göre bu enerji $Q=279$ kJ/mol., bazılarına göre $Q=184+42$ kJ/mol.dür. O_3^- iyonu 19 elektrona sahiptir, paramanyetiktir ve renklidir (COSGRAVE, 1970; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984'den). O_3^- iyonundaki O-O bağlarının bağ enerjisi 173 kJ/mol.dür ve ozon molekülündeki O-O bağ enerjisinden 1.8 kez daha fazladır. Moleküler oksijen anyonları içinde O_3^- en az kararlısıdır. O-O bağ uzunluğu en kısa olanıdır $\rho_{OO}: 1.99-1.22 \text{ \AA}$ ve merkez açısı 100° dir.

1.1.4. Ozonun Toksisitesi

Ozonun toksik etkileri, ozondan oluşan ve daha aktif olan serbest radikallerin vücut hücrelerinden adrenalın, norpinefrin ve dokuları tahrip etmesine bağlı olduğuna inanılmaktadır.

İnsanlarda önemli olarak solunum organları etkilenmektedir. Maruz kalma süresine ve konsantrasyona bağlı olarak akciğerlerde ödeme neden olur (DARDIN, 1966; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984'den). Göz iritasyonu, baş ağrısı, göğüste baskı hissi, baş dönmesi, kan basıncında düşme, kılcal damarlarda genişleme gözlenmiştir. Ozonun karakteristik kokusunun farkedildiği en düşük konsantrasyon değişik araştırmalara göre 0.0004'den 0.015-0.98 $\mu\text{g/L}$ 'ye kadar değişmektedir (BELEV, 1969). 0.0004-0.002 mg/L O_3 konsantrasyonuna 1-2 saat maruz kalma halinde ağızda ve boğazda kuruluk hissi, dikkat zayıflığı, göğüs ve sırtta ağrılar, uykusuzluk, öksürük ve iki hafta boyunca sürebilen hastalık hissi görülmektedir (PSHEZHETSKII, 1968).

Şehir atmosferinde 0.00098 mg/L konsantrasyonda akut akciğer hastalığı gözlenmemiştir. Ozon toksisitesi, azot oksitleri mevcudiyetinde yaklaşık 20 kez artmaktadır. Bina içlerinde müsaade edilen maksimum doz 0.1 mg/m³ (0.047 ppm)'dir. Araştırmalara göre endüstri merkezleri ve büyük şehirlerde kirlenmiş havanın ozon içeriği de sürekli artmakta, bu da diğer fotooksidantlarla birlikte bitki ve canlı yaşamına toksik olarak etki etmektedir (KAVERT, 1974; BATES, 1974;

KAGAWA, 1975; BUCKLEY, 1975; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984'den).

1.1.5. Ozonun Uygulama Alanları.

1.1.5.1. İçme Suyu Arıtımında Ozon Uygulamaları.

Ozonun kuvvetli bir oksidant olması ve su kaynaklarının oksitlenebilir pek çok safsızlık içermesi nedenleriyle ozon bir çok spesifik uygulamada kullanılabilir (BEAN, 1959; BOLLYKY, 1977; BOLLYKY ve ark., 1984). Başlıca uygulamaları şunlardır:

Bakteriyal dezenfeksiyon (WICKRAMANAYAKE ve ark., 1984).

Virüs inaktivasyonu (BOLLYKY, 1977; BANCROFT ve ark., 1984).

Ağır metallerin oksidasyonu.

çözünmüş haldeki Fe(II) ve Mn(II) oksidasyonu (CROMLEY ve O'CONNOR, 1976; BOUCHER, 1967).

Organik bağlı Fe ve Mn' oksitleyerek, çözünmeyen hidroksitlerini oluşturarak, yumaklaştırma suretiyle giderme.

Renk, koku, tad ve alg giderme.

Pestisit, deterjan, boyar maddeler ve fenol gibi organikleri giderme (HRUBEC ve ark., 1984; STRUIF ve ark., 1978; NIEGOWSKI, 1953).

Siyanürleri giderme.

Süspanse haldeki katıları giderme.

Klor ve kloraminleri giderme (HAAG ve HOIGNE, 1983).

Son yıllarda ise, ozonun çok amaçlı kullanım prosesleri gelişmiştir. Örneğin eğer ozon renk gidermek amacıyla kullanılıyorsa bunun yanında önemli miktarlarda dezenfeksiyonun da gerçekleştiği görülmüştür. Suyun ve atık suyun ozonlanması ile ilgili çalışmaların başlangıcı XIX. yüzyıl ortalarına kadar uzanmaktadır. Ozon uzun yıllar içilebilir suların dezenfeksiyonu amacıyla kullanılmıştır. Ozonun klorlamaya kıyasla su dezenfeksiyonda daha popüler olmasına karşın Amerika ve İngiltere'de benimsenmesi IX. yüzyıl ortalarında gerçekleşmiştir.

1.1.5.2. Atık Su Arıtımı.

Welsbach şirketinin Ozon Proses Bölümü ve Niegowski fenol içeren atıkların ozonlanma ürünlerinin fenolik bileşiklerden farklı yapıda olduklarını bulmuşlardır (NIEGOWSKI, 1956). Tad, koku ve toksisite büyük ölçüde indirgenmektedir. Fenolik atık likörleri ozonu çok hızlı absorblayabilir ve reaksiyona girerler. Fenol ozonla her pH'da oksitlenebilmektedir. Eisenhower, fenolik atıkların arıtılma derecesinin atık sudaki ozon absorpsiyon oranına bağlı olduğunu gözlemiştir (EISENHAUER, 1968). Niegowski, 5.4 ppm'lik fenolü 33 ppm konsantrasyonunda ozonla %96 oranında parçalayabilmistir. Hem Buescher ve Ryckman, hem de Evans ve Ryckman alkil benzen sülfonat içeren atıkların ozonlanması ile ilgili çalışmalarda anyonik ABS konsantrasyonunun azaltıldığını bulmuşlardır, %83 verimli ozon üretimiyle 100 ppm derişimindeki ozon, 5.9 ppm derişimindeki ABS'ı parçalayabilmektedir (BUESCHER ve RYCKMAN, 1961; EVANS ve RYCKMAN, 1963). Toksikite çalışmaları, ozon oksidasyon ürünlerinin toksik olmadığını, kimyasal ve biyolojik oksijen gereksinimlerinin azaldığını göstermiştir (NIEGOWSKI, 1953). Ozonlama çalışmaları, BOD ve COD değerlerindeki azalmaların yanında suspanse katıların da giderildiğini göstermiştir. Kwie, yaptığı çalışmada polimer üretiminden çıkan atıkların COD değerlerinin önemli ölçüde azaldığını ve ozonun doymamış bileşiklere etki ettiğini gözlemiştir (KWIE, 1969). Snider ve Porter, ticari dispers boya atıkları ile yaptıkları çalışmalarda, yaklaşık 1g/L ozonun boyanın rengini gidermede etkili olduğunu görmüşlerdir. Ancak diğer araştırmacıların tersine, optimum ozonlama verimini düşük pH'larda gerçekleştirmişlerdir (SNIDER ve PORTER, 1974). Suzuki, suda çözünebilen polimerlerden polietilen glikol ile yaptığı çalışmada ozon oksidasyon veriminin, ozonlama süresi ve ozon tüketimine bağlı olduğunu bulmuştur (SUZUKI, 1976).

1.1.5.3. Ozonun Dezenfektan Olarak Kullanımı.

Ozon dezenfektan olarak Thirumurthi tarafından gözlemlendiği gibi diğer dezenfektanlara kıyasla çok sayıda avantaja sahiptir. Thirumurthi, ozonun kanalizasyon suyuna bakteriyal etkisinin organik madde oksidasyonuna paralel yürüdüğü sonucuna varmıştır (THIRUMURTHI, 1968). Pek çok çalışma ozonun dezenfeksiyon etkisinin, organik kirlilikle orantılı olduğunu göstermiştir (VENOSA, 1972; HOIGNE ve BADER, 1979). Dahi, organizmaların ozonla inaktivasyonunda hidroksil radikallerinin önemli olduğunu ileri sürmüştür (DAHI, 1976). Dahi'ye göre dezenfeksiyon prosesi üç basamaklıdır.

Ozon kütle transferi; $O_3(g) \rightarrow O_3(aq)$ (1)

Ozon bozunumu ; $O_3(aq) \rightarrow$ Oksidantlar ($OH\cdot$ ve O_2) (2)

Paralel reaksiyonlar;

(a). Oksidantlar + TOC \rightarrow ürünler (3a)

(b). Oksidantlar + bakteri \rightarrow dezenfeksiyon (3b)

Suchkov'a göre 4-5 mg/L ozon dozu nehir suyundaki polivirüslere ve dizanteri mikrobuna (*Shigella dysenteria*) karşı birkaç dakika içinde, %99.7-99.9 oranında etkili olmaktadır (SUCHKOV, 1964). Evsel kaynaklı kanalizasyon suyundaki bakterilerin tamamının inaktivasyonu için ise 50-115 mg/L ozon konsantrasyonu gerekmektedir. Korke, *E.coli*, sporlar, farklı tipteki alg ve protozaların, ozonla inaktivasyonunun klorlanmaya göre daha etkin olduğunu gözlemiştir (KORKE, 1965). Boucher içme suyundaki mikroorganizmanın tamamının yok edilmesi için 0.5 ve 1.5 mg/L arasında ozon dozu gerekli olduğunu önermiştir (BOUCHER, 1967). Paris Saint-Maur Ozon Uygulama bölgelerinde suyun dezenfeksiyonu için ortalama 1.1 ppm ozon dozunun uygulanması ile *E.coli* tamamen, *C.Perfringers* %50 dezenfekte olmaktadır (GUINVOICH, 1959). Lebaut, 1 ppm ozon uygulanması halinde 3-10 dak. içinde suyun sterilize edilebildiğini gözlemiştir (LEBOUT, 1959). Yayımlanmış raporlar ozonun güçlü bir virüs yok edici olduğunu göstermiştir (COIN, 1964; DIAPER, 1968; PERLMAN, 1969). Majumdar ve arkadaşları, hem ozon temas süresinin hem de ozon konsantrasyonunun, poli virüslerin inaktivasyonunda rol oynayan iki önemli faktör olduğunu bulmuşlardır. İnaktivasyon mekanizması için başlangıç konsantrasyonu olan 1.0

ppm'lik sınır değerin altında ve üstündeki derişimler için farklı iki esitlik önerilmiştir (MAJUNDAR ve ark., 1972):

$$Ct=0.10s^{-1.12} ; c<1.0 \text{ mg/L}$$

$$Ct=0.13s^{-0.96} ; c>1.0 \text{ mg/L}$$

C: Sudaki ozon konsantrasyonu, mg/L

t: Temas süresi, dak.

s: Virüs partiküllerinin canlılık oranı

Ozonun bakteri, virüsler ve diğer parazitlere karşı hangi etkin sıcaklık, pH ve ozon konsantrasyonunda etkili olduğunu tesbit etmek için yapılan çalışmalarla ilgili raporlar Amerika Ulusal Akademisinin İçme Suyu ve Sağlık Bilim Raporunun 2.cildinde yayınlanmıştır (BANCROFT ve ark., 1984). Bu rapora göre, dezenfeksiyon amacıyla esit dozlarda kullanılan klorla kıyasla ozon için, daha kısa uygulama süresi gerekmektedir (SCACCIA ve ROSEN, 1977; FAROOQ ve ark., 1977). Ozonun bakteri öldürme hızının, klordan 3125 kez daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ozon ve klor arasındaki öldürme hızındaki büyük farklılık, öldürme mekanizmasının farklılığından kaynaklanmaktadır. Ozon doğrudan hücresel membrana etki eder. Klorun bakteriyi parçalama mekanizmasında ise klor bakterinin hücre duvarına difüze olmalıdır. Bakteri enzimlerinin OCl^- iyonu ile oksidasyonu sonucu bakteri parçalanır (NEBEL ve NEZGOD, 1984). Klorürün, bakteri sitoplazmasını hipoklorik asit formunda etkilemesi uzun zaman isteyen bir prosestir. Normal olarak temas süresi 30-60 dak. olmaktadır. Dezenfekte edici bir maddenin bağıl potansiyeli, öldürme (letaliti) sabiti olarak verilir. Letaliti sabiti, , hem oksidant dozu, hem de oksidant temas süresini kapsayan (çizelge 1.1) bir değerdir ve şu şekilde verilir:

$$A=\ln 100/Ct_{99}$$

C: Geriye kalan oksidant derişimi, mg/L

t_{99} : Mikroorganizmanın %99 oranında yok edilmesi için gerekli süre, dak.

Letaliti sabiti, ozonun bakteristat olarak kullanıldığında değişik klorlu bileşiklerle kıyaslandığında bağıl etkinliğini göstermek için de kullanılır (çizelge 1.2). Bu çizelgeye göre ozon tüm mikroorganizma türlerine karşı en güçlü germisitdir (NEBEL ve NEZGOD, 1984).

Çizelge 1.1. Ozonun mikroorganizmaya bağlı olarak öldürme etkinliği
pH 7; 10-15°C'de

Organizma	Λ	$C_{99,10}$ *
<i>Escherichia Coli</i>	4600	0.001
<i>Streptococcus Fecolis</i>	3000	0.0015
<i>Mycobacterium Tuberculosis</i>	1000	0.05
<i>Polio Virüs</i>	460	0.01
<i>Bacillus Megatherium</i>	150	0.1
<i>Endamoeba Histolytica</i>	50	0.03

* $C_{99,10}$: 10 dakikada %99 yok etme için gerekli konsantrasyon, mg/L

Λ : Germisitlerle kıyaslandığında spesifik letaliti sabiti

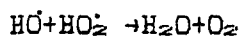
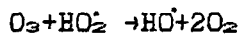
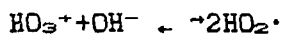
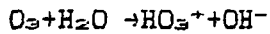
Çizelge 1.2. Ozonun dezenfeksiyon etkinliğinin (Λ) diğer oksitleyicilerle kıyaslanması

Dezenfektan	Enteril bakteri	Virüs	Sporlar	Amoebik kistler
O_3	500	0.5	2	0.5
HOCl şeklinde Cl_2	20	1.0	0.05	0.05
OCl^- şeklinde Cl_2	0.2	0.02	0.0005	0.0005
HN_2Cl şeklinde Cl_2	0.1	0.05	0.02	0.02

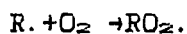
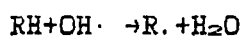
Λ : 5°C'de $(mg/L)^{-1}$

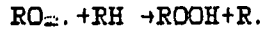
1.1.6. Sulu Ortamda Ozonun Etki Mekanizması.

Ozonun oksitleyici madde olarak hem içme hem de atık su arıtımında kullanımının yanında, organik sentezlerde kullanımı için de prosesler geliştirilmiştir. Su arıtımında çözülmüş maddelerin ozonlanma hızı, sıcaklık ve pH'dan etkilenmektedir. Bu etkenler ozonun kendi bozunma kinetiğini de etkilemektedir. Sotelo ve arkadaşlarının belirttiğine göre bu konuda pek çok çalışma yapılmıştır. Bunlar: ROTHMUND ve BURGSTALLER, 1913; SENNEWALD, 1933; WEISS, 1935; ALDER ve HILL, 1950; STUMM, 1954; KILPATRICK ve ark., 1956; CZAPSKI ve ark., 1956; MERKULOVA ve ark., 1971; HEWES ve DAVISON, 1971; RIZZUTI ve ark., 1976; MAROOKA ve ark., 1978; SULLIVAN ve ROTH, 1980; TERAMOTO ve ark., 1981; FORNI ve ark., 1982; GUROL ve SINGER, 1982; STAEHELIN ve HOIGNE, 1982'dir (SOTELO ve ark., 1987). Forni'nin çalışması pH 10 üzerindeki yüksek pH değerlerinde içme suyunda ozonun bozunma reaksiyonları ile ilgilidir. Gurol ve Singer'in yaptıkları çalışma ise, ozon bozunumunun ozon konsantrasyonuna bağlı olarak 2. dereceden olduğunu göstermektedir ancak bu çalışmayı destekleyecek yeterli mekanizma önerilememiştir. Staelin ve Hoigne'nin çalışması ise, sulu ortamda ozonun bozunması ile oluşan OH. radikalleri ile ilgilidir. Hewes ve Davison, ozonla sulu ortamdaki organikler arasındaki reaksiyonun ozon konsantrasyonuna bağlı olmayıp, ozonun parçalanma ürünlerinin konsantrasyonuna bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Hewes ve Davison'a göre ozonun sulu ortamda bozunması şu şekildedir:

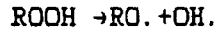
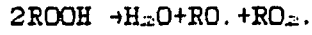


Bu mekanizma sayısız kinetik deneyle ispatlanmıştır. Ozon bozunma ürünleri ve organikler arasındaki reaksiyonun serbest radikallerin organikleri etkilemesi şeklinde olduğu düşünülmüştür.

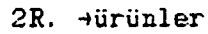
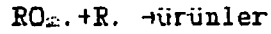
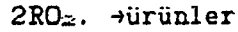




Hidroperoksit bozunumu ise şu şekilde gösterilmiştir:



Reaksiyonun son basamakları ise;

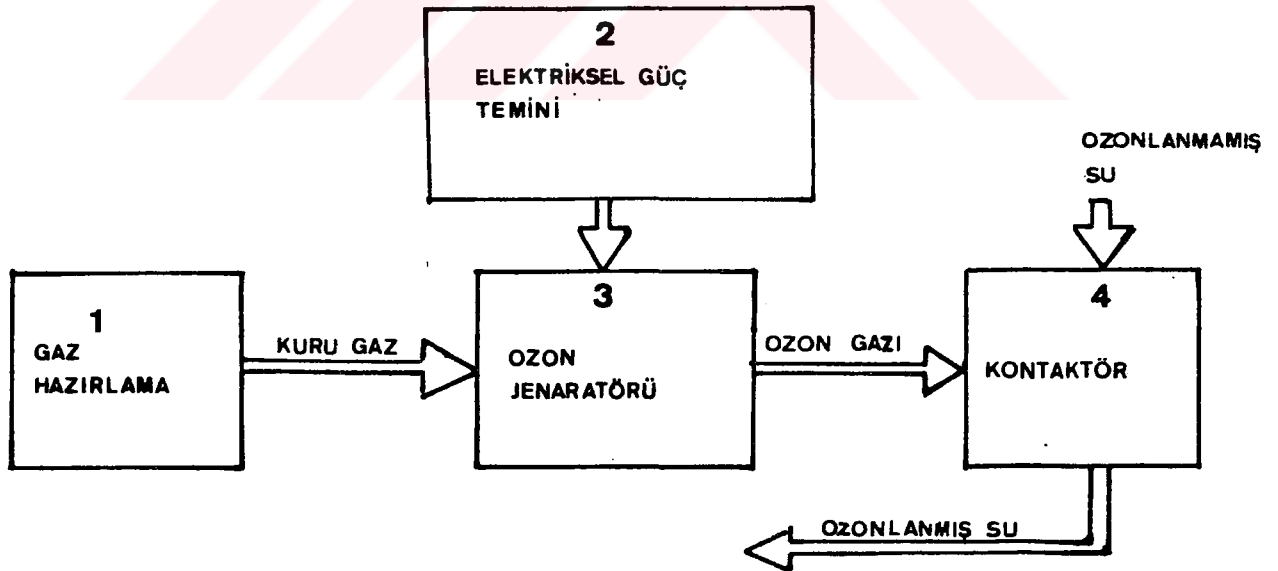


şeklinde verilmektedir.

1.1.7. Ozonlama Sistemi

Ozonlama sistemi dört temel kısma ayrılır: Gaz hazırlama, elektriksel güç temini, ozon üretimi, kontaklama sistemi.

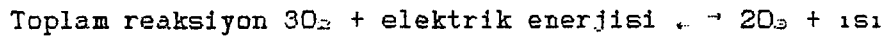
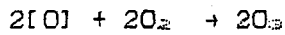
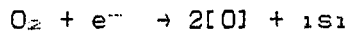
Ozonlama prosesinin temel işlemleri şekil 1.4.'de verilmektedir:



Şekil 1.4. Ozonlama prosesi

1.1.7.1. Ozon Üretimi Teorisi

Herhangi bir ozon üretme elemanı, bir gaz boşluğu ile ayrılmış bir çift elektrodan ve cam gibi izolasyon(dielektrik) tabakasından meydana gelmektedir. Oksijen içeren gaz bu boşluktan geçirilir ve yüksek voltajlı alternatif akım uygulanır. Besleme gazındaki oksijenin bir kısmı ozona çevrilir:



Reaksiyon bir denge reaksiyonudur ve iki yöndeki reaksiyon denge halindedir. Bu da neden düşük oranlarda ozon üretildiğini açıklamaktadır. Oksijen havadan ancak %1-3 konsantrasyonlarında, oksijenden %2-6 konsantrasyonlarında üretilmektedir. Reaksiyonun kritik sıcaklığı 40°C'dir ve bu sıcaklığın üstünde verim çok düşük olur. Ozon jeneratörünü besleyen elektrik enerjisinin %90'ı radyasyon ve ısı olarak tüketildiğinden elektrodların soğutulması önemli olmaktadır. Böylece ozon bozunması minimuma, üretim verimi de maksimuma çıkarılabilir.

Bir ozon jeneratörünün iyonlaştırma potansiyeli, gaz basıncı ve deşarj aralığına bağlıdır.

$$V_i \propto pg$$

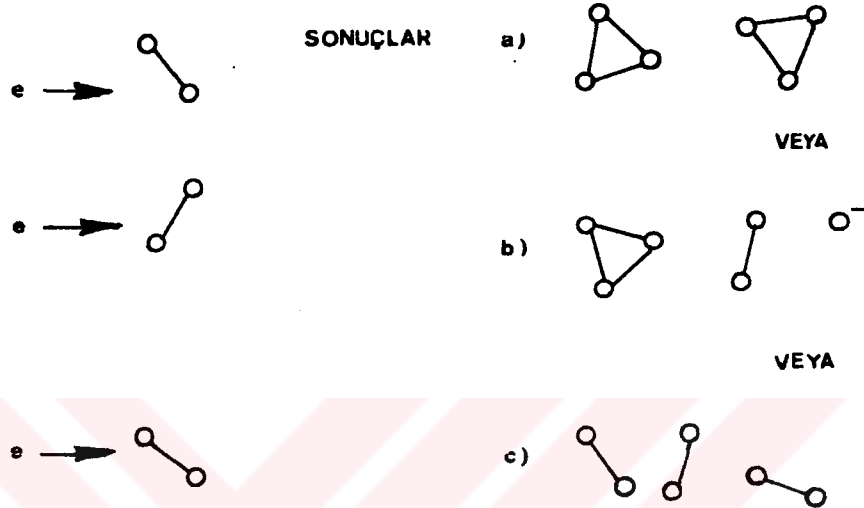
V_i : iyonizasyon voltajı

p : Basınç

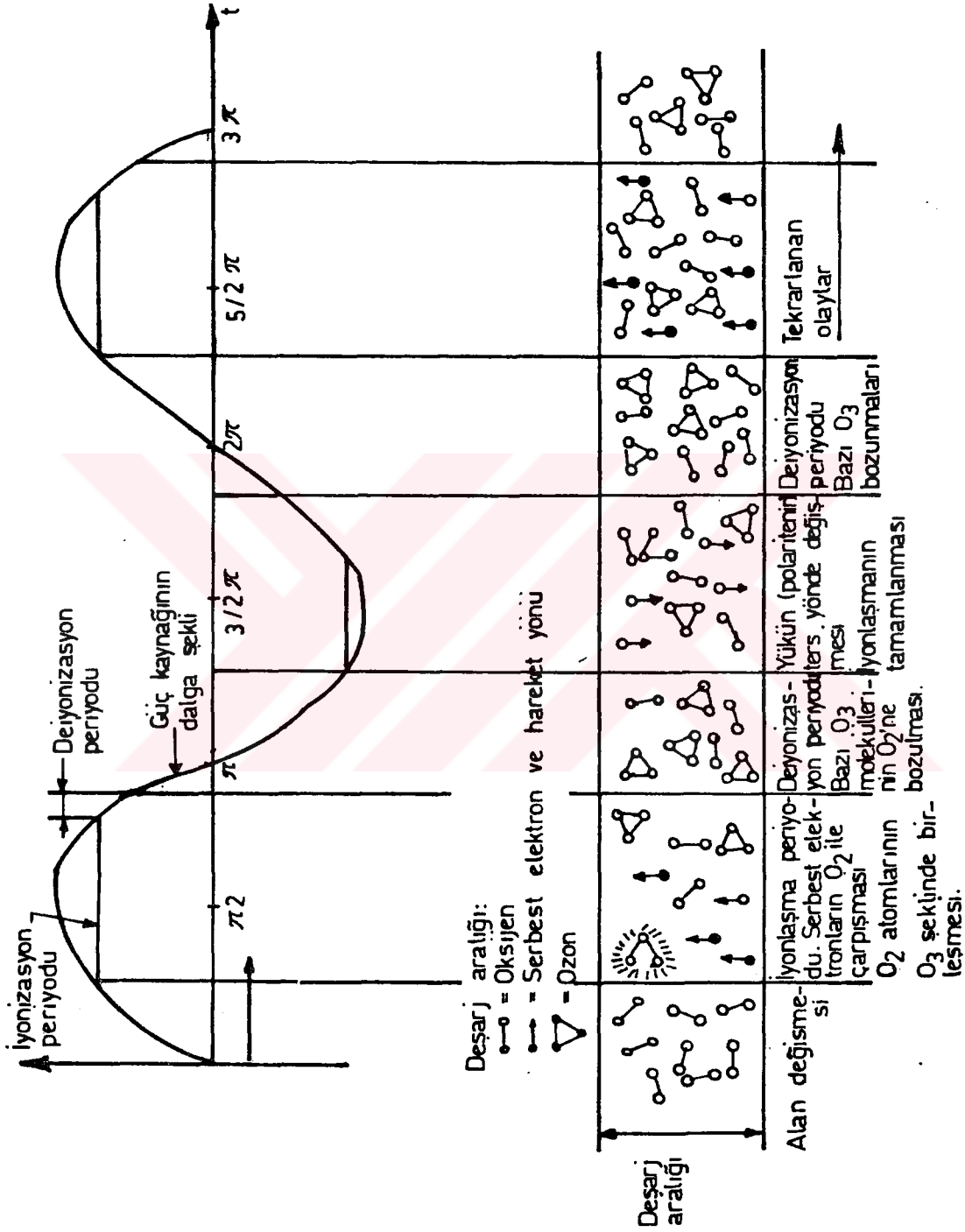
g : Deşarj aralığı

Ozon, oksijen veya havanın jeneratörden geçirilmesiyle üretilir. İyonizasyon sonucu oluşan serbest elektronlar, uygulanan voltaj ve oksijen molekülleriyle çarpışma sonucu hızlandırılır. Besleme gazının yüksek saflıkta olması halinde, oksijen moleküllerinin yoğunluğunun daha büyük olması nedeniyle çarpışmalar daha fazla olur. Uyarılmış elektronlar eğer yeterli enerjiye sahipse, çarpışmada oksijen molekülü oksijen atomlarına ayrılır. Her oksijen atomu bir oksijen molekülü ile birleşerek O_3 veya diğer oksijen atomuyla birleşerek O_2 molekülünü oluşturabilir.

Oksijen molekülü ile elektronlar arasındaki çarpışmalar sonucu olabilecek ihtimaller şunlardır:

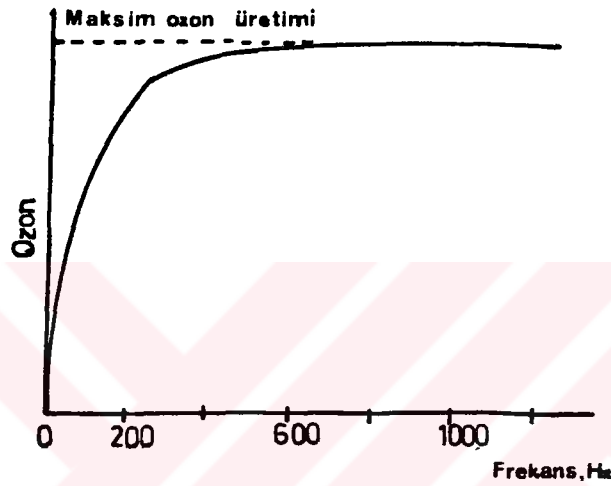


Gaz (hava veya oksijen) sürekli olarak iyonlaşır ve alternatif akım vasıtasıyla hava boşluğunda deiyonize olur. Serbest elektronlar, polarlık ters çevrildikçe bir elektrodan diğerine geçerek, oksijen molekülleriyle çarpışırlar. Uygulanan frekansın artması çarpışma sayısını artırır. İyonlaşma potansiyeli normal olarak 10,000 volt civarındadır; ancak bu değer geniş deşarj aralığı için daha fazla, dar deşarj için daha azdır. Şekil 1.5. deşarj aralığına bağlı olarak aktiviteyi ve ozon oluşumunu göstermektedir.



Şekil 1.5. Ozonun iyonizasyon / deiyonizasyon periyodları sırasında oluşumu.

Silindirik dielektrik tüpleri olan ve iyonlaşma aralığı yaklaşık 3 mm olan bir ozon jeneratörü için ozon üretimi ile güç sağlama frekansı arasındaki ilişki Şekil 1.6'da gösterilmiştir. Böyle bir jeneratör için optimum frekans 600 Hz'dir.



Şekil 1.6. Ozon üretiminin güç kaynağı frekansı ile ilişkisi

Açıkça görülmektedir ki;

- a) Elektrod yüzeyinin birim alanı başına ozon üretimi, voltajın karesi ile değişmektedir. Uygulanan voltaj arttıkça ozon üretimi de artmaktadır.
- b) İyonlaşan havanın elektrodlar arasında kalma süresinin uzun olması ozon üretimini artırır.
- c) Frekans arttıkça, ozon üretim olasılığı da artmaktadır.

1.2. Atık Su Arıtımında Beyaz Küf Mantarı *Phanerochaete chrysosporium* Kullanımı

Mantarlar, bakterilerle birlikte biyosferdeki organik madde çevriminde rol oynayan birinci derecede parçalayıcılardır. Mantar çok hücreli, fotosentetik olmayan, hetotropik mikroorganizmalardandır. Çoğu mantarlar için optimum pH 5.6'dır. Mantarların azot gereksinimleri sınırlıdır. Bakterilerin ihtiyaç duyduklarının yarısı kadar azota ihtiyaç duyarlar. Mantarların düşük pH ve azot sınırlı şartlarda faaliyet gösterebilmeleri, endüstriyel atıkların biyolojik olarak arıtımında ve katı organik atıkların kompostlanmasında önemlerini artırmaktadır.

Phanerochaete chrysosporium, Latince adı *Basidiomycetes* olan mantar sınıfına dahil ve *Sporotrichum pulverulentum* morfolojisindedir. Mantar lifleri olan hifler (*hyphae*) odunsu yapılara nüfuz ederek, lignoselülozik yapıyı parçalama özelliğine sahiptir. Parçalanma sonucunda, odunsu yapı süngerimsi beyaz renkli bir yapıya dönüşür (AGRIOS, 1978). *P. chrysosporium*, biyolojik olarak parçalanamayan çok farklı tipteki organikleri sentezlediği enzimler sayesinde metabolize etme özelliğine sahiptir. Bu enzimlerin başlıcaları: endo-1,4-glukonazlar (ERIKSSON ve PETERSSON, 1975a), ekso-1,4- β -glukosidaz (ERIKSSON ve PETERSSON, 1975b), selebiyoz oksidaz (AYERS ve ERIKSSON, 1978), asidik proteaz'lar (ERIKSON ve PETERSSON, 1982), Mn^{+2} bağlı peroksidazlar (PASZCZYNSKI ve ark., 1985; SCHOEMAKER ve ark., 1985). *P. chrysosporium*'la yapılan çalışmalar; alkil deklorizasyonu (BUMPUS ve ark., 1985a), o-demetilasyon (KERSTEN ve ark., 1985), aromatik halka parçalanması (LEISOLA ve ark., 1985) ve hidroksilasyon (HAEMERLI ve ark., 1986; TIEN ve KIRK, 1985) reaksiyonlarının bu mikroorganizmanın enzimli ortamlarında biyolojik aktivitesi nedeniyle gerçekleştiğini göstermişlerdir. Bu aktivitelerin bazısı, H_2O_2 enzim ürünü ve OH. radikallerine bağlıdır (LARRY ve ark., 1982). *P. chrysosporium* tarafından parçalanabilen organik bileşikler Çizelge 1.3.'de verilmektedir (CRAWFORD, 1981; CHANG ve ark., 1983; LEATHAM ve ark., 1983; ARJMAND ve SANDERMANN, 1985, BUMPUS ve ark., 1985a; EATON, 1985; HAEMERLI ve ark., 1986).

Çizelge 1.3. *P. chrysosporium* tarafından parçalanabilen organik bileşikler.

Aromatik bileşikler:	
Vanilik asit	
Ferulik asit	
2,4-Dihidroksi benzoik asit	
4-Hidroksi-3-metoksi benzoaldehit	
İsovanilik asit	
Siringik asit	
Kurkumin	
4-Hidroksi-3-metoksifenilasetik asit	
7-Hidroksi-4-metilkumarin	
2,6-Dihidroksibenzoik asit	
2'-Hidroksi-3'-metoksiasetofenon	
4'-Hidroksi-3'-metoksiasetofenon	
6,7-Dimetoksikumarin	
7-Hidroksikumarin	
Gentisik asit	
Guayakol	
4-Hidroksi-3-metoksimandelik asit	
Protokatehüik asit	
3',4'-Dihidroksiasetofenon	
Galik asit	
2',3'-Dihidroksi-4'-metoksiasetofenon	
6,7-Dihidroksi-4-metilkumarin	
3,5-Dimetilkatekol	
2',3',4'-Trihidroksiasetofenon	
Piragalol	
Katekol	
3-Metilkatekol	
3,4-Dimetilkatekol	
4-Metilkatekol	
Benzoik asit	

	Asetoguayakon	
	Vanilin	
	Veratril alkol	
	Veratraldehit	
	Vanilil alkol	
	Lignin model bileşikler:	
	Veratrilgliserol- β -(<i>O</i> -metoksifenil)eter	
	Guayakilgliserol- β -koniferil alkol eter	
	Dehidrokoniferil alkol	
	Dehidrodivanilin	
	Polisiklik aromatik bileşikler:	
	Benzo[<i>a</i>]piren	
	Klorlu aromatik bileşikler:	
	4-Klorobenzoik asit	
	Diklorobenzoik asit	
	2,4,6-Triklorofenol	
	6-Klorovanilin	
	Trikloroguayakol	
	5-Klorovanilin	
	4,5,6-Trikloroguayakol	
	Tetrakloroguayakol	
	3-Kloroanilin	
	3,4-Dikloroanilin	
	Polisiklik klorlu aromatik bileşikler:	
	DDT(1,1-bis(4-klorofenil)-2,2,2-trikloroetan)	
	2,3,7,8-Tetraklorodibenzo- <i>p</i> -dioksin	
	3,4,3',4'-Tetraklorobifenil	
	2,4,5,2',4',5'-Heksaklorobifenil	
	Aroklor 1254	
	Aromatik olmayan klorlu bileşikler:	
	1,2,3,4,5,6-Heksaklorosikloheksan(Lindan)	
	Biyopolimerler:	
	Lignin	
	Selüloz	
	Lignin konjuge-3-kloroanilin	
	Lignin konjuge-3,4-Dikloroanilin	

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Ozonla İlgili Çalışmalar

Yapay olarak ilk defa 1785 yılında Hollanda'lı bilim adamı Van Warum'un çalıştığı bir elektrostatik makinesinde gözlenen ozon, ticari jeneratörlerin geliştirilmesiyle içme suyu arıtımında kullanılmaya başlanmıştır.

R.Criegee 1949'da başlattığı çalışmalarıyla, organik bileşiklerin ozonlanma mekanizmasını büyük ölçüde aydınlatmıştır (CRIEEGE, 1975).

Sulu ortamdaki organiklerin ozonlanmasıyla ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır: Ahmed ve Kinney yaptıkları çalışmada hümk maddeleri, organik asitlere kadar parçalamışlardır (AHMED ve KINNEY, 1950). Kinney ve Friedman, ftalik asit ve piren çözeltilerini ozonlamışlar (KINNEY ve FRIEDMAN, 1952); Sturrock ve arkadaşları, fenantren'i sulu ortamda parçalamışlardır (STURROCK ve ark., 1963). Il'Nitsky, Gabovich ve arkadaşları 3,4-benzopirenin parçalanması için farklı ozon dozlarında çalışmışlardır (IL'NITSKY, 1969; GABOVICH ve ark., 1969).

Olefinlerin ozonlanması uzun yıllar çalışılan konulardandır (CRIEEGE, 1975; BAILEY, 1978). Fremey ve Fields, siklik olefinlerin bazik ortamda ozonla parçalanması üzerinde çalışmışlardır (FREMEY ve FIELDS, 1963).

Suda çözünebilen organiklerin ozonlanması ile ilgili çalışmalar içinde fenol en çok çalışılan madde olmuştur (NIEGOWSKI, 1953; RIZZUTI ve ark., 1977; YAMAMOTO ve ark., 1979; CHROSTOWSKI ve ark., 1983; GUROL ve NEKOUINAINI, 1984). Hillis, 14 farklı fenol bileşiğinin pH 4 ile 10 arasında ozonlanması ile çalışmış (HILLIS, 1977); Gilbert, 2-nitro-p-krezol'ü ozonla oksitleyerek halkaya bağlı nitro grubunun nitrata dönüştüğünü belirlemiştir (GILBERT, 1978).

Dobinson, Jürs, Pryde ve arkadaşları alifatik bileşiklerini sulu ortamda ozonlamışlardır (DOBINSON, 1960; JURs, 1966; PRYDE ve ark., 1968).

Sulu ortamda bulunabilecek çeşitli organik maddenin ozonla parçalanması ile ilgili çalışmalarda pek çok mekanizma önerilmiştir (STRUIF ve ark., 1977). Bunlar; Criegee-Mekanizması (REISSAUS ve RUMMEL, 1967; BANDE ve ark., 1970), radikal mekanizması (NAMIE ve ark., 1970; HEWES ve DAVISON, 1971), hidrojen peroksit üzerinden oksidasyon mekanizması (BANDE ve ark., 1970) ve başka reaksiyon mekanizmaları (EISENHAEUER, 1968; 1971a; 1971b; BAILEY, 1972). Ozonun sulu ortamda bozunma kinetiği, oluşan radikaller ve organik bileşiklerin parçalanma kinetiği ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır (HOIGNE ve BADER, 1979; HOIGNE ve ark., 1981a; 1981b; HAAG ve ark., 1984, GUROL ve NEKOUINAINI, 1984; HOIGNE ve ark., 1984; LEGUBE ve ark., 1985; SOTELO ve ark., 1987; YURTERI ve GUROL, 1987; 1988; 1989).

2.2. Biyolojik Arıtmayla İlgili Çalışmalar

Parçalanamayan organikler çevre şartlarına dirençli olan, besin zinciriyle hayvanların vücut yapılarında yüksek oranlarda birikebilen kimyasallardır. Bu bileşiklerin çoğu toksik, mutajenik ve kanserojendir. Bu nedenle gerek araştırma laboratuvarlarında, gerekse çevre şartlarında mikroorganizmaların bu tür organikleri parçalaması ile ilgili çalışmalar yoğunlaşmıştır (GIBSON, 1984; BRUNNER ve ark., 1985; BUMPUS ve AUST., 1985; EATON, 1985; SCHILLING ve ark., 1985; SUBBA-RAO ve ALEXANDER., 1985; BAARSCHERS ve HEITLAND., 1986).

Phanerochaete chrysosporium atık su arıtım sistemlerinde normal olarak mikrobiyal parçalanmaya dirençli DDT, Lindan, Benzopiren, Fenantren, 2-metil naftalin gibi değişik yapıdaki çok sayıda organik bileşiği metabolize etme özelliği nedeniyle son on yılda pek çok araştırmacının ilgisini çekmiştir (KIRK ve CHANG, 1975; KIRK ve ark., 1975; KIRK ve ark., 1976; KIRK ve ark., 1978; LARRY ve ark., 1982; LEATHAM ve ark., 1983; JAGER ve ark., 1985; BUMPUS ve ark., 1985a; 1985b; BUCHALA ve LEISOLA, 1987). *P. chrysosporium*'un en önemli özelliği, aktif bir lignin parçalayıcı mantar olmasıdır. Hüye ve arkadaşları, azot sınırlı şartlar altında bu mantarın Krait Kağıt hamurlama prosesinin ağartma fazındaki ürünleri ve klorlu fenolikleri

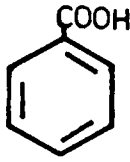
parçalamada biyolojik kontaktörlerde kullanılabileceğini göstermiştir (HUYNH ve KIRK., 1983; HUYNH ve ark., 1985). Ayrıca yapılan çalışmalar, biyolojik parçalanmaya dirençli çok sayıdaki bileşimin bu mantarla, azot sınırlı ortamda karbondioksite kadar parçalanabileceğini göstermiştir (BUMPUS ve ark., 1985a; BUMPUS ve AUST, 1985; 1986a; 1986b; EATON, 1985; SANGLARD ve ark., 1986; HAEMERLI ve ark., 1986; ARJMAND ve SANDERMANN, 1985).



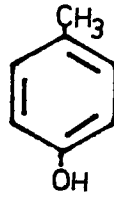
3. MATERYAL VE METOD

3.1. Çalışılan Maddeler

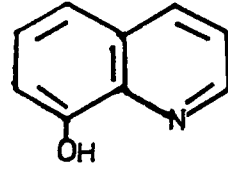
Bu çalışmada model bileşikler olarak seçilen benzoik asit, p-krezol ve 8-hidroksi kinolin (8-HK) aromatik halkaya sahip organik bileşiklerdir. Açık formülleri aşağıda verilmektedir:



Benzoik asit



p-krezol



8-hidroksi kinolin

Benzoik asit orta derecede toksik bir maddedir. Tolere edilen doz 5-500 g/kg arasına değişmektedir (ARENA, 1979). Suda çözünürlüğü sıcaklıkla artar. Benzoik asitin sıcaklığa bağlı olarak çözünürlük değerleri aşağıda verilmektedir (KIRK ve OTHMER, 1964):

Sıcaklık(°C)	Çözünürlük(g/100 g su)
0	0.17
10	0.21
20	0.29
25	0.34
30	0.42
40	0.60
50	0.85
60	1.20
70	1.77
80	2.75
90	4.55
95	6.80

p-krezol çok toksik bir maddedir. Tolere edilen doz 50-500 mg/kg arasında değişmektedir (GLEASON ve ark., 1969). Suda çözünürlüğü benzoik asitten daha fazladır. 1/50 oranında suda çözünür. 30°C'de suda çözünürlüğü 2.21 g.'dır (KIRK ve OTHMER , 1965).

8-HK'de p-krezol gibi çok toksik bir maddedir. Kobaylarda lethal doz 3 ppm olarak bulunmuştur (GLEASON ve ark., 1969). Suda çözünürlüğü 1/1500 oranındadır.

3.2. Ozonlama

Ozon, Fischer model-501 su soğutmalı ozon jeneratörüyle elde edildi. Ozon üretimi için oksijen gazı kullanıldı. Gaz akışı 1 bar'ı geçmeyecek şekilde bir manometreyle ayarlandı. Jeneratörün verimli çalışması amacıyla oksijen gazı, jeneratöre girmeden önce içinde KOH bulunan bir kurutucudan geçirildi. Jeneratörde üretilen ozonun dozu, jeneratör üzerindeki mA göstergesi ile ayarlandı.

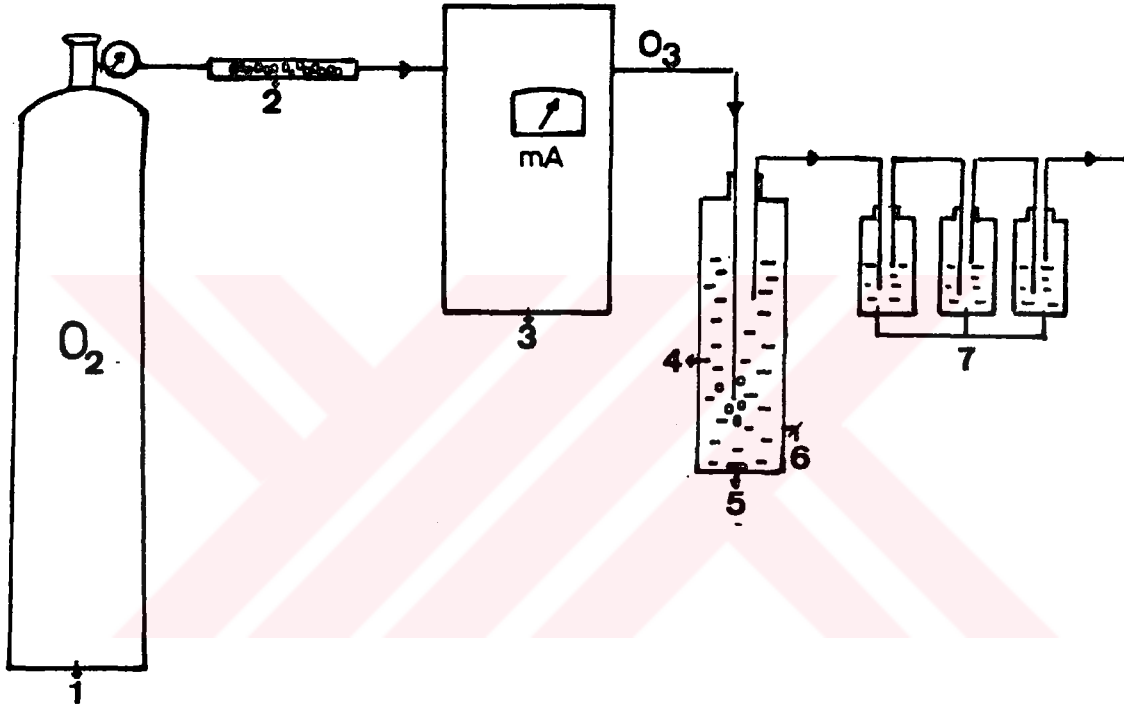
Reaktör olarak 1.2 L hacminde, silindir şeklinde ve alt kısmında bir örnek alma musluğu olan bir cam kap kullanıldı. Jeneratörden çıkan ozon, reaktör içine ucunda cam elek bulunan bir cam boruyla gönderildi. Ozonun çözelti içinde dispersiyonunu sağlamak amacıyla manyetik karıştırıcı kullanıldı.

Ozonlama süresince belirli aralıklarla (20 dak) örnek alındı. Örnek alma sırasında reaktöre ozon gazının girişi kesildi. Örnek aldıktan sonra ozonlamaya tekrar devam edildi.

Reaktörden çıkan ozonun fazlası, içinde %2'lik KI içeren fosfat tampon çözeltisiyle ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O} + \text{KH}_2\text{PO}_4$) pH 7'ye tamponlanmış, birbirine paralel bağlı gaz siselerinde tutuldu.

Ozonlama çözeltilerin kendi başlangıç pH'larında 5, 10, 15 ve 20 mg O_3 /dak ozon dozlarında ve ozon dozunu sabit tutup farklı başlangıç pH'larında (pH 3, pH 7 ve pH 9) olmak üzere iki şekilde yapıldı. Örnekler 20'ser dakika aralıklarla alınarak, toplam 80 dakika boyunca ozonlandı.

Sulu ortamdaki organiklerin ozonlanması için kurulan deney düzenegi şekil 3.1.'de verilmektedir:



Şekil 3.1. Çalışılan deney düzenegi

1. Oksijen tüpü, 2. İçinde KOH bulunan kurutucu tüp,
3. Ozon jeneratörü, 4. Reaktör,
5. Manyetik karıştırıcı,
6. Örnek alma musluğu,
7. %2'lik KI ve fosfat tamponu içeren gaz tutma şişeleri

3.2.1. Jeneratörün Kalibrasyonu

Sulu ortamda örneklerin ozonlanmasından önce, jeneratörün ürettiği ozon miktarının tayin edilmesi ve istenilen ozon dozunu sağlayacak ayarlamaların yapılması gereklidir.

Bu amaçla jeneratör kararlı hale gelinceye kadar, içerisinde 1L damıtık su bulunan reaktörün içinden ozon gazı geçirildi ve belirli bir süre sonunda (5 dak), yıkama şisesinde açığa çıkan I_2 , $Na_2S_2O_3$ ile titre edilerek ozon miktarı tayin edildi. Üst üste birkaç defa tekrarlanan tayin sonuçları sabit kalıncaya kadar jeneratörün kalibrasyonuna devam edildi.

Yıkama şisesi içindeki %2'lik KI tampon çözeltisinin bileşimi aşağıda verilmektedir:

KI: 20 g/L

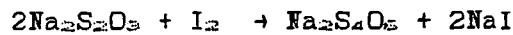
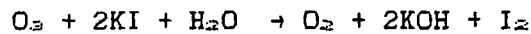
$Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$: 13.128 g/L

KH_2PO_4 : 3.5 g/L

3.2.2. Tepkimeye Giren ve Geri Kalan Ozon Miktarının Tayini

Ozon miktarı, KI içeren tamponlanmış (pH 7) çözeltiden açığa çıkan iyot miktarının titrimetrik olarak tayin edilmesi ile bulunur. Titrant olarak ayarlı tiosülfat ve nişasta indikatörü kullanılmaktadır (BIRDSALL ve ark., 1952; STANDART METHODE a, 1950).

Bu çalışmada ozon miktarı bu yöntemle belirlendi. Bunun için tepkimeye girmeyen ozonun tutulduğu %2'lik KI iyodür çözeltisinden 100 mL alınıp, 5 mL 1N H_2SO_4 ve nişasta indikatörü eklenerek, 0.1 N ayarlı tiosülfat çözeltisiyle açığa çıkan serbest iyot titre edildi. Çözeltinin mavi rengi kayboluncaya kadar titrasyona devam edildi. Oluşan reaksiyonlar;



1 mL 0.1 N $Na_2S_2O_3$ çözeltisi 2.4 mg ozona karşılık gelmektedir.

Ozon miktarı şu şekilde hesaplanmaktadır:

$$mgO_3 = N/10 \text{ mL } Na_2S_2O_3 \times 2.4$$

3.2.3. Ozonlanma Örneklerde Yapılan Tayinler

Ozonlama sonunda belirli aralıklarla (20 dak) , 50'şer mL alınan örnekler gerekli tayinler yapıncaya kadar koyu renkli şişelerde buz dolabında saklandı. Tayinden 1-2 saat önce dolaptan çıkarılarak, oda sıcaklığında ısınmaları sağlandı. Bu şekilde saklanmadıkları takdirde, ortamda asidik mantarların ürediği gözlemlendi.

Ozonlanma sırasında alınan örneklerde ortamdaki organik madde içeriğine bağlı olarak BOD₅, COD ve ayrıca TOC gibi parametreler tayin edildi.

Farklı başlangıç pH'larında ozonlama sırasında alınan örneklerin toksisite testleri de yapıldı.

3.2.3.1. Biyolojik Oksijen Gereksinimi (BOD₅) Tayini

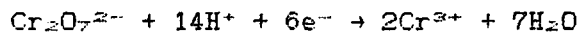
BOD, organik maddenin mikroorganizmalar tarafından biyokimyasal olarak oksidasyonu sırasında, mikroorganizmalar tarafından kullanılan çözülmüş oksijenin ölçülmesine dayanan bir tayin yöntemidir. Genelde 5 günlük oksijen harcaması (BOD₅) ölçü olarak kabul edilmektedir.

Bu çalışmada ozonlama sırasında alınan örneklerin BOD₅ tayinleri hem standart (STANDART METHODS b, 1980) hem de manometrik yöntemle tayin edildi.

Manometrik tayin için 214 Hoelzle & Chelius KG model manometre kullanıldı. Bu tayin için 180 mL örnek çözeltisi üzerine 20 mL mikroorganizma içeren ası suyu eklenerek elde edilen çözeltiden 157 mL alınıp, 500 mL'lik kahverenkli şişelere konuldu. Şişelerin ağzına yerleştirilen lastik tutuculara 2 damla KOH kondu. Örnekler 20°C'de yarım saat bekletildikten sonra, şişelerin ağzı kapatılıp manometre sıfırlandı. Oluşan CO₂, KOH tarafından adsorbe edildi. Bu suretle meydana gelen basınç düşmesi manometreyle ölçülerek 5 gün boyunca biyolojik oksijen gereksinimi tayin edildi.

3.2.3.2. Kimyasal Oksijen Gereksinimi (COD) Tayini

Kimyasal oksijen istemi, mikroorganizmaların aracılığı olmadan atık bir suyun içerdığı organikleri oksitlemek için gerekli oksijen gereksinimidir. COD tayini için potasyum dikromat reflüks yöntemi kullanıldı (STANDART METHODS c, 1980). Dikromatın fazlası amonyum demir-2- sülfat çözeltisi ile geri titre edilerek COD parametresi tayin edildi. Oksitlenme sırasında dikromat iyonu aşağıdaki denkleme göre krom(3)'e indirgenir:



Bu çalışmada BUCHI 430 model digestör sisteminde 2 saat kaynatılan örnekler, soğutulduktan sonra Fe(II) amonyum sülfat çözeltisiyle titre edildi.

3.2.3.3. Toplam Organik Karbon (TOC) Tayini

TOC tayini için özel olarak geliştirilmiş karbon analizörlerinden yararlanılmaktadır. Yanma sonunda oluşan CO₂, alete bağlı IR ötesi detektörler yardımı ile tayin edilmektedir (KUCZYNSKI, 1979; OTSON ve ark., 1979; STEENDEREN ve ark., 1979).

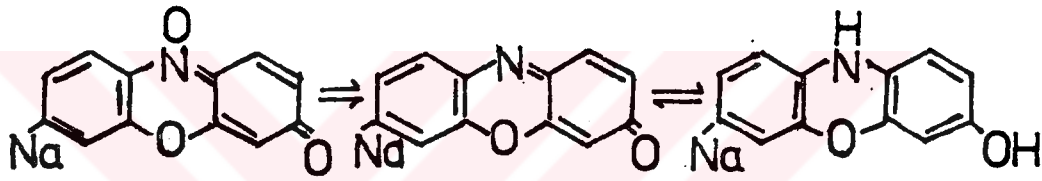
Ozonlanmış örneklerin toplam organik karbon içerikleri Astro model 1850 TOC analizörü ile tayin edildi.

Tayinden önce örnekler suspanse haldeki katıların uzaklaştırılması amacıyla membran filtreden (Schleicher&Schuell marka, 0.45 µm gözenek büyüklüğü, ø 50 mm) süzüldü.

Standart olarak, 10 mg/L, 50 mg/L ve 250 mg/L potasyum hidrojen ftalat çözeltileri hazırlandı. Standartlar ve örnekler, örnekleme otomatik olarak yapıldığı özel bölüme yerleştirildi. Sonuçlar otomatik olarak alındı.

3.2.3.4. Ozonlanmış Örneklerde Toksisite Testi

Testin prensibi; bakterinin dehidrojenaz aktivitesinin toksik ortamda azalmasına bağlıdır. Bu testte bakteri olarak *Pseudomonas putida* kullanılmaktadır. Dehidrojenaz aktivitesinin olması halinde kullanılan resazurin indikatörünün mavi rengi, oluşan resorufinden dolayı kırmızıya dönmektedir. Renk şiddeti 615 nm'de spektrofotometrede ölçülür.



Resazurin
mavi

Resorufin
kırmızı

Hidroresorufin
renksiz

Bir deney tüpüne, her örnek için paralel çalışarak 1 mL resazurin indikatörü, 0.5 mL HCl asitli imidazol tampon çözeltisi (pH 6.3), 5 mL deneyin yapılacağı örnek çözeltisi ve 1 mL borat tampon çözeltisi (pH 11.0) kondu. Bir su banyosunda 37°C'de 10 dakika bekletilen deney tüplerinin üzerine 0.5 mL bakteri (*Pseudomonas putida*) kültürü eklendi. Tekrar su banyosuna yerleştirilip 1 saat bekletildi. Banyodan çıkartılan örnekler, 3x1000 U/min dönme hızıyla 5 dakika santrifüjlendi. Üstte kalan berrak çözeltinin absorpsiyon değerleri Hitachi 100-80A model spektrofotometrede 615 nm'de okundu. Örneklerin toksisiteleri, aktivitenin %100 olduğu saf su ve toksisitenin %100 olduğu borat tampon çözeltisine göre hesaplandı.

Bu tayinde kullanılan *Pseudomonas putida* bakterisi kültürleri Avusturya Graz Teknik Üniversitesi Mikrobiyoloji Enstitüsü Laboratuvarlarından sağlandı.

3.3. Model Bileşiklerin Biyolojik Olarak Parçalanmaları

Çalışılan model bileşiklerin sulu ortamda biyolojik olarak parçalanmaları için beyaz küf mantarı *Phanerochaete chrysosporium* kullanıldı. Bu mantar Avusturya Graz Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü laboratuvarlarından sağlandı. Buzdolabında petriyer içinde agar jellerde muhafaza edilen mantar kültürleri, hazırlanan sentetik kültür ortamlarına asılılandı.

3.3.1. *P. chrysosporium* Kültür Ortamı

Kültür ortamı, daha önce bu konuda yapılan çalışmalar örnek alınarak hazırlandı (KIRK ve ark., 1978). *P. chrysosporium* için en iyi büyüme ortamı azot sınırlı şartlar altında, pH 4-4.5 'dur. Optimum büyüme sıcaklığı ise 39-40°C'dir. Sentetik kültür ortamının içerdiği maddeler şunlardır:

Temel maddeler (Litrede): KH_2PO_4 , 0.2 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0.05 g; CaCl_2 , 0.01 g.

Mineral çözeltisi (Litrede): Nitritotriasetat, 1.5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 3.0 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 0.5 g; NaCl, 1.0 g; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 100 mg; CoSO_4 , 100 mg; CaCl_2 , 82 mg; ZnSO_4 , 100 mg; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 10 mg; $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$, 10 mg; H_3BO_3 , 10 mg; NaMnO_4 , 10 mg.

Vitamin çözeltisi (Litrede): Biotin, 2mg; folik asit, 2mg; tiamin.HCl, 5mg; riboflavin, 5 mg; pridoksin.HCl, 10 mg; siyanokobalamin, 1.0 mg; nikotinik asit, 5mg; DL-kalsiyum pantotenat, 5 mg; p-amino benzoik asit, 5 mg; lipoik asit, 5 mg.

Azot kaynağı olarak; NH_4NO_3 ve L-asparagin (her ikisinde 0.6 mM). Büyüme substratı olarak; %1'lik (56 mM) D-glikoz.

Tampon çözelti olarak (pH 4.5); 0.05 M Potasyum hidrojen ftalat.

Hazırlanan kültür ortamından belirli hacimlerde alınan çözeltiler, daha iyi havalandırmayı sağlayan oluklu erlenlere konularak, 120°C'de, 1.5 kg/cm² basınç altında, 20 dakika otoklavda sterilize edildi. *P. chrysosporium*, laminer akışlı özel odada sterilize edilen erlenlere asılılandı. Erlenler sıcaklık ayarlı özel odalarda, 110 rpm dönme hızındaki çalkalayıcılara yerleştirilerek inkübasyona bırakıldı.

3'er gün arayla örnek alınarak, mantarın bu ortamda büyüme miktarı tayin edildi.

Aynı kültür ortamı, farklı konsantrasyonlardaki model bileşiklere içerecek şekilde hazırlandı. Bu ortamlarda mantarın büyüme miktarları, organiklerin bu mantar tarafından parçalanma miktarları ve glikoz tüketim miktarları tayin edildi.

3.3.2. *P. chrysosporium*'un Büyüme Miktarının (Kuru Ağırlık) Tayini

Mantar kültürleri, herbirinde model bileşiklerin farklı konsantrasyonları bulunan ve bölüm 3.3.1.'e göre hazırlanan kültür ortamlarını içeren erlenlere aşılandı. Hazırlanan çözeltilerin konsantrasyonları benzoik asit için % 0.05, 0.03, 0.01; p-krezol için %0.05, 0.03, 0.01 ve 0.005; 8-HK için % 0.03, 0.01 ve 0.005'dir.

Erlenler sıcaklığı 35°C'ye ayarlı bir odada 110 rpm dönme hızındaki çalkalayıcılara yerleştirildi. İnkübasyon boyunca belirli aralıklarla (3'er gün) örnekler alındı. Bu örnekler yüksek dönme hızlı karıştırıcıda (Ultra turrax: T 25 model, JANKE & KUNKEL, IKA Labortechnik) homojenize edildikten sonra, ağırlığı belirli olan membran filtreden (Schleicher & Schuell marka, 0.45 µm gözenek büyüklüğü, ø 50 mm) süzüldü. Mikro dalga etüvde 1-2 dakikada kuruyan filtre kağıtlarının ağırlıkları tayin edildi. Böylece belirli bir hacim için (100 mL) tayin edilen kuru ağırlık miktarlarından mantarın büyüme miktarları g/L olarak hesap edildi.

3.3.3. Glikoz Miktarının Tayini

Substrat olarak kullanılan glikozun, mantarın büyümesi sırasındaki tüketimini tayin etmek amacıyla HPLC (yüksek işlevli sıvı kromatografisi) ve enzimatik (Heksokinaz-UV) metodları kullanıldı.

3.3.3.1. HPLC(Yüksek İşlevli Sıvı Kromatografisi)

Yüksek hızda gerçekleştirilen ayırmaların yapıldığı sıvı kromatografi sistemlerine yüksek işlevli sıvı kromatografisi (İng.High Performance Liquid Chromatography,HPLC) denir(ERDİK ve ark., 1987).

Çalışılan aletin özellikleri ve çalışma şartları şunlardır:

Kolon: Aminex HPX-87 H

Pompa: Seri 100 Perkin Elmer

Detektör : Diferansiyel refraktometre

Mobil faz: 0.01 N H₂SO₄

Akış hızı: 0.7-1 mL

Sıcaklık : 65°C

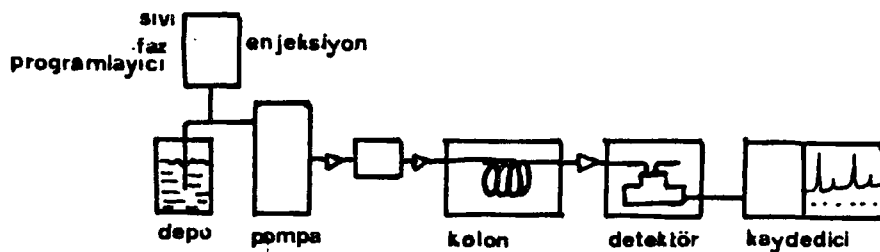
Enjeksiyon hacmi: 5-10 µL

Okuma skalası : 4,8,32,64

Yazıcı : Servogar 220 model

Glikoz standart çözeltileri: 0.5-5 g/L (CHEMIE LINZ AG)

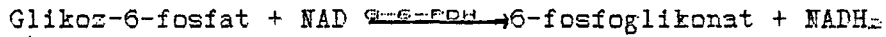
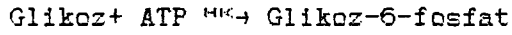
HPLC sisteminde her örnek için elde edilen pik yüksekliği standart glikoz çözeltisine göre hesaplanarak, residü glikoz miktarı dolayısıyla tüketilen glikoz miktarı bulundu. HPLC sisteminin sematik gösterimi şekil 3.2.'de verilmektedir.



Şekil 3.2. HPLC sistemi

3.3.3.2. Heksokinaz-UV Metod

Glikozun Heksokinazla enzimatik reaksiyonu sonucu $NADH_2$ oluşur. 340 nm'de absorpsiyonu ölçülür. Ölçülen $NADH_2$ miktarı glikoz miktarına eşdeğerdir (BARTHELMAI ve CZOK, 1962). Oluşan reaksiyonlar:



Glikoz-heksokinaz reaktifi (CHEMIE LINZ AG), 20 mL saf su içinde çözüldü. Standart çözeltiler: 0.01 mL glikoz standart çözeltisi + 1 mL reaktif olacak şekilde hazırlandı. Glikoz miktarı tayin edilecek örnekler 1:5 oranında seyreltildi. 0.01 mL seyreltilmiş örnek çözeltisi+1 mL reaktif olacak şekilde örnekler hazırlandı. 5-30 dak arasında absorpsiyonları Shimadzu UV-240 model spektrofotometre ile ölçüldü. Standartlara göre örneklerdeki glikoz konsantrasyonu tayin edildi.

3.4. Model Bileşiklerin Ozonlama ve Biyolojik Parçalanma Ürünlerinin Tayini

Hem ozonla, hem de biyolojik olarak parçalanan model organik bileşiklerin parçalanma miktarlarının tayini ve parçalanma ürünlerinin belirlenmesi için spektrofotometrik ve gaz kromatografik yöntemler kullanıldı.

Ozonlanmış örneklerin spektrofotometrik olarak parçalanma miktarları LKB-ultraspec 4050 model spektrofotometrede belirlendi. Benzoik asit için 230 nm, p-krezol için 289 nm ve 8-HK için 226 nm dalga boyları kullanıldı.

Biyolojik olarak parçalanmış benzoik asit ve p-krezol örneklerinin kromatografik olarak nicel analizleri Hewlett-Packard 5840 model gaz kromatografisi ile yapıldı:

Benzoik asitin nicel analizi metil esteri şeklinde yapıldı. İç standart olarak PHB (poli- β -hidroksi butirik asit) kullanıldı. Tayin için önce 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 g/L konsantrasyonlarında benzoik asit içeren standart çözeltiler hazırlandı.

Standart çözeltilerin hazırlanması:

Her standart çözeltisi için ayrı ayrı, 10 mL içinde 9.7 mL metanol + 0.3 mL derişik H_2SO_4 + benzoik asit içeren bir karışım çözeltisi hazırlandı. Ağzı kapaklı bir deney tüpüne istenen miktarda benzoik asit içeren karışım çözeltisinden 2 mL alınıp üzerine, içinde 1g/L PHB içerecek şekilde hazırlanan kloroform ($CHCl_3$) çözeltisinden 2 mL eklendi. Ağzı kapatılan deney tüpleri bir tüplük içine yerleştirilerek 3.5-4 saat $100^\circ C$ 'de etüvde bekletildi. Etüvden çıkartılıp soğumaları beklendikten sonra 1 mL saf su eklendi ve 10 dakika bir vibro-mix'de karıştırıldı. Su ve kloroform fazlarını ayırmak için 3000 U/min dönme hızında 5 dakika santrifüjlendi. Altta kloroform fazı alınarak gaz kromatografisi ile tayini yapıldı. Enjeksiyon için 1 μL hacminde Hamilton marka şırınga kullanıldı.

Örneklerin analize hazırlanması:

Benzoik asitin başlangıç konsantrasyonları %0.01, 0.03 ve 0.05 olarak hazırlanan, biyolojik parçalanmaya tabi tutulan çözeltilerinden belirli aralıklarla (3'er gün) ağzı kapaklı plastik tüplere 10'ar mL alındı. Bu örnekler $-70^\circ C$ 'de derin dondurucularda donduruldu. Tüplerin kapakları çıkartılıp, ağızlarına alüminyum kağıt geçirilerek vakum evaporatörde (VIRTIS COMPANY, Model no: 10-102-MD, GARDINER N.Y. 12525) 24 saat bekletildi. Suyu tamamen uzaklaştırılmış örneklerin üzerine 2 mL metanol- H_2SO_4 karışımı ve 2 mL PHB içeren $CHCl_3$ eklenerek, standartlar için yapılan işlemler tekrarlandı.

Gaz kromatografisi ile benzoik asit örneklerinin tayini için chromosorb üzerinde %5'lik Reoplex kolon (6 ft uzunluğunda, 0.1 in iç çapında cam kolon) ve alev iyonlaşma detektörü (FID) kullanıldı. Taşıyıcı gaz olarak N_2 (30 mL/dak akış hızı), iyonlaştırıcı gaz olarak H_2 (30 mL/dak akış hızı) ve O_2 (100 mL/dak akış hızı) kullanıldı. Madde miktarları gaz kromatografisine kombine bilgisayar sistemi aracılığıyla otomatik olarak hesaplandı.

Benzoik asit için kullanılan çalışma programı çizelge 3.1.'de verilmektedir:

Çizelge 3.1. Benzoik asit için kullanılan çalışma programı

	TEMP1	160	('C)	
	TIME1	5.00	(min)	
	RATE	15.00	('C/min)	
	TEMP2	200	('C)	
	TIME2	3.00	(min)	
	INJ TEMP	225	('C)	
	FID TEMP	300	('C)	
	CHT SPD	0.5	(cm/min)	
	ZERO	10.0		
	ATTN 2↑	9.00	(mV/full scale)	
	SLP SENS	0.05	(mV/min)	
	AREA REJ	999800000000		
	FLOW	30.0	(mL/min)	
	1.20 AREA REJ	0		

P-krezolün nicel analizi için Apiezon L kolon ve FID detektör kullanıldı. İç standart olarak propiyonik asit kullanıldı. P-krezol için çalışma programı çizelge 3.2.'de verilmektedir:

Çizelge 3.2. P-krezol için kullanılan çalışma programı

	TEMP1	140	('C)	
	TIME1	10.00	(min)	
	INJ TEMP	275	('C)	
	FID TEMP	280	('C)	
	CHT SPD	0.25	(cm/min)	
	ZERO	10.0		
	ATTN 2↑	6.00	(mV/full scale)	
	SLP SENS	2.5	(mV/min)	
	AREA REJ	1000		

Biyolojik olarak parçalanmış 8-HK örneklerinin nicel analizi spektrofotometrik olarak, diazolanmış orthanilik asit çözeltisi ile 425 nm'de yapıldı. Bunun için Shiamadzu UV-240 model spektrofotometre kullanıldı.

Tayin için 10 ppm'lik stok 8-HK çözeltisi ve diazolanmış orthanilik (2-amino benzen sülfonik) asit çözeltisi hazırlandı. Standart kinolin çözeltileri (0.4-8 ppm aralığında) hazırlandı (AMIN ve BASHIR, 1986).

Tayin edilecek örnek çözeltisinden 20 mL alınıp, 1 mL %2'lik NaOH ve 2 mL diazolanmış orthanilik asit çözeltisi ilave edilerek, çözelti hacmi 20 mL'ye tamamlandı. Örneklerin içerdiği 8-HK konsantrasyonları spektrofotometrede otomatik olarak okundu.

Nitel analizler için GC/MS (Kombine MAT 212 detektör Varian 3700 model) ve Hewlett-Packard yüksek işlevli kolon (metil silikon, 0.31 mm iç çap, 25 m uzunlukta) kullanıldı. Taşıyıcı gaz olarak He, detektör olarak elektron iyonizasyon detektörü kullanıldı. Sıcaklık profili 30-280°C sıcaklıkları ile 8°C/dak ısıtma hızı ile sağlandı. Bu sistem kullanılarak p-krezolün, p-hidroksi benzoik asit, propiyonik asit ve asetik asit gibi parçalanma ürünlerinin nitel olarak belirlenmeleri mümkün oldu. Bu sistemle belirlenemeyen diğer organik asitlerin nitel analizleri için ayrıca sadece gaz kromatografisi (Hewlett Packard 5840 model) ve farklı kolonlar kullanıldı. Bunun için Apiezon L ve Porapak Q kolonlarla çalışıldı. Taşıyıcı ve iyonlaştırıcı gaz olarak Ne, H₂ ve O₂ kullanıldı. Detektör olarak alev iyonlaşma detektörü kullanıldı.

Ozonla ve biyolojik parçalama sırasında alınan örneklerdeki madde konsantrasyonları çok düşük olduğu için örnekleri doğrudan gaz kromatografisine enjekte ederek nitel tayinlerini yapmak mümkün olmadı. Bu yüzden örnekleri konsantre etmek ve tayin için kararlı hale getirmek amacıyla tayin öncesi bazı ön işlemler yapıldı. Bu amaçla önce -70°C'de dondurulan örnekler daha sonra vakum evaporatör'de suyundan uzaklaştırıldı. Bu şekilde konsantre hale getirilen örnekler 10 mL suda çözülüp, organik asitleri izole edebilmek amacıyla Rahm & Haas XAD-2 polimer reçineden (100-150 mesh gözenek büyüklüğünde) geçirildi (BURNHAM ve ark., 1972; JUNK ve ark., 1974).

Metanolle karıştırılan reçine , LKB-cam kolon sistemine 7 cm yüksekliğine kadar dolduruldu.

Organik asitleri kolondan yüksek verimle kazanmak ve gaz kromatografik tayinlerini sağlamak amacıyla, örnek çözeltisini kolondan geçirmeden önce, kolondan 5 mL der. HCl/L olacak şekilde ortam asitlendirildi.

Örnek çözeltisi 30 mL/dak akış hızını sağlayan bir pompa vasıtasıyla kolona gönderildi. Organik asitlerin kolondan alınması için iki kez 10 mL'lik dietil eter ve daha sonra ilave olarak 5 mL dietil eter daha kullanıldı. Toplanan bu çözelti bir rotary evaporatör'de 1 mL kalıncaya kadar konsantre hale getirildi. GC/MS kombine sistemine 0.5µL örnek enjekte edilerek nitel analizi yapıldı.

4. ARASTIRMA BULGULARI

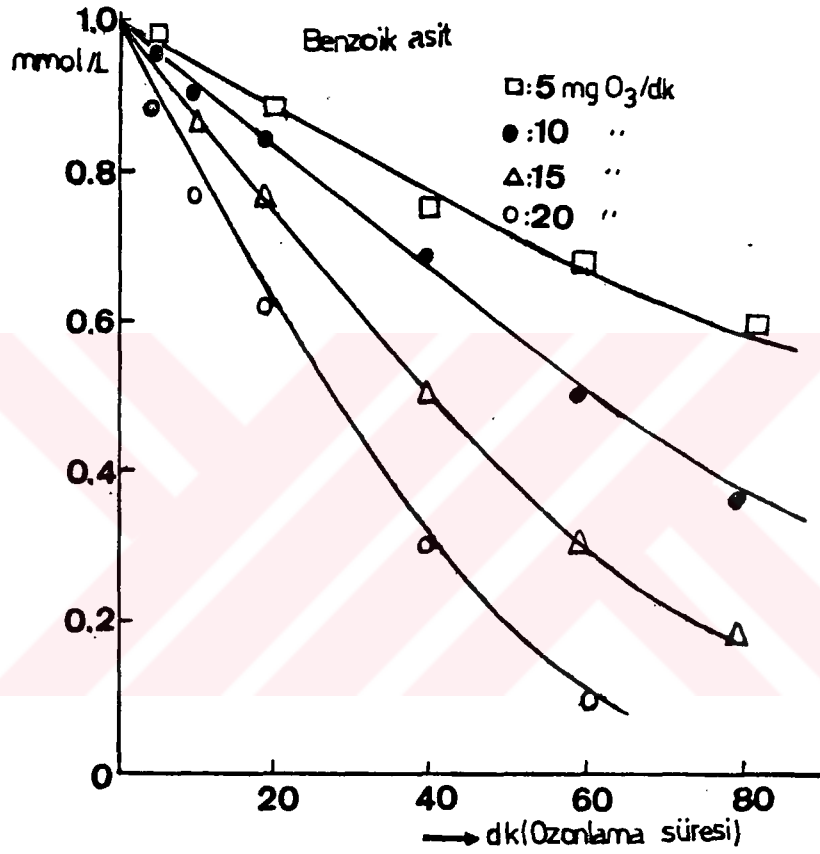
4.1. Model Bilesiklerin Ozonlanmasi

Bu calismada model madde olarak; benzoik asit, p-krezol ve 8-hidroksi kinolin bilesikleri seçildi. Toksik olan bu maddeler, çevreden çeşitli yollarla içme sularına karıştıklarından insan sağlığına ve canlılara zararlı etkilere sahiptirler. Bu tür maddelerin mutlaka sulu ortamdan uzaklaştırılmaları gereklidir. Bunların sulu ortamdan giderilmesini sağlamak amacıyla bu çalışmada ozon kullanıldı. Her model maddenin 1 mM (0.001 M)'lık çözeltileri hazırlandı. Bunun için çok saf kimyasal maddeler (Merck) kullanıldı.

4.1.1. Model Maddenin Parçalanmasının Ozon Dozuna Bağlılığı

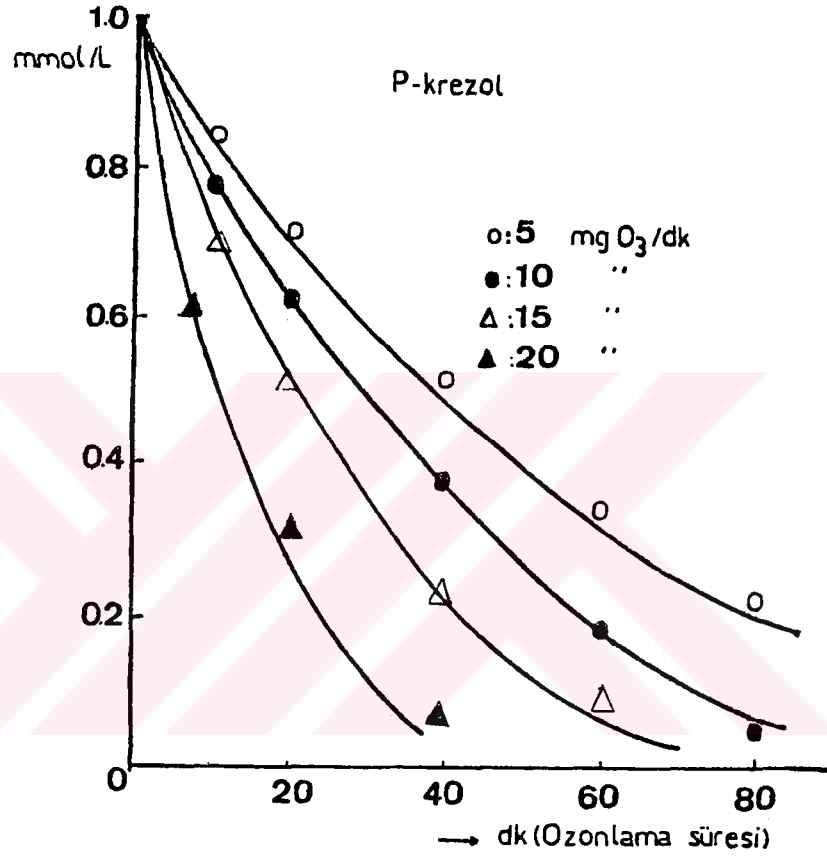
Çalışılan bilesikleri sulu ortamdan etkin biçimde parçalayarak gidermek amacıyla 5,10,15 ve 20 mg/dk. olmak üzere dört farklı ozon dozu kullanıldı ve ozon dozuna bağlı olarak, tepkime süresince her bir model bilesiğin parçalanma miktarı spektrofotometrik olarak tayin edildi. Bunun için ozonlama sırasında belirli aralıklarla reaktörden örnek alındı. Bu örneklerdeki madde derişimleri UV-spektrofotometresi ile belirlendi. Model maddelerin ozon dozuna bağlı olarak parçalanma miktarlarının zamana karşı değişimleri şekil 4.1.,4.2. ve 4.3.'de verilmektedir:

Benzoik asit'in kendi başlangıç pH'ında hazırlanan 1 mmol'lük çözeltilerinin farklı dozlarda ozonlanması sonucu spektrofotometrik olarak belirlenen parçalanma miktarları şekil 4.1.'de verilmektedir:



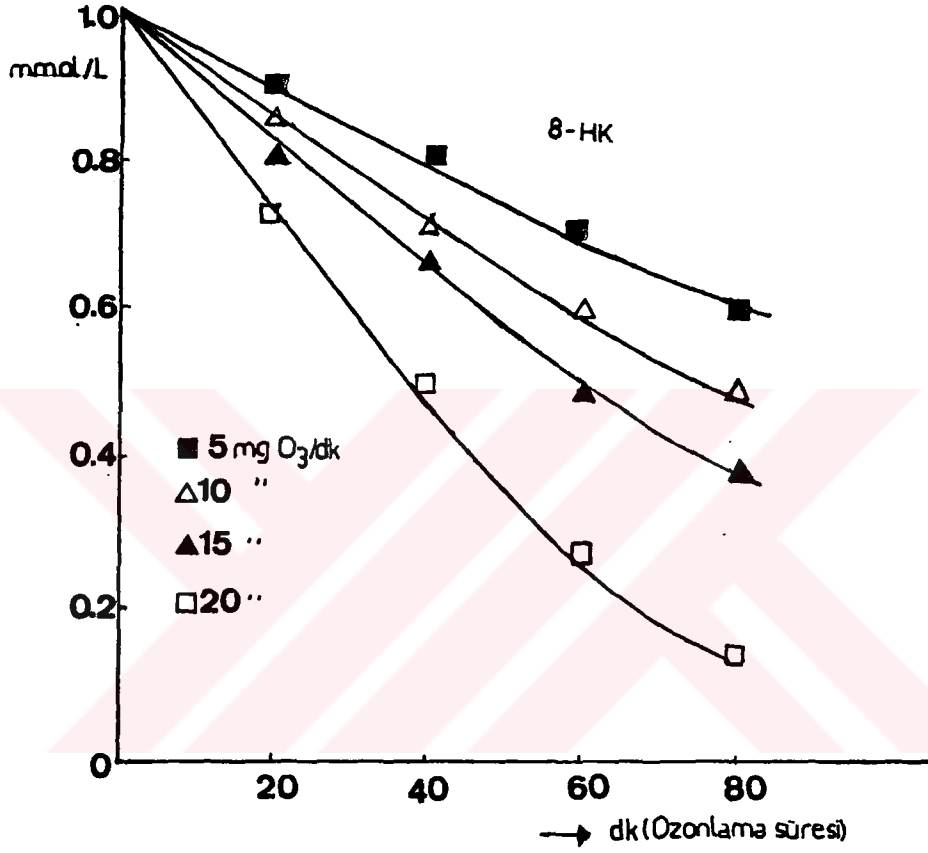
Şekil 4.1. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak parçalanması

P-krezolün kendi başlangıç pH'ında farklı dozlar için spektrofotometrik olarak belirlenen parçalanma miktarları şekil 4.2.'de verilmektedir:



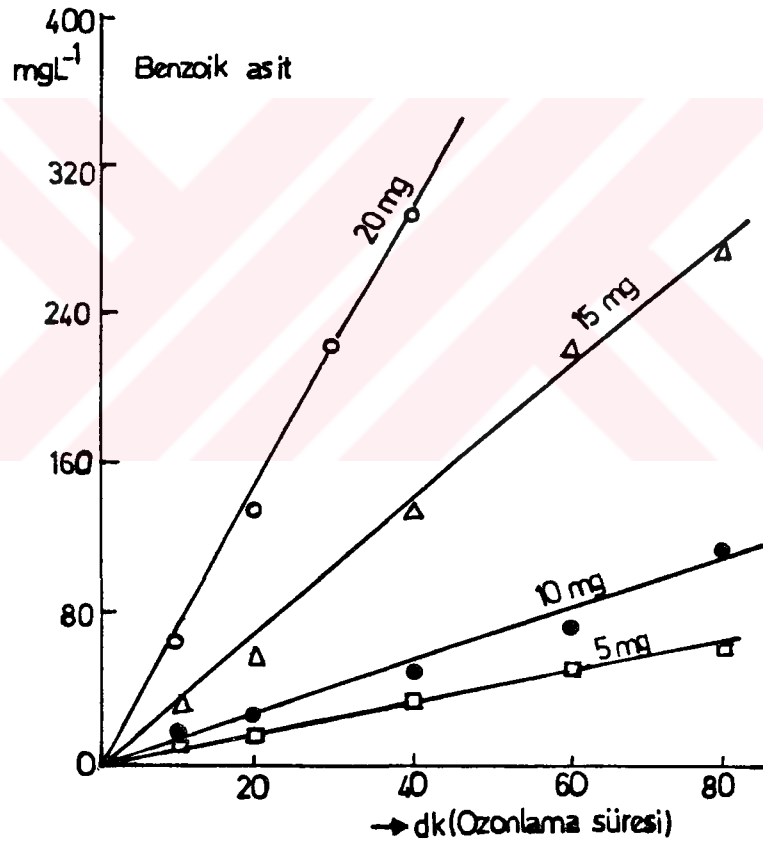
Şekil 4.2. P-krezolün ozon dozuna bağlı olarak parçalanması

8-Hidroksi kinolin'in dört farklı ozon dozunda kendi başlangıç pH'ında ozonlanması sonucunda belirlenen parçalanma miktarları şekil 4.3.'de verilmektedir:

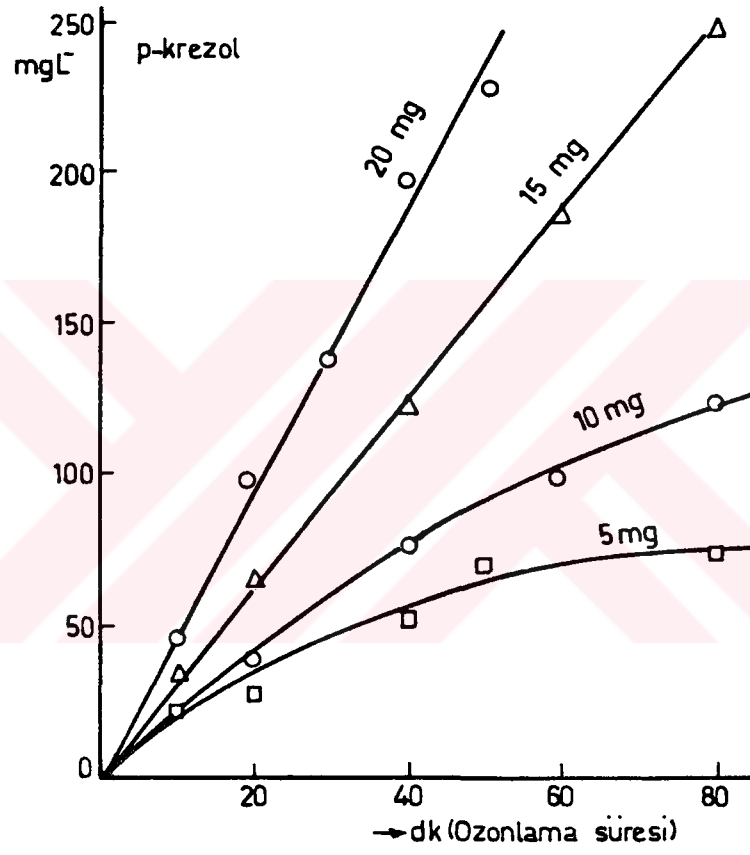


Şekil 4.3. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak parçalanması

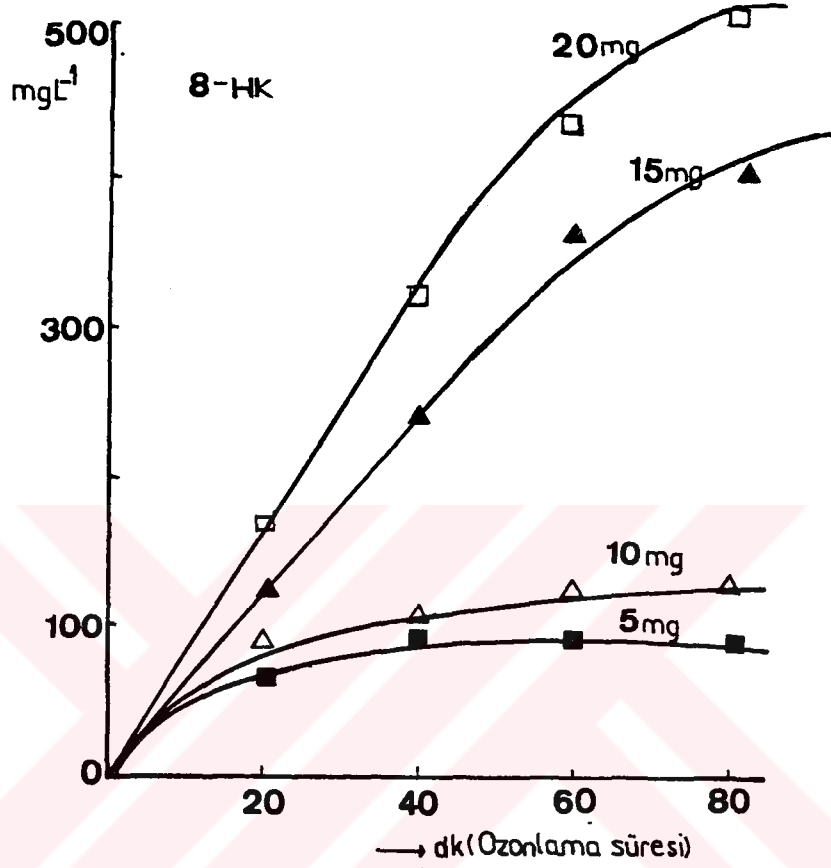
Çalışılan bu maddelerin farklı dozlarda parçalanmaları sırasında ozon tüketimleri belirlendi. Bunun için önce aletin başlangıç dozu ayarlandı. Ozonlama süresince reaktörden çıkan yani tüketilmeyen ozon miktarı da bölüm 3.2.2.'de anlatıldığı şekilde tayin edildi. Aletin ürettiği ozon miktarından tüketilmeyen ozon miktarı çıkarılarak, reaktörde tüketilen ozon miktarı saptandı. Şekil 4.4.'de benzoik asit için, şekil 4.5.'de p-krezol için ve şekil 4.6.'da 8-HK için farklı dozlardaki ozon tüketimleri verilmektedir:



Şekil 4.4. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak ozon tüketimi



Şekil 4.5. P-krezolün ozon dozuna bağlı olarak ozon tüketimi



Şekil 4.6. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak ozon tüketimi

Ozonlama sırasında belirli aralıklarla (20'şer dakika) alınan örneklerde pH değişimleri saptanmıştır. Ozonlama süresine bağlı olarak örneklerin pH değişimleri çizelge 4.1., 4.2. ve 4.3.'de verilmektedir:

Çizelge 4.1. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak pH değişimi

Ozon dozu (mg/dk)	5	10	15	20
Ozonlama süresi (dk)				
0	3.51	3.51	3.51	3.51
20	3.34	3.26	3.21	3.19
40	3.26	3.18	3.03	3.02
60	3.19	3.11	2.98	2.95
80	3.15	2.96	2.91	2.90

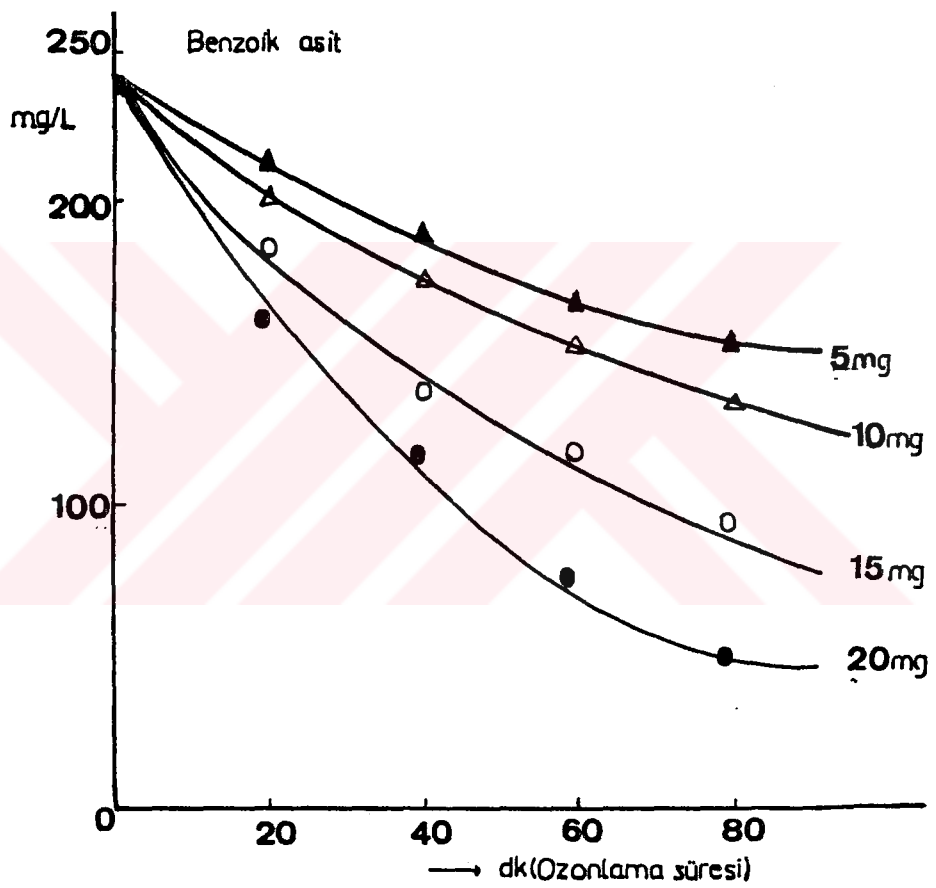
Çizelge 4.2. P-krezolün ozon dozuna bağlı olarak pH değişimi

Ozon dozu (mg/dk)	5	10	15	20
Ozonlama süresi (dk)				
0	6.85	6.85	6.85	6.85
20	4.26	4.19	3.71	3.52
40	4.06	3.76	3.55	3.35
60	3.97	3.55	3.30	3.26
80	3.90	3.46	3.22	3.21

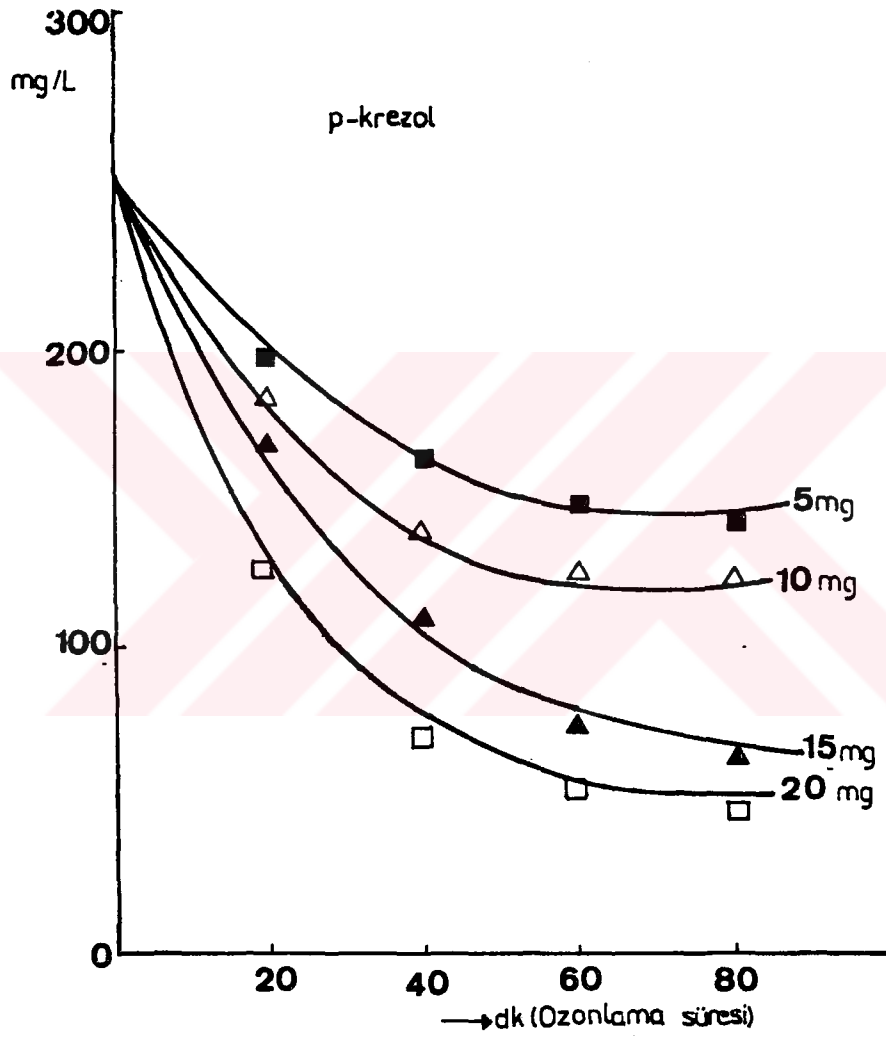
Çizelge 4.3. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak pH değişimi

Ozon dozu (mg/dk)	5	10	15	20
Ozonlama süresi (dk)				
0	6.54	6.54	6.54	6.54
20	3.79	3.69	3.65	3.63
40	3.11	3.03	3.00	2.98
60	3.05	3.01	2.98	2.96
80	3.00	2.99	2.95	2.94

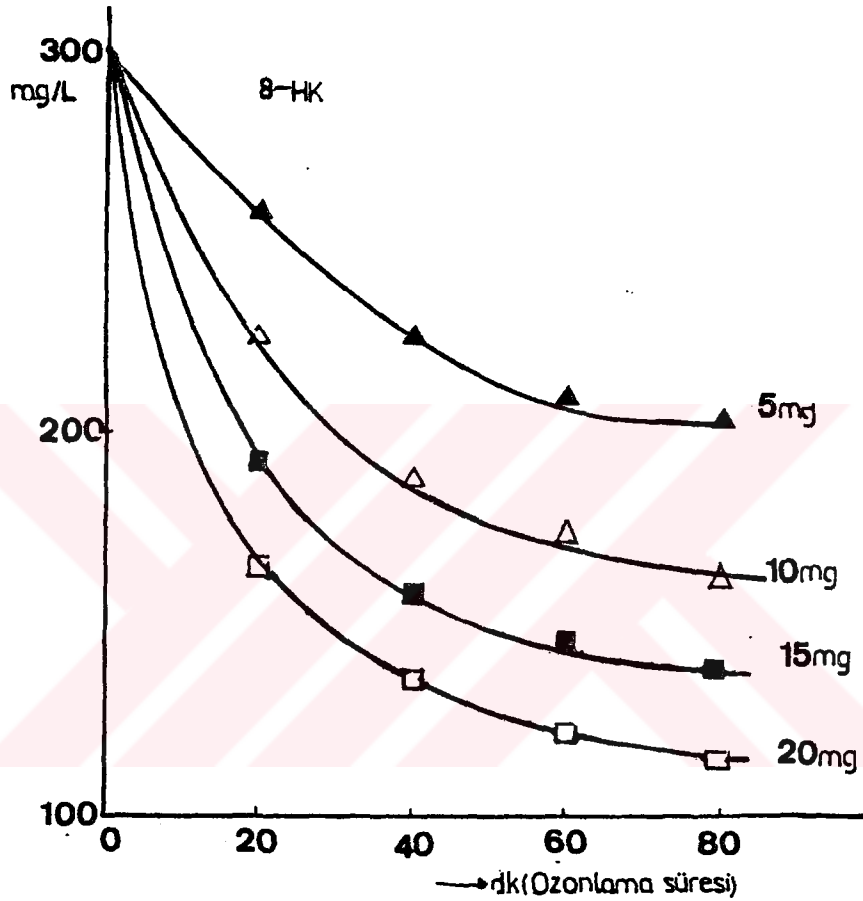
Ozonlanmış örneklerin parçalanma sonunda, kirlilik yükündeki azalma miktarlarını tayin etmek amacıyla sudaki kirlilik seviyesi hakkında fikir veren COD, BOD₅ gibi tayinler yapılmıştır. Ozonlama süresine bağlı olarak örneklerin kimyasal oksijen istemlerindeki azalma miktarları farklı dozlar için şekil 4.7, 4.8. ve 4.9.'da gösterilmektedir:



Şekil 4.7 : Benzoik asit'in ozon dozuna bağlı olarak COD değişimi



Şekil 4.8: p-krezolün ozon dozuna bağlı olarak COD değişimi



Şekil 4.9. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak COD değişimi

Örneklerin biyolojik parçalanabilirliklerini tayin etmek için ozonlama sırasında belirli aralıklarla alınan numunelerin BOD₅ değerleri, COD değerlerine oranlandı. Farklı dozlar için elde edilen değerler, ozonlanma süresine karşı çizelge 4.4., 4.5. ve 4.6.'da verilmektedir:

Çizelge 4.4. Benzoik asitin ozon dozuna bağlı olarak biyolojik parçalanırlığı (BOD₅/COD oranı)'nın ozonlama süresine karşı değişimi

Ozon dozu (mg/dk)	5	10	15	20
Ozonlama süresi (dk)				
0	0.077	0.077	0.077	0.077
20	0.118	0.130	0.210	0.385
40	0.179	0.246	0.323	0.526
60	0.268	0.348	0.445	0.738
80	0.326	0.410	0.720	0.983

Çizelge 4.5. F-krezolün ozon dozuna bağlı olarak biyolojik parçalanırlığı (BOD₅/COD oranı)'nın ozonlama süresine karşı değişimi

Ozon dozu (mg/dk)	5	10	15	20
Ozonlama süresi (dk)				
0	0.066	0.066	0.066	0.066
20	0.073	0.098	0.126	0.250
40	0.089	0.183	0.269	0.346
60	0.156	0.215	0.372	0.425
80	0.227	0.260	0.494	0.530

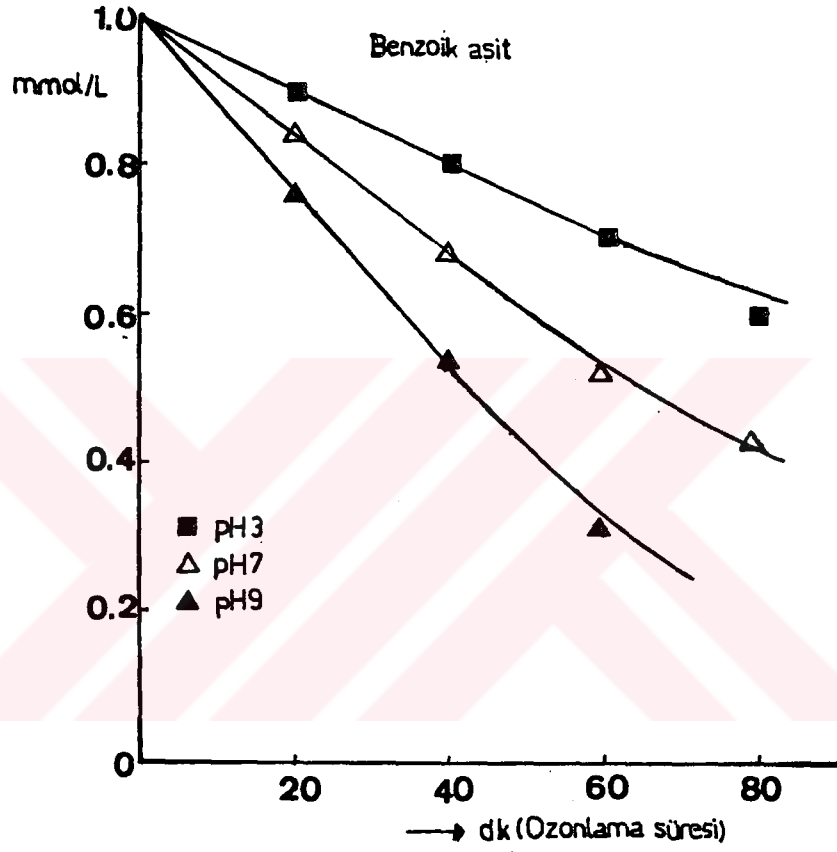
Çizelge 4.6. 8-HK'nin ozon dozuna bağlı olarak biyolojik parçalanırlığı (BOD₅/COD oranı)'nın ozonlama süresine karşı değişimi

Ozon dozu (mg/dk)	5	10	15	20
Ozonlama süresi (dk)				
0	0.012	0.012	0.012	0.012
20	0.027	0.032	0.072	0.165
40	0.038	0.050	0.110	0.278
60	0.043	0.053	0.228	0.320
80	0.051	0.058	0.386	0.428

4.1.2. Model Maddenin Parçalanmasının Sabit Ozon Dozunda pH'a Bağlılığı

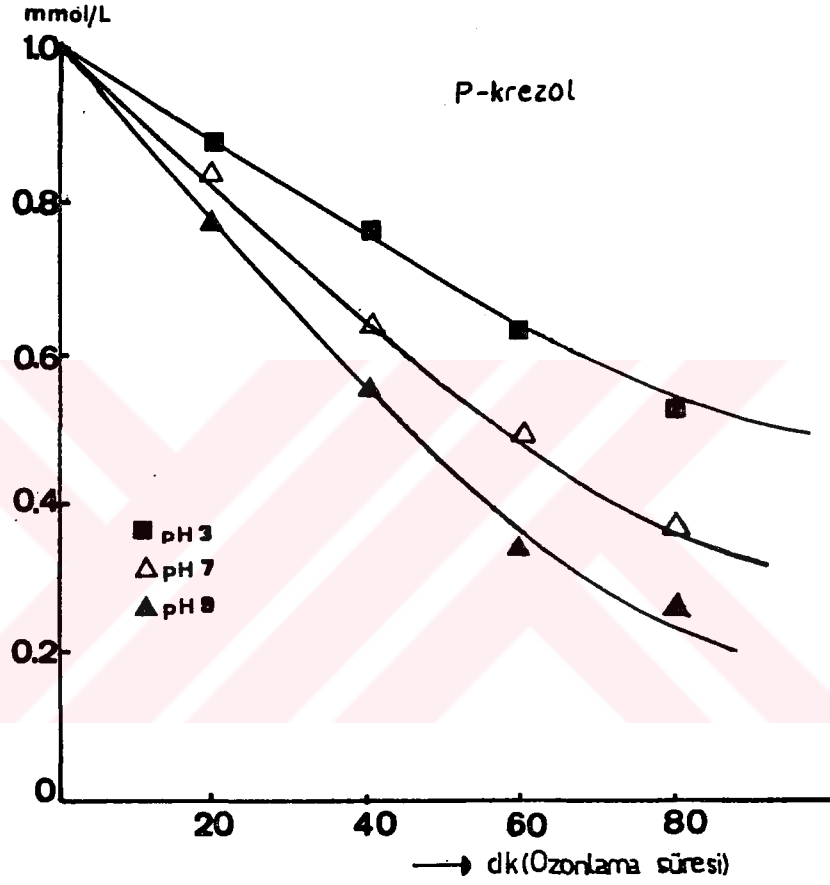
Çalışılan model bileşiklerin başlangıç pH'ları değiştirilerek, ortamın pH'nın sabit ozon dozunda (10 mg O₃/dk) parçalanma üzerine etkisi incelendi. Başlangıç pH'ları 0.1 N NaOH ve 0.1 N H₂SO₄ ile ayarlandı. Asit, baz ve nötr ortamlarda belirlenen parçalanma miktarları şekil 4.10., 4.11. ve 4.12.'de gösterilmektedir:

Benzoik asitin farklı başlangıç pH'ları için, 10 mg O₃/dk sabit ozon dozunda belirlenen parçalanma miktarları şekil 4.10.'da verilmektedir:



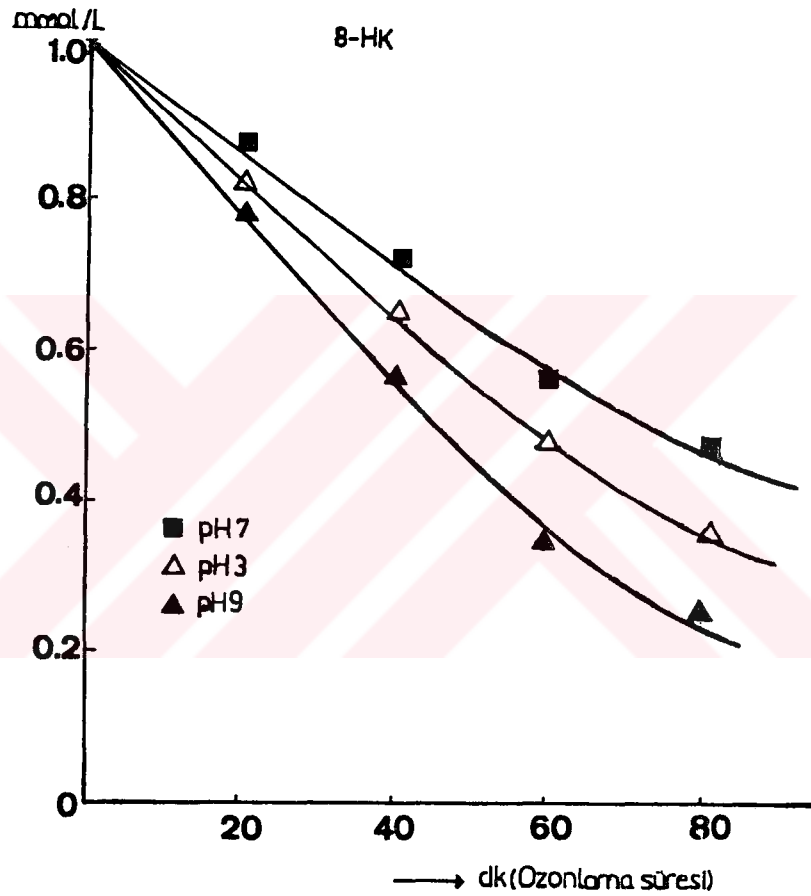
Şekil 4.10. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak parçalanması

10 mg O₃/dak sabit ozon dozunda, p-krezolün farklı başlangıç pH'ları için belirlenen parçalanma miktarları şekil 4.11.'de verilmektedir:



Şekil 4.11. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak parçalanması

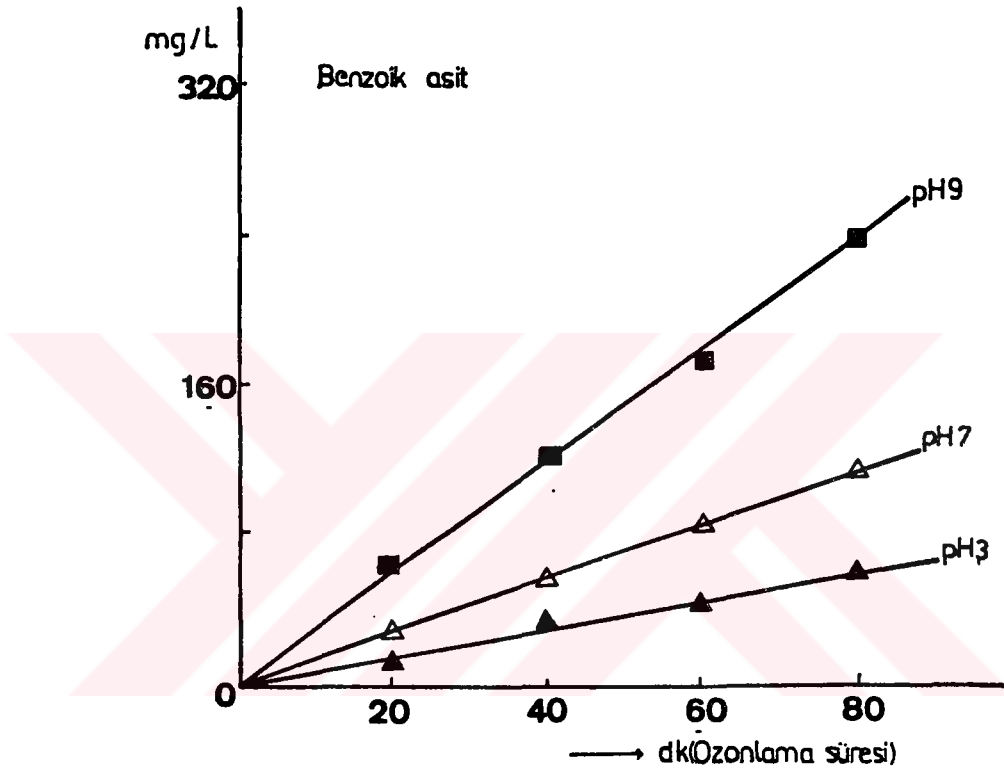
8-HK'nin üç farklı başlangıç pH'ı için, sabit ozon dozunda (10 mg O₃/dak) belirlenen parçalanma miktarları şekil 4.12'de verilmektedir:



Şekil 4.12. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak parçalanması

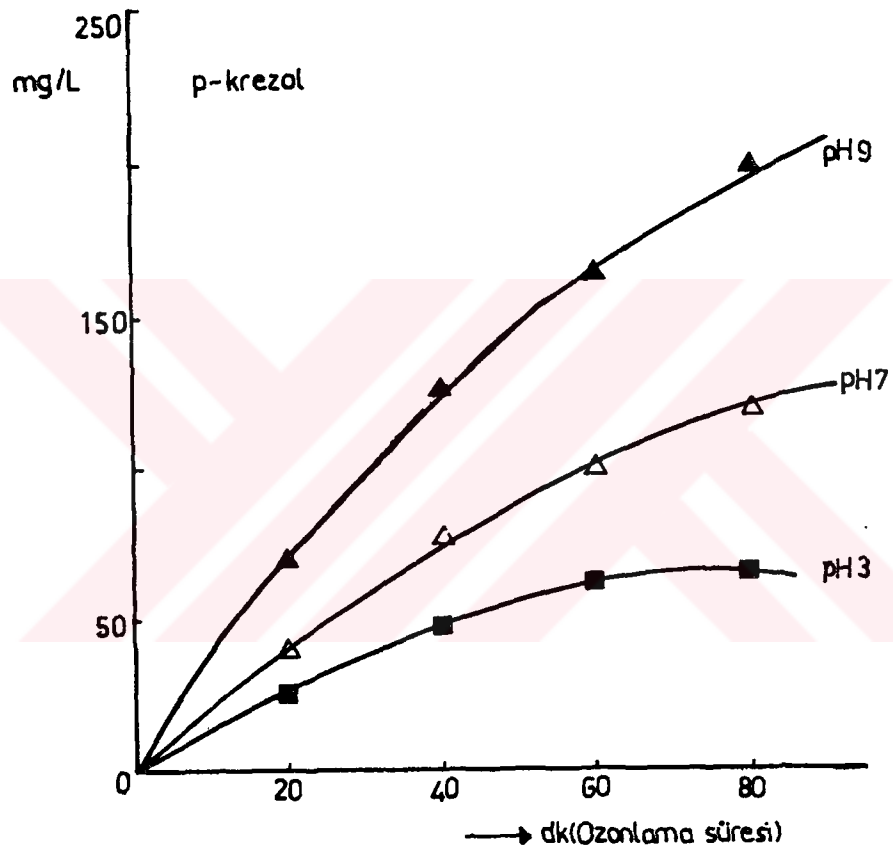
Bileşiklerin ortamın pH değişimine bağlı olarak ozon tüketimleri 10 mg O₃/dak sabit ozon dozunda farklı başlangıç pH'ları için ayrı ayrı hesaplandı. Ozon tüketiminin hesabı bölüm 4.1.1.'de farklı ozon dozları için anlatıldığı gibi yapıldı. Ozonlama süresine karşı ozon tüketimleri şekil 4.13., 4.14. ve 4.15.'de verilmektedir:

Benzoik asitin pH 3, pH 7 ve pH 9'da, 10 mg O₃/dak ozon dozunda belirlenen ozon tüketimi şekil 4.13.'de verilmektedir:



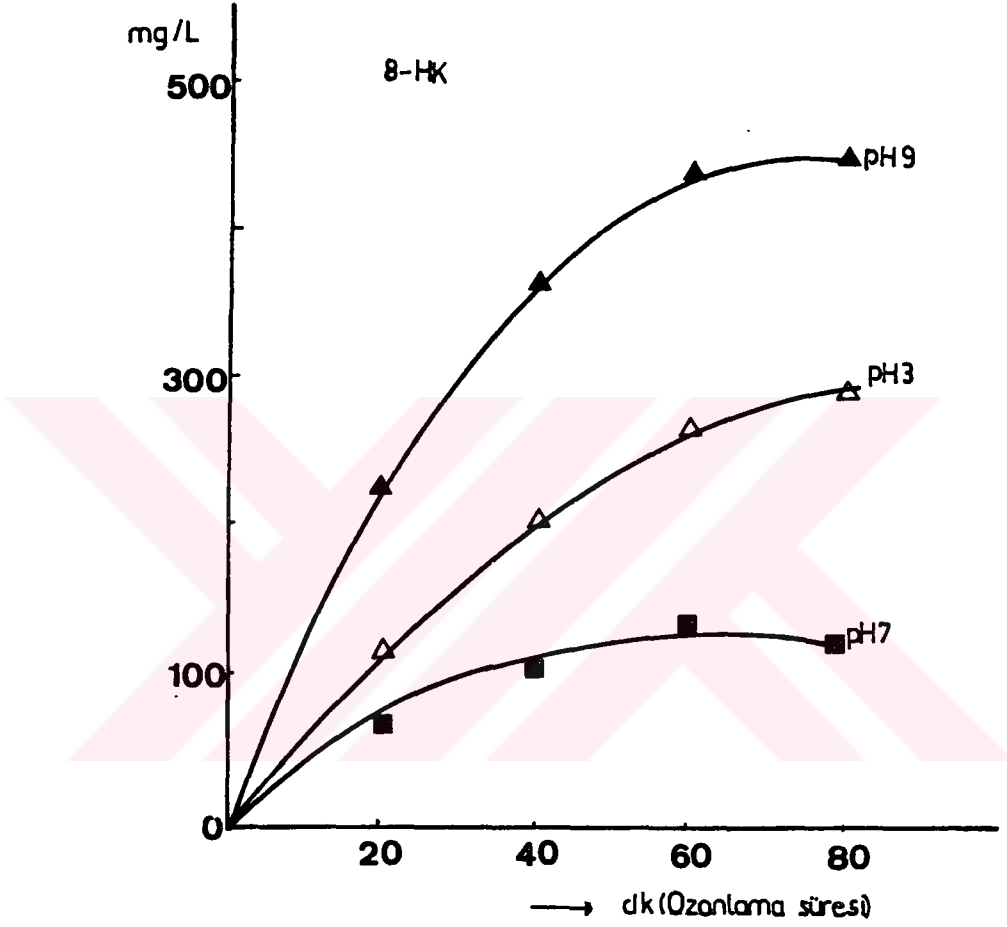
Şekil 4.13. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak ozon tüketimi

P-krezolün farklı başlangıç pH'larında sabit ozon dozunda (10 mg O₃/dak) belirlenen ozon tüketimi şekil 4.14.'de verilmektedir:



Şekil 4.14. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak ozon tüketimi

8-HK'nin 10 mgO₃/dak sabit ozon dozunda farklı başlangıç pH'ları için belirlenen ozon tüketimi şekil 4.15.'de verilmektedir:



Şekil 4.15. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak ozon tüketimi

Ozonlama sırasında belirli aralıklarla alınan örneklerin pH değişimleri, ortamın pH 'na bağlı olarak ozonlama süresine karşı saptandı (Çizelge 4.7., 4.8. ve 4.9.):

Çizelge 4.7. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak pH değişimi

Ortamın pH'sı	3.00	7.00	9.00
Ozonlama süresi (dk)			
0	3.00	7.00	9.00
20	2.98	3.40	3.58
40	2.96	3.24	3.05
60	2.94	3.07	3.01
80	2.93	2.99	3.00

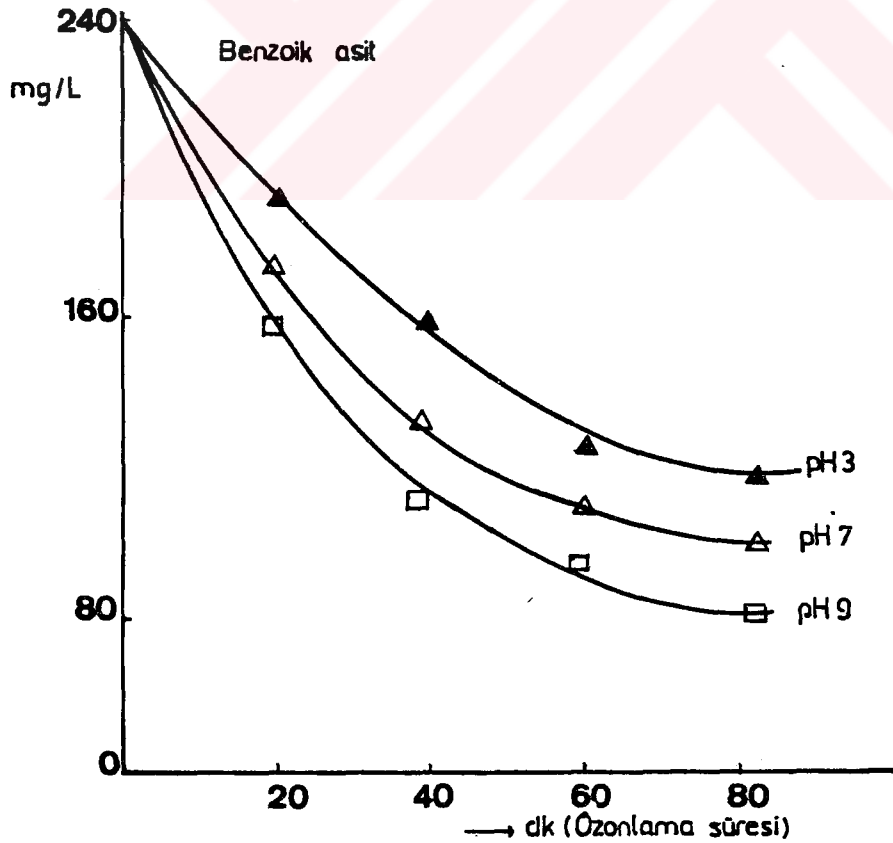
Çizelge 4.8. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak pH değişimi

Ortamın pH'sı	3.00	7.00	9.00
Ozonlama süresi (dk)			
0	3.00	7.00	9.00
20	2.89	4.19	5.97
40	2.86	3.76	4.77
60	2.83	3.55	4.04
80	2.74	3.46	3.97

Cizelge 4.9. 8-HK'nin ortamın pH'na bağı olarak pH değışimleri

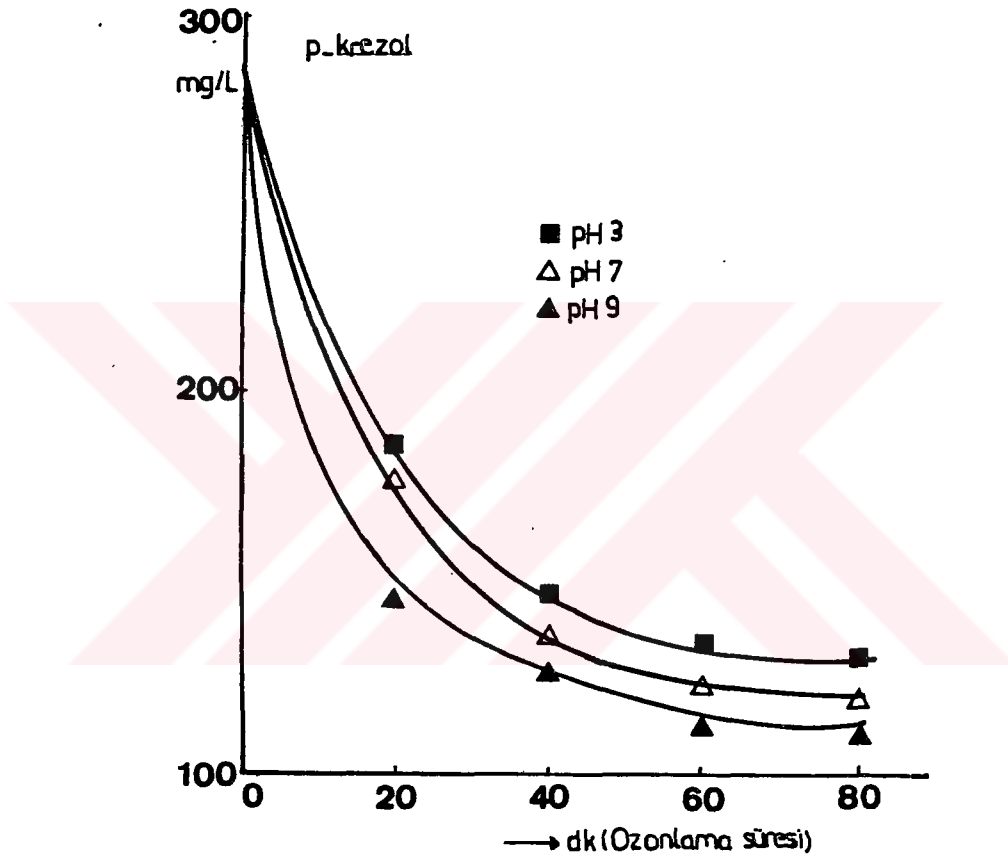
Ortamın pH'sı	3.00	7.00	9.00
Ozonlama süresi (dk)			
0	3.00	7.00	9.00
20	2.97	3.60	6.48
40	2.94	3.38	5.36
60	2.88	3.43	4.97
80	2.82	3.41	3.73

Farklı ortamlarda ozonlama sonunda örneklerin kirlilik yükündeki azalmayı belirlemek için yapılan COD tayinlerinin sonuçları şekil 4.16., 4.17. ve 4.18.'de verilmektedir:



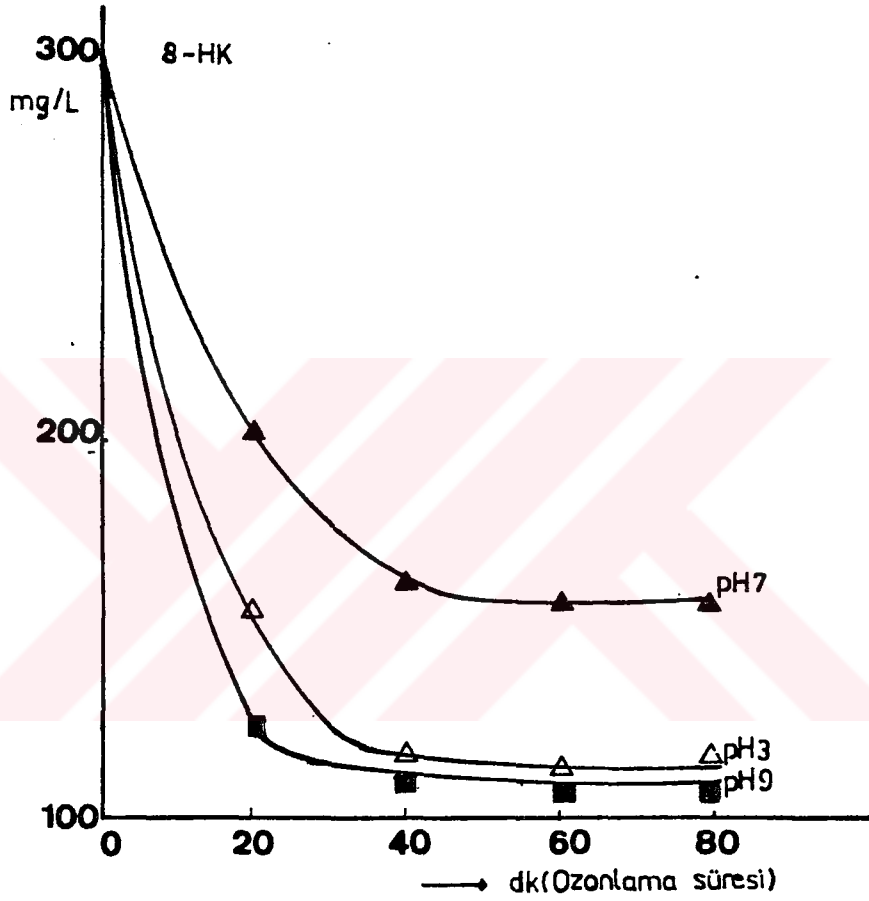
Şekil 4.16 :Benzoik asitin ortamın pH'na bağı olarak COD değışimi

P-krezolün farklı başlangıç pH'larında 10 mg O₃/dak sabit dozda ozonlanması sırasında alınan örneklerin COD değişimleri şekil 4.17.'de verilmektedir:



Şekil 4.17. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak COD değişimi

8-Hidroksi kinolinin farklı başlangıç pH'larında, 10 mg O₃/dak sabit ozon dozunda ozonlanması sırasında alınan örneklerin COD değişimleri şekil 4.18.'de verilmektedir:



Şekil 4.18. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak COD değişimi

Manometrik olarak tayin edilen BOD₅ değerleri, COD değerlerine oranlanarak farklı başlangıç pH'larında ozonlanan örneklerin biyolojik parçalanabilirlikleri belirlendi. Örneklerin TOC analizörü ile tayin edilen TOC değerleri ile biyolojik parçalanabilirlikleri, ozonlama süresine karşı çizelge 4.10., 4.11. ve 4.12.'de verilmektedir:

Çizelge 4.10. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak TOC değişimi ve biyolojik parçalanabilirliği (BOD₅/COD)

pH 3.00	TOC (mg/L)	BOD ₅ /COD
Ozonlama süresi (dk)		
0	62.0	0.077
20	57.2	0.130
40	55.3	0.246
60	48.0	0.348
80	45.2	0.410

pH 7.00	TOC (mg/L)	BOD ₅ /COD
Ozonlama süresi (dk)		
0	60.2	0.090
20	56.3	0.180
40	48.6	0.306
60	47.8	0.350
80	47.0	0.430

pH 9.00	TOC	BOD ₅ /COD
	(mg/L)	
Ozonlama süresi (dk)		
0	58.0	0.110
20	55.1	0.198
40	47.6	0.348
60	46.4	0.435
80	46.1	0.450

Çizelge 4.11. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak TOC değişimi ve biyolojik parçalanabilirliği (BOD₅/COD)

pH 3.00	TOC	BOD ₅ /COD
	(mg/L)	
Ozonlama süresi (dk)		
0	67.30	0.069
20	60.45	0.064
40	48.3	0.093
60	59.15	0.100
80	55.29	0.123

pH 7.00	TOC	BOD ₅ /COD
	(mg/L)	
Ozonlama süresi (dk)		
0	65.0	0.066
20	55.3	0.098
40	54.3	0.183
60	48.9	0.398
80	45.2	0.260

pH 9.00	TOC	BOD ₅ /COD
	(mg/L)	
Ozonlama süresi (dk)		
0	68.00	0.089
20	55.90	0.113
40	54.08	0.210
60	54.00	0.225
80	50.68	0.280

Çizelge 4.12. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak TOC değişimi ve biyolojik parçalanabilirliği (BOD₅/COD)

pH 3.00		TOC	BOD ₅ /COD
		(mg/L)	
Ozonlama süresi (dk)			
0		108.0	0.045
20		94.7	0.080
40		91.2	0.100
60		87.7	0.120
80		77.5	0.160

pH 7.00		TOC	BOD ₅ /COD
		(mg/L)	
Ozonlama süresi (dk)			
0		118.0	0.012
20		112.8	0.032
40		107.7	0.050
60		103.5	0.053
80		102.3	0.058

pH 9.00		TOC	BOD ₅ /COD
		(mg/L)	
Ozonlama süresi (dk)			
0		94.0	0.078
20		81.5	0.093
40		80.2	0.170
60		79.7	0.190
80		79.0	0.230

Model bileşikler için toksisite testleri, farklı pH'larda ozonlama sırasında alınan örneklerde yapıldı (Çizelge 4.13., 4.14. ve 4.15.):

Çizelge 4.13. Benzoik asitin ortamın pH'na bağlı olarak % toksisite değişimi

pH	3.00	7.00	9.00
Ozonlama süresi (dk)			
0	25.0	20.0	22.0
20	21.0	15.0	13.0
40	18.0	10.0	8.0
60	12.0	8.0	4.6
80	9.0	5.0	1.8

Çizelge 4.14. P-krezolün ortamın pH'na bağlı olarak % toksisite değişimi

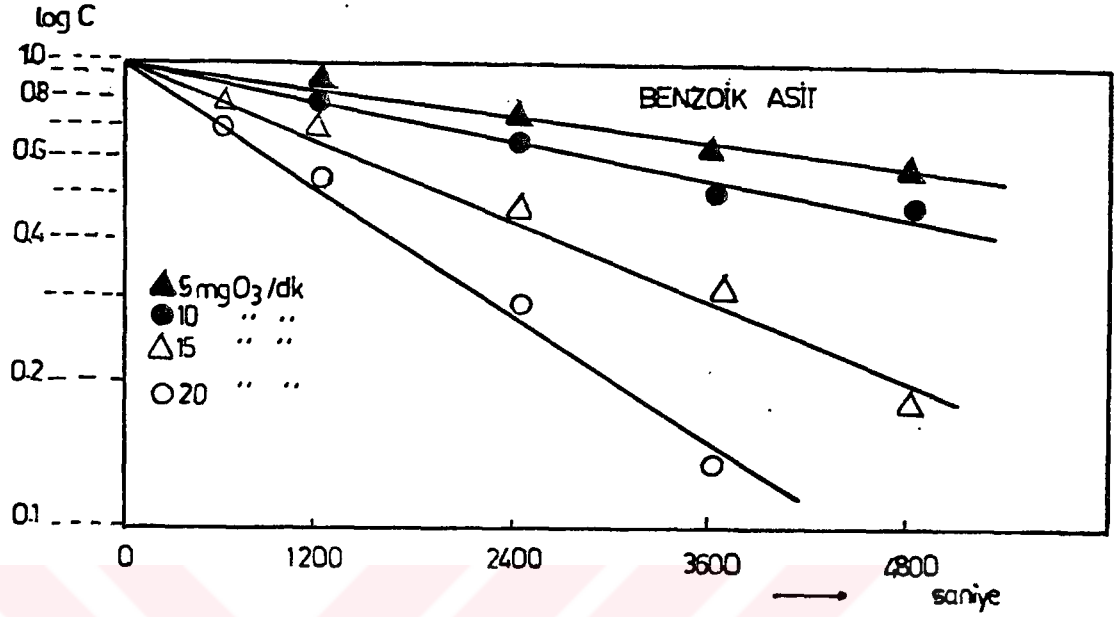
pH	3.00	7.00	9.00
Ozonlama süresi (dk)			
0	65.0	50.0	41.0
20	61.4	40.0	32.2
40	51.1	36.0	25.0
60	48.5	26.0	17.1
80	40.7	24.3	13.2

Çizelge 4.15. 8-HK'nin ortamın pH'na bağlı olarak % toksisite değişimi

pH	3.00	7.00	9.00
Ozonlama süresi (dk)			
0	60.0	78.0	51.5
20	58.6	76.0	42.3
40	46.5	63.4	34.8
60	33.2	50.0	27.1
80	28.5	45.6	15.0

4.1.3. Benzoik asit, P-krezol ve 8-HK'nin Ozonla Reaksiyon Derecesi ve Hız Sabitlerinin Tayini

Benzoik asitin ozonla parçalanma mekanizmasını belirleyebilmek için önce maddenin başlangıç konsantrasyonu 1.0 mmol/L olarak sabit tutuldu. Tepkimenin ozon dozuna bağlılığı ozon dozları değiştirilerek saptanmaya çalışıldı. Bu amaçla ozon dozları sırasıyla 5, 10, 15 ve 20 mg O₃/dk olacak şekilde alındı. Her ozon dozu için, benzoik asitin konsantrasyon değişimi spektrofotometrik olarak belirlendi. Benzoik asit için 230'nm de çalışıldı. Zamana (t) karşı, konsantrasyon (C) grafikleri çizildi. Bu grafiklerin doğrusal çıkması reaksiyon derecesinin sıfırdan farklı olduğunu göstermektedir. Daha sonra log C ve t, 1/C ve t grafikleri çizildi. Log C ve t grafiğinin doğrusal olması benzoik asitin ozonla parçalanmasının 1. dereceden olduğunu göstermektedir (Şekil 4. 19):

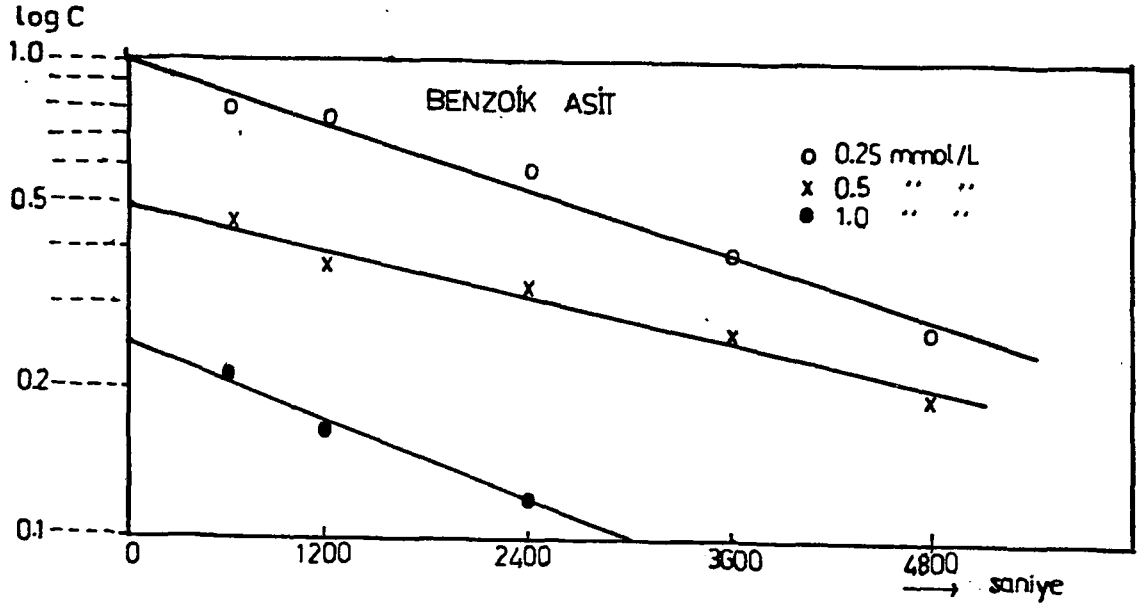


Şekil 4.19. Benzoik asitin farklı ozon dozlarında, zamana karşı logC grafiği (C:mmol/L)

Benzoik asitin şekil 4.19'deki grafikten her bir konsantrasyona için belirlenen hız sabitleri aşağıda verilmektedir:

Ozon dozu (mg O ₃ /dk)	k (s ⁻¹)x10 ⁻⁴ (hız sabitleri)
5	1.08
10	1.33
15	1.66
20	2.00

İkinci olarak, ozon dozu sabit tutulup, benzoik asitin konsantrasyonları değiştirilerek tepkime hızının organik maddenin derişimine bağılılığı araştırıldı. Bunun için benzoik asitin farklı derişimlerde (0.25, 0.5 ve 1.0 mmol/L) çözeltileri, sabit ozon dozunda (5 mg O₃/dk) ozonlandı. LogC ve t grafiğinden (Şekil 4.20) doğruların eğimi hesaplandı :

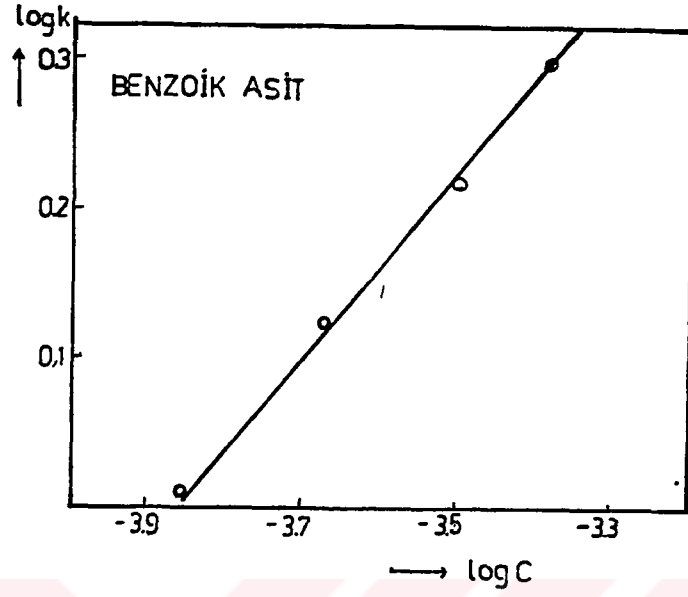


Şekil 4.20. Farklı benzoik asit konsantrasyonlarında, zamana karşı logC değişimi

Doğruların eğiminden sabit ozon dozunda benzoik asitin parçalanma hız sabitleri belirlendi:

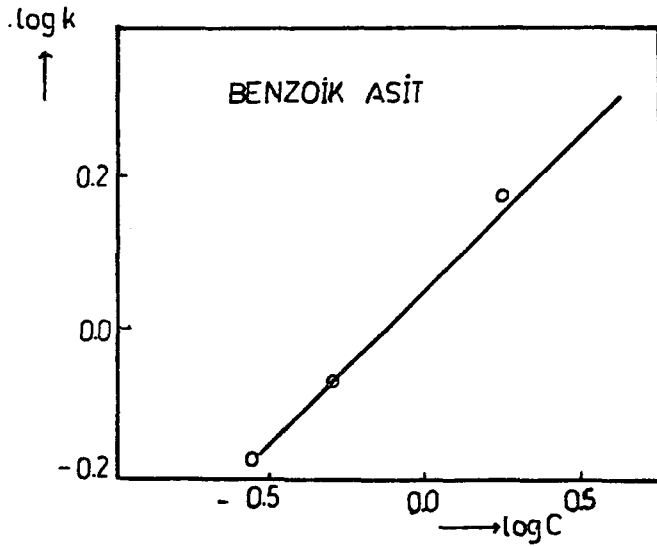
Benzoik asit (mmol/L)	$k(s^{-1}) \times 10^{-4}$ (hız sabitleri)
0.25	0.66
0.50	0.83
1.00	1.83

Benzoik asitin sabit ozon dozunda, farklı derisimlerde logC ve t grafiğinin doğrusal çıkması, benzoik asit ozon tepkimesinin benzoik asitin derisimine bağlı olarak da reaksiyonun 1. dereceden olduğunu göstermektedir. Hoigne ve Bader yaptıkları çalışmada 1. dereceden tepkimenin hız sabitlerinin logaritmasının, maddenin konsantrasyonunun logaritmasına karşı grafiğe geçirilmesi ile bir doğru elde edildiğini gözlemişlerdir (HOIGNE ve BADER, 1983). Benzer şekilde benzoik asitin farklı ozon dozlarında, logC ve t grafiğinden belirlenen 1. dereceden tepkimenin hız sabitlerinin logaritmasına karşı, ozon derisiminin logaritması grafiğe alındı ve bir doğru elde edildi. Böylece ozonun farklı derisimleri için benzoik asit ozon tepkimesinin 1. dereceden olduğu bu şekilde de ispatlandı (Şekil 4.21):



Şekil 4.21. Benzoik asitin farklı ozon dozlarında, $\log C$ 'ye karşı $\log k$ grafiği

Aynı şekilde benzoik asitin farklı derişimleri için $\log C$ ve t grafiğinden belirlenen hız sabitlerinin logaritması, benzoik asitin farklı derişimlerinin logaritmasına karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.22):

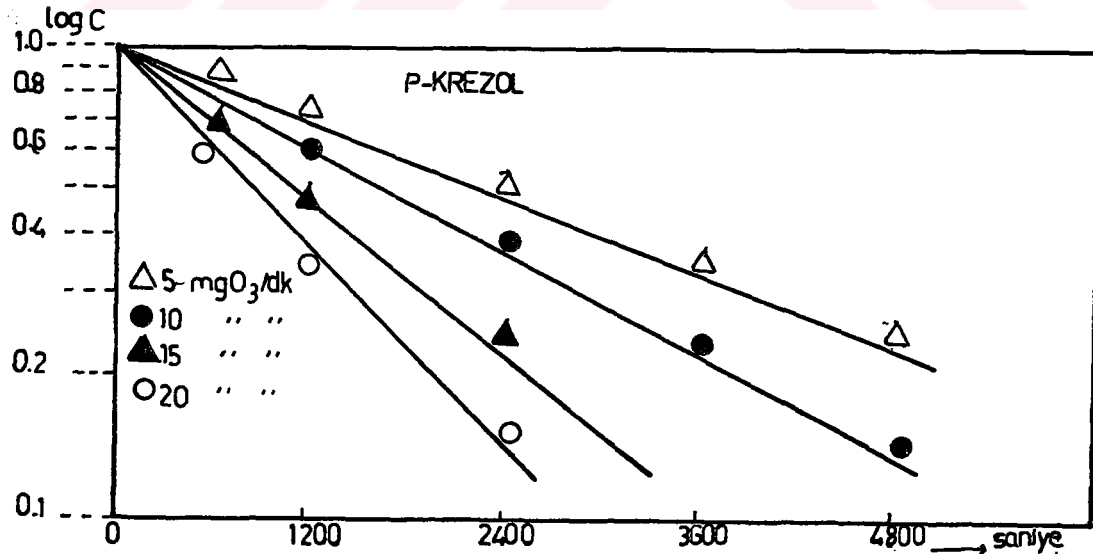


Şekil 4.22. Benzoik asitin farklı derişimleri için, $\log C$ 'ye karşı $\log k$ grafiği

Bu grafiğin doğrusal çıkması da benzoik asit ozon tepkimesinin, benzoik asit derişimlerine bağı olarak 1.dereceden olduğunu ispatlamaktadır.

Benzoik asitin ozonla parçalanma reaksiyonunun hem ozon derişimine, hem de madde derişimine bağı olarak 1.dereceden olması, benzoik asitin ozonla tepkimesinin toplam derecesinin 2.dereceden olduğunu gösterir. Benzoik asit ve ozon arasındaki 2. dereceden tepkimenin hız sabiti Hoigne ve Bader'in yaptıkları çalışma örnek alınarak, 1.dereceden tepkimenin hız sabitlerinin benzoik asitin başlangıç derişimlerine oranlanmasıyla bulundu (HOIGNE ve BADER, 1983). Benzoik asitin bu şekilde bulunan 2.dereceden reaksiyon hız sabiti $0.160 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 'dir.

P-krezolün ozonla parçalanma hızını belirlemek için zamana bağı olarak p-krezolün konsantrasyon değışimi spektrofotometrik olarak 289 nm'de belirlendi. Reaksiyon derecesini belirlemek için ise benzoik asit için yapılan işlemler aynı şekilde p-krezol için de denendi. P-krezolün sabit başlangıç konsantrasyonunda (1 mmol/L), farklı ozon dozlarında (5, 10, 15 ve 20 mg O_3 /dk), logC ve t grafiğinin doğrusal çıkması reaksiyonun 1.dereceden olduğunu göstermektedir (Şekil 4.23) :

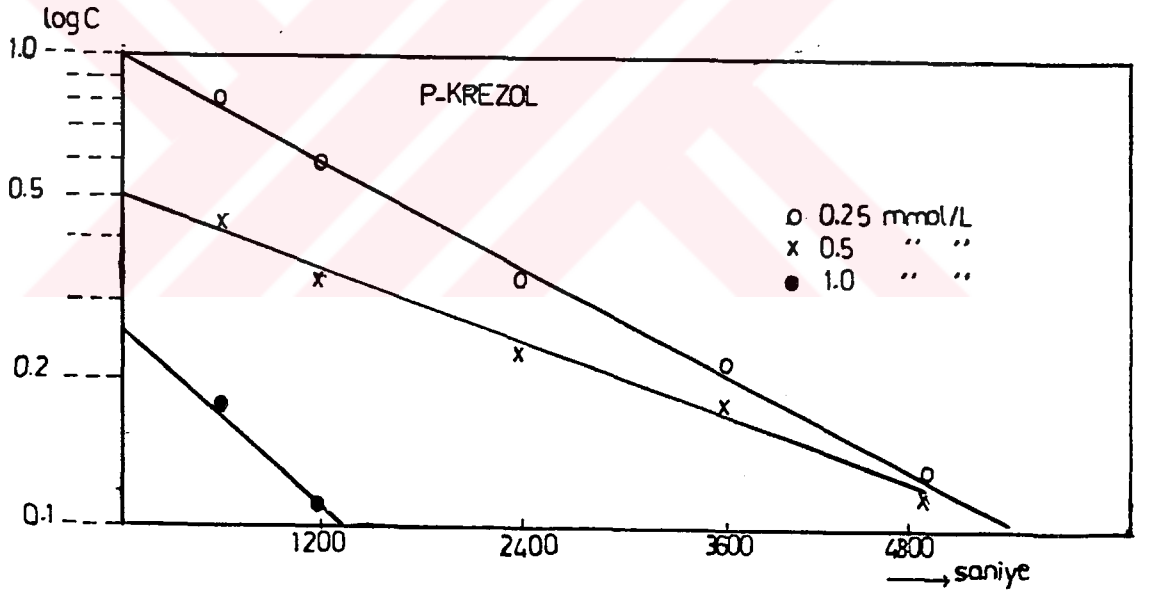


Şekil 4.23. P-krezolün farklı ozon dozlarında, zamana karşı logC değışimi

P-krezolün ozonla parçalanma tepkimesinin hız sabitleri doğruların eğiminden hesaplandı:

Ozon dozu (mg O ₃ /dk)	k(s ⁻¹)x10 ⁻⁴ (hız sabitleri)
5	1.66
10	1.72
15	1.92
20	2.06

P-krezolün ozonla parçalanma hızının, p-krezolün derişimine (0.25, 0.5 ve 1.0 mmol/L)bağılılığı sabit ozon dozunda(5 mg O₃/dk) araştırıldı. Deneysel verilerden logC ve t grafiğı çizildi. Parçalanma tepkimesinin organik maddenin derişimine göre 1.dereceden olduğu görüldü (Şekil 4.24):



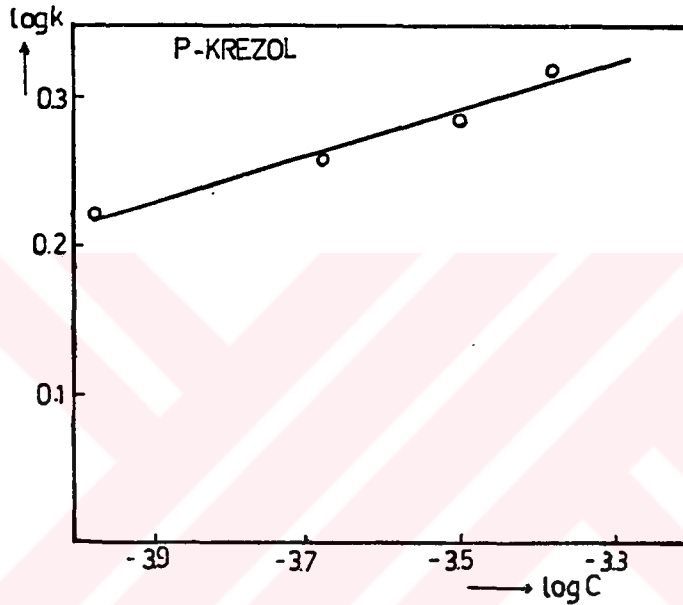
Şekil 4.24. Farklı p-krezol konsantrasyonlarında, zamana karşı logC değişimi

Farklı p-krezol konsantrasyonlarında şekil 4.35'deki grafiğten her bir konsantrasyon için doğruların eğimi hesaplandı:

p-krezol (mmol/L)	k(s ⁻¹)x10 ⁻⁴ (hız sabitleri)
0.25	1.08
0.5	1.25
1.0	3.33

Farklı p-krezol konsantrasyonlarında, p-krezol derişiminin logaritmasının zamana karşı grafiğinin doğrusal çıkması, p-krezol ozon tepkimesinin p-krezol konsantrasyon değişimine bağlı olarak da 1.dereceden olduğunu göstermektedir.

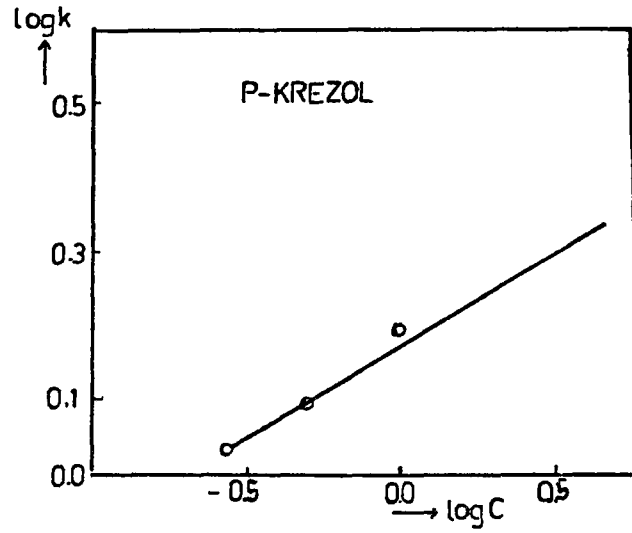
Şekil 4.23'deki grafikte doğruların eğiminden hesaplanan hız sabitlerinin logaritması alınarak, p-krezol konsantrasyonlarının logaritmasına karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.25):



Şekil 4.25. P-krezolün farklı ozon dozlarında, logC'ye karşı logk grafiği

Bu grafiğin doğrusal olması, p-krezol ozon tepkimesinin farklı ozon dozuna bağlı olarak 1.dereceden olduğunu ispatlamaktadır.

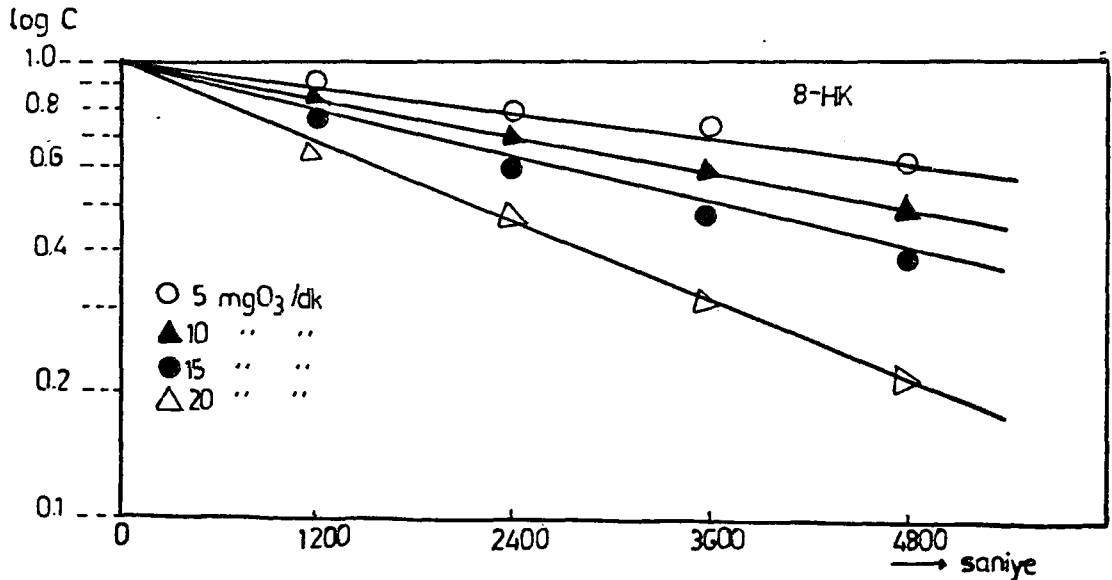
Aynı şekilde sabit ozon dozunda p-krezolün farklı konsantrasyonları için şekil 4.24'deki doğruların eğiminden hesaplanan hız sabitlerinin logaritması, p-krezolün farklı konsantrasyonlarının logaritmasına karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.26). Bu grafiğin de doğrusal çıkması, p-krezol ozon tepkimesinin sabit ozon dozunda, p-krezolün konsantrasyon değişimine bağlı olarak 1.dereceden olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.26. P-krezolün farklı derişimleri için, logC'ye karşı logk grafiği

P-krezolün ozonla parçalanma tepkimesinin toplam derecesi yukarıdaki sonuçlara göre 2.dereceden olmaktadır. Benzoik asitte hesaplandığı şekilde bulunan, p-krezolün ozonla 2.dereceden parçalanma reaksiyonunun hız sabiti $0.366 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 'dir.

8-hidroksi kinolinin ozonla parçalanma tepkimesinin derecesini belirlemek amacıyla önce 8-HK'nin konsantrasyonu sabit tutulup, ozonun konsantrasyonları değiştirildi. 8-HK'nin sabit başlangıç derişiminde (1 mmol/L), farklı ozon dozlarında (5,10,15 ve 20 mg O_3 /dk), zamanla 8-HK'nin konsantrasyon değişimi 226 nm'de belirlendi. LogC ve t grafiği şekil 4.27'de verilmektedir:

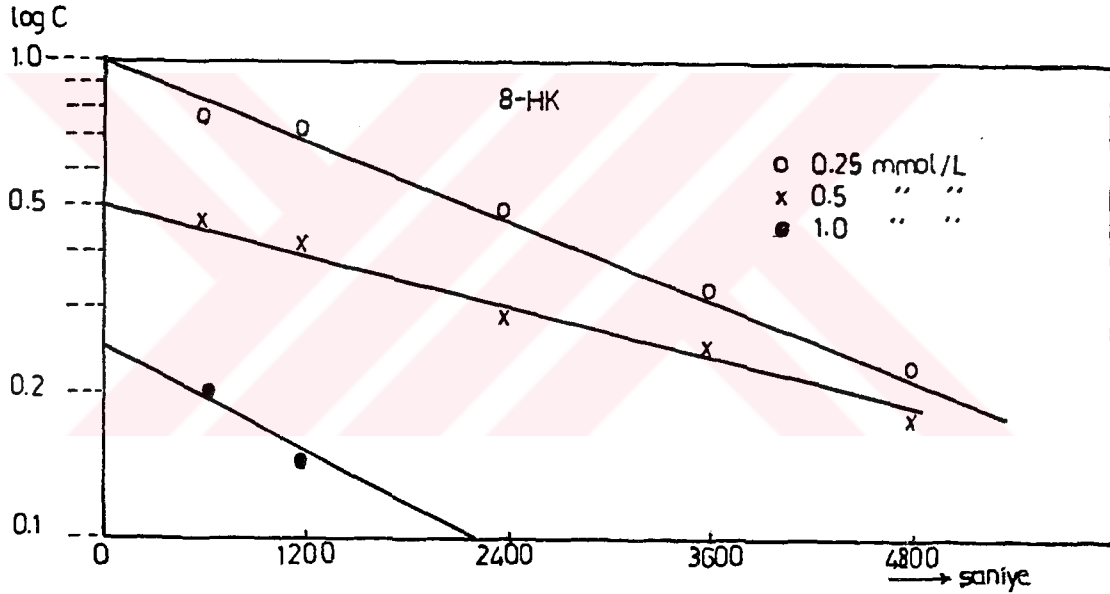


Şekil 4.27. 8-HK'nin farklı ozon dozlarında zamana karşı logC değişimi

8-HK'nin 1.dereceden olan ozonla parçalanma tepkimesinin hız sabitleri doğruların eğiminden hesaplandı:

Ozon dozu (mg O ₃ /dk)	k(s ⁻¹)x10 ⁻⁴ (hız sabitleri)
5	1.66
10	2.16
15	2.50
20	3.00

Sabit ozon dozunda (5 mgO₃/dk), 8-HK'nin farklı derişimlerine (0.25, 0.50 ve 1.0 mmol/L) bağlı olarak parçalanma hızının değişimi incelendi. Tepkime süresince 8-HK'nin konsantrasyonu 226 nm'de tayin edildi. Daha sonra logC ve t grafiği çizildi (Şekil 4.28):



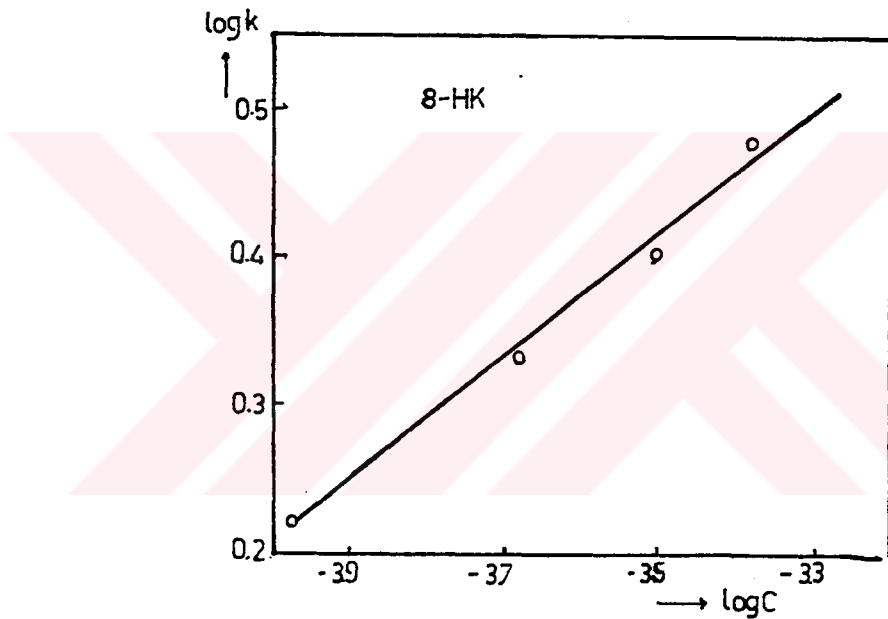
Şekil 4.28. 8-HK'nin farklı derişimleri için, zamana karşı logC değişimi

Farklı 8-HK konsantrasyonlarında, her bir konsantrasyon için hız sabiti şekil 4.28'deki doğruların eğiminden hesaplandı:

8-HK (mmol/L)	k(s ⁻¹)x10 ⁻⁴ (hız sabitleri)
0.25	0.83
0.50	1.00
1.00	2.50

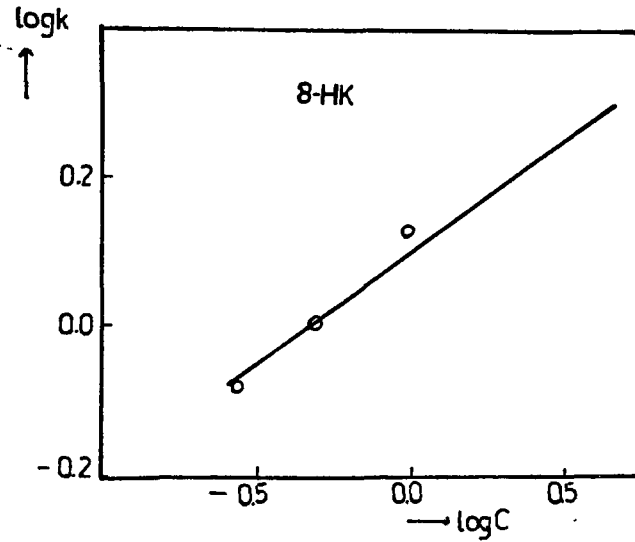
8-HK'nin farklı derişimlerinin logaritmasının zamana karşı çizilen grafiğinin doğrusal olması, 8-HK ozon tepkimesinin 8-HK konsantrasyon değişimine bağlı olarak 1.dereceden olduğunu göstermektedir.

Şekil 4.27'deki grafikte doğruların eğiminden hesaplanan hız sabitlerinin logaritması alınarak, 8-HK derişimlerinin logaritmasına karşı grafiğe geçirilerek, 8-HK ozon tepkimesinin ozonun farklı konsantrasyonlarına bağlı olarak 1.dereceden olması irdelendi (Şekil 4.29):



Şekil 4.29. 8-HK'nin farklı ozon dozlarında, logC'ye karşı logk grafiği

Bu grafiğin doğrusal olması 8-HK ile ozon tepkimesinin, farklı ozon konsantrasyonlarına bağlı olarak 1.dereceden olduğunu ispatlamaktadır. Aynı şekilde sabit ozon dozunda, farklı 8-HK konsantrasyonlarına bağlı olarak 8-HK'nin logC ve t grafiğinden belirlenen hız sabitlerinin logaritması 8-HK'nin konsantrasyonlarının logaritmasına karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.30):



Şekil 4.30. 8-HK'in farklı derişimleri için,
logC'ye karşı logk grafiği

Bu grafiğin de doğrusal çıkması, 8-HK'nin farklı derişimlerine bağlı olarak 8-HK ozon tepkimesinin 1.dereceden olduğunu ispatlamaktadır.

8-HK'in ozonla parçalanma tepkimesinin hem ozon derişimine, hem de 8-HK derişimine göre reaksiyon derecesinin 1.dereceden olması nedeniyle, 8-HK' in ozonla tepkimesinin toplam derecesi 2.dereceden olmaktadır. Reaksiyon hız sabiti $0.261 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 'dir.

4.1.4. Model Bileşiklerin Ozonla Parçalanma Ürünlerinin Tayini

Benzoik asit, p-krezol ve 8-hidroksi kinolinin sulu ortamda ozonla parçalanması sonucu oluşan parçalanma ürünleri bölüm 3.4.'de anlatıldığı şekilde gaz kromatografik yöntemlerle belirlendi.

Benzoik asit ve p-krezol için; Hewlett Packard 5840 model gaz kromatografisi ve Apiezon L kolon kullanılarak model maddeler ve parçalanma ürünlerinin alıkonma süreleri saptandı. Bu değerler standartlar için bulunan değerlerle karşılaştırıldı ve çizelge 4.16.'da verilen bileşikler belirlendi:

Çizelge 4.16. Benzoik asit ve p-krezolün ozonlandıktan sonra Gaz Kromatografisinde Apiezon L kolonu ile belirlenen ozonla parçalanma ürünleri ve alıkonma süreleri (T 180°C)

Bileşik	Alıkonma süresi (t _R) (dk)
Benzoik asit	3.63
Okzalik asit	1.40
Formik asit	0.70
P-Krezol	2.56
p-Hidroksi benzoik asit	1.78
Maleik asit	1.17
Glioksilik asit	1.55
Propiyonik asit	0.99
Glikolik asit	2.17
Asetik asit	0.76
Okzalik asit	1.40
Formik asit	0.70

P-krezolün ozonla oksidasyon ürünleri ayrıca GC/MS (gaz kromatografisi/kütle spektrometresi) kombine sisteminde belirlendi. Bu sistemde önce gaz kromatografisi ile p-krezol ve ozonla parçalanma ürünlerinin alıkonma süreleri saptandı. Daha sonra kütle spektrumları alındı. Gaz ve kütle spektrumlarından elde edilen veriler, standart maddelerin alıkonma süreleri ve kütle spektrumlarıyla karşılaştırılarak maddeler belirlendi (Çizelge 4.17).

Çizelge 4.17. GC/MS kombine sisteminde belirlenen p-krezol ve ozonla parçalanma ürünlerinin gaz kromatografisindeki alıkonma süreleri ve kütle spektrum verileri

Hewlett Packard (HP 1) metil silikon kolon, elektron iyonizasyon detektör; T₁ 30°C, t₁ 0 dak, T₂ 280 °C, t₂ 10 dak

Bileşik	t _R (dk)	Gözlenen başlıca pikler Bağıl çokluk	m/e
P-krezol	8.33	100,92,16,12,10	107,108,77,79,53
P-hidroksi benzoik asit	2.86	100,78,45,32,15	121,138,44,93,65
Propiyonik asit	3.20	100,80,58,28	74,45,73,57
Asetik asit	1.86	100,96,85	43,45,60

8-hidroksi kinolinin ozonla parçalanma ürünleri ise HP 5840 model gaz kromatografisinde, Porapak Q kolon kullanılarak tayin edildi. Bunun için bu maddelerin gaz kromatografisinde alıkonma süreleri saptandı. Bu değerler standart maddelerin alıkonma süreleri ile karşılaştırılarak çizelge 4.18.'de verilen parçalanma ürünleri belirlendi:

Çizelge 4.18. 8-HK ve ozonla parçalanma ürünlerinin GC'de Porapak Q kolonu ile belirlenen alıkonma süreleri (T 220°C)

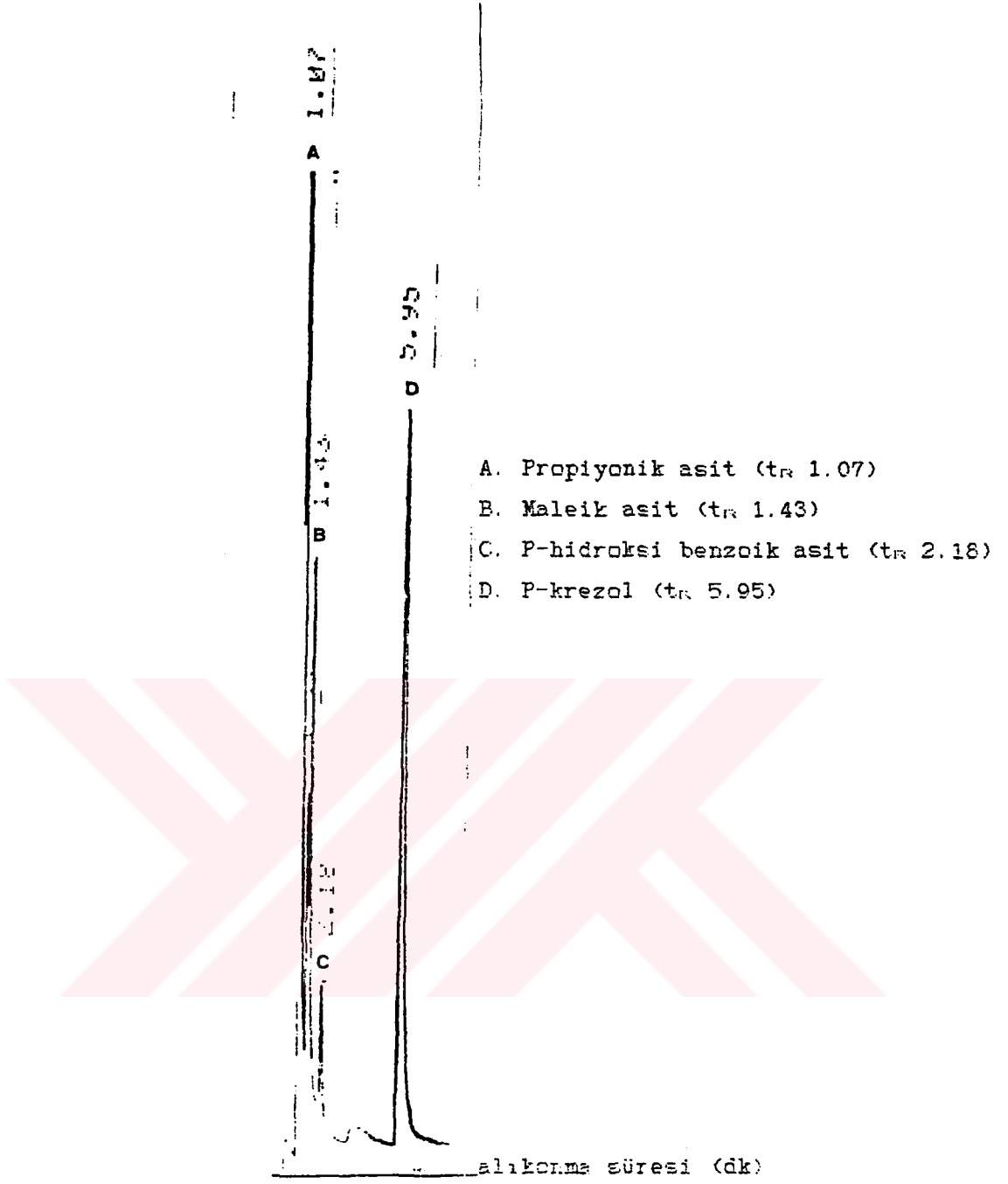
Bileşik	Alıkonma süresi (t _R) (dk)
8-hidroksi kinolin	6.20
Okzalik asit	1.29
Nikotinic asit	1.36
Glioksilik asit	1.82
Kinolik asit	8.88

4.1.5. Parçalanma Ürünlerinin Oksidasyon Hız Sabitlerinin Belirlenmesi

Benzoik asitin ozonla oksidasyonu sonucu meydana gelen ve gaz kromatografisi ile (Bölüm 4.1.4, çizelge 4.16) belirlenen okzalik ve formik asitlerin oksidasyon hızları spektrofotometrik olarak belirlenmeye çalışıldı. Ancak zamanla konsantrasyon değişimi gözlenmedi. Bunun nedeni okzalik ve formik asitin, ozonla reaksiyon ilgilerinin çok az olması ve oksidasyon hızlarının çok düşük olmasıdır. Aynı sonucu Hoigne ve Razumovskii yaptıkları çalışmalarda gözlemişlerdir (HOIGNE ve RADER, 1983; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984).

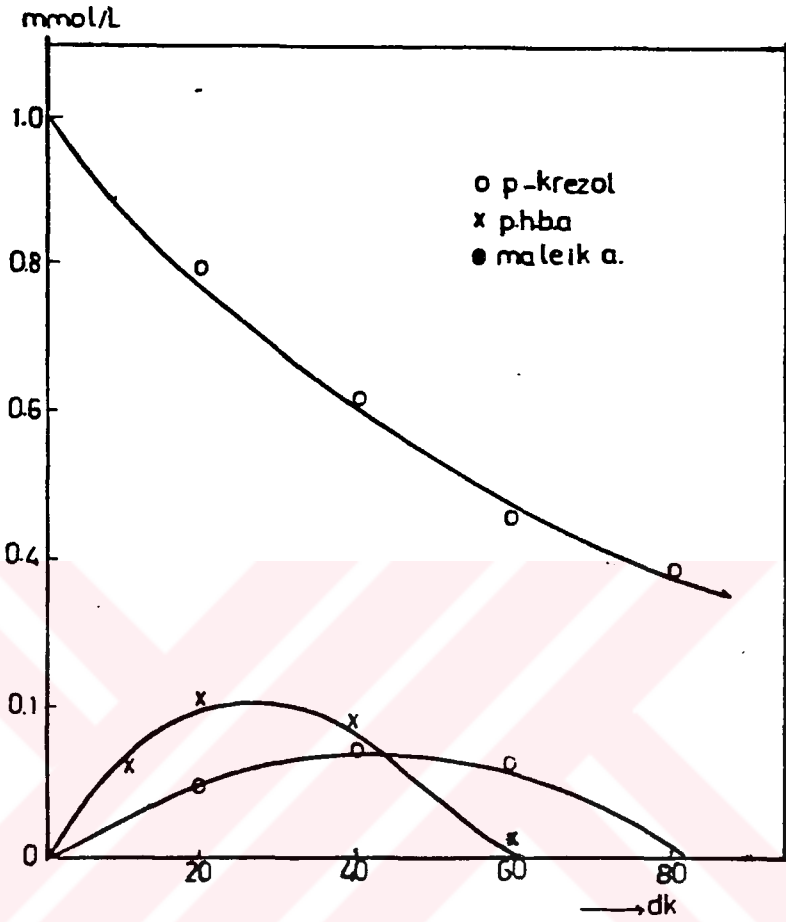
P-krezolün ozonla oksidasyon sonucu, p-hidroksi benzoik asit ve maleik asit gibi parçalanma ürünlerine dönüştüğü saptandı. Bu ürünlerin oluşma miktarları ve hız sabitleri belirlendi. 1 mmol/l p-krezolün, 10 mg O₃/dk. dozda, başlangıç pH'sı 7'de ozonlaşması sırasında oluşan parçalanma ürünleri, bölüm 3.4'de çizelge 3.2'de p-krezolün nicel analizinde kullanılan çalışma programında anlatıldığı şartlarda nicel olarak saptandı.

Propiyonik asitin iç standart olarak kullanıldığı tayinde p-hidroksi benzoik asit ve maleik asit için elde edilen kromatogram şekil 4.31'de verilmektedir:



Şekil 4.31. P-krezolün ozonla reaksiyon ürünlerinden maleik ve p-hidroksi benzoik asitin, p-krezolün GC ile nicel tayininde belirlenen pikleri

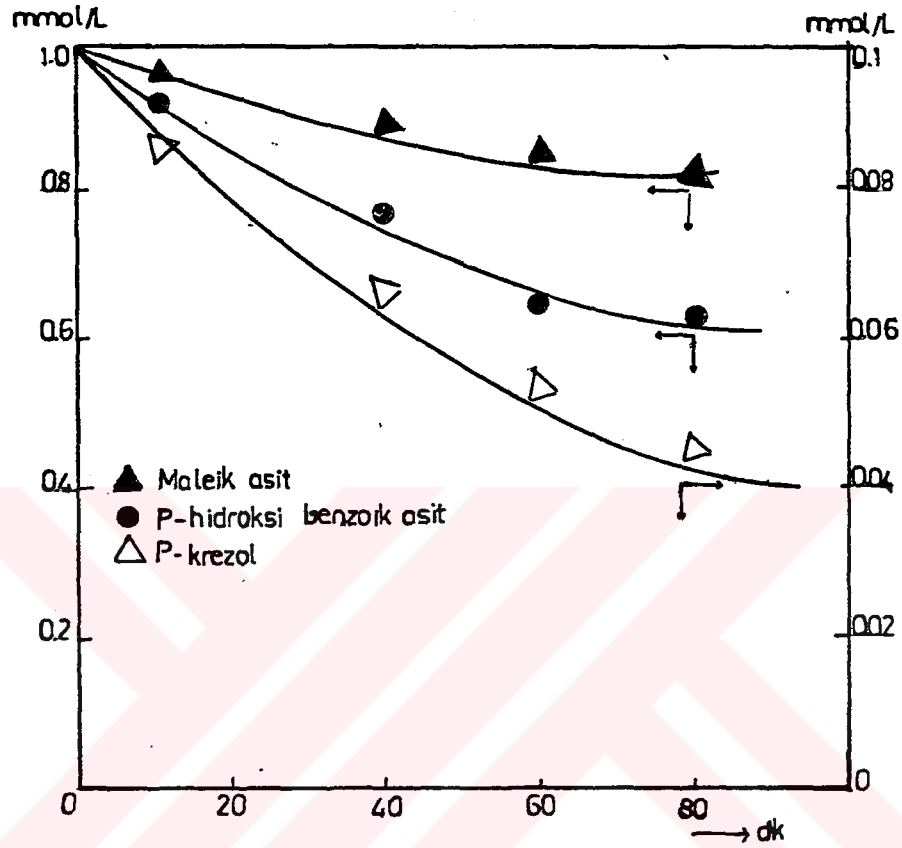
P-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin konsantrasyonları, iç standarta göre pik alanlarının hesaplanması ile bulundu. Elde edilen konsantrasyon profilleri şekil 4.32'de verilmektedir:



Şekil 4.32. P-krezolün ozonlanması sırasında, p-krezol ve parçalanma ürünlerinin konsantrasyon değişimi

Gaz kromatografisi ile belirlenen parçalanma ürünlerinin, ozonla oksidasyon hızlarını belirlemek için, saf p-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin 1 mmol/L derişimli çözeltileri hazırlandı. İç standart olarak 0.1 mmol/L p-krezol eklendi (p-krezolün oksitlenme ürünlerinin reaksiyon hızını etkilememesi için, p-krezol konsantrasyonu 0.1 mmol/L alınırken, hızı belirlenen radienik konsantrasyonu 1 mmol/L olarak alındı). Hazırlanan bu çözelti 80 dakika süreyle ozonlandı. Ozonla oksitlenme sırasında p-krezol ve parçalanma ürünleri p-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin zamanla konsantrasyon değişimleri UV-spektrofotometresi kullanılarak:

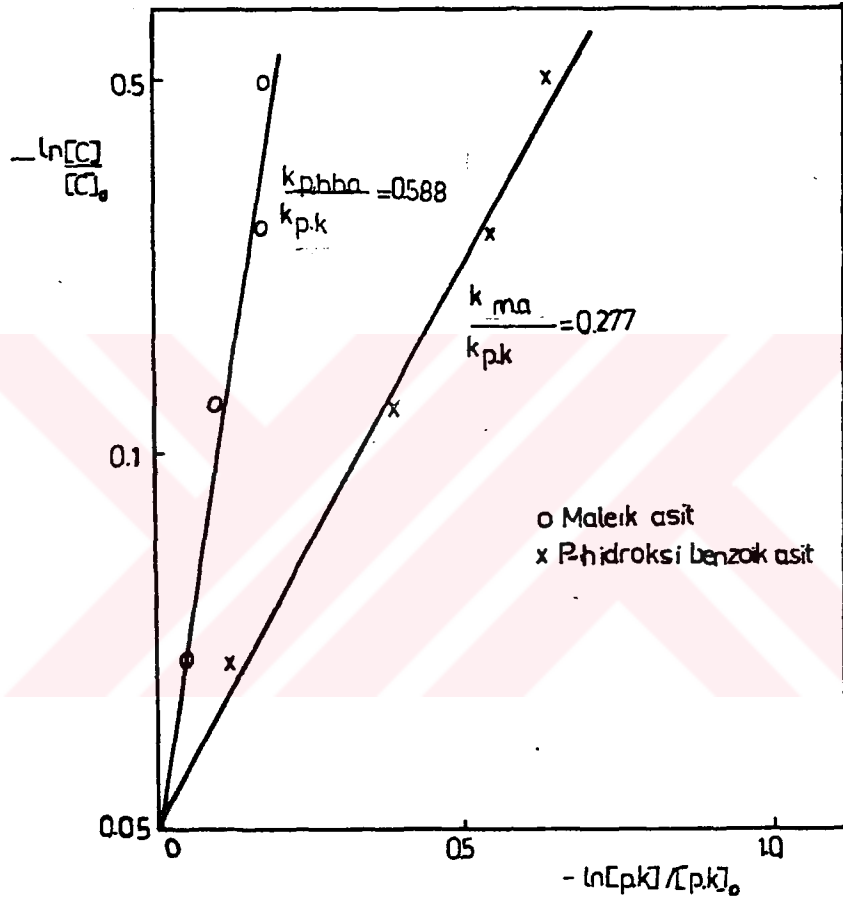
p-krezol, p-hidroksi benzoik asit ve maleik asit için sırasıyla; 289, 246 ve 210 nm'de belirlendi (Şekil 4.33).



Şekil 4.33. P-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin, p-krezole göre ozonla oksidasyonu

P-krezolün ozonla parçalanma ürünlerinin ozonla oksidasyon hız sabitleri Gürol ve Singer'in yaptıkları çalışma örnek alınarak; p-krezole göre parçalanma ürünleri p-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin bağıl hız sabiti bulundu (GÜROL ve SINGER, 1983). P-krezolün ozonla oksidasyonu sırasında derişiminin zamanla değişimi için $-d[p.k]/dt = k_{p.k}[p.k][O_3]$ bağıntısı yazılabilir. P-krezolün parçalanma ürünleri olan p-hidroksi benzoik asit ve maleik asit için oksidasyon hız bağıntısı ise, madde konsantrasyonu için genel olarak $[C]$ yazılırsa; $-d[C]/dt = k_c[C][O_3]$ olarak ifade edilir. Bu bağıntı; p-krezol için yazılan ilk bağıntıya oranlanarak, integre edilirse $\ln([C]/[C_0])/\ln([p.k]/[p.k]_0) = k_c/k_{p.k}$ bağıntısı elde edilir.

Oksidasyon hız sabiti belirlenen p-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin başlangıç konsantrasyonu, $[C_0]$, p-krezolün başlangıç derişimi, $[p.k_0]$, olmak üzere $-\ln[C]/[C_0]$ 'ın, $-\ln[p.k]/[p.k_0]$ 'a karşı çizilen grafiginde elde edilen doğruların eğiminden p-hidroksi benzoik asit ve maleik asit için bağıl hız sabitleri belirlendi (Şekil 4.34):

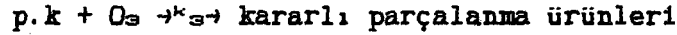
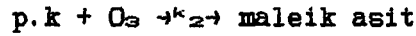
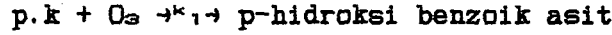


Şekil 4.34. P-hidroksi benzoik asit ve maleik asitin, p-krezole göre bağıl hızları

Bulunan bu değerler p-hidroksi benzoik asit için $0.588 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, maleik asit için ise $0.277 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 'dir.

P-krezolün ozonla reaksiyon hızı, p-krezolün zamanla derişimindeki azalmaya bağılı olarak şu şekilde verilebilir:

$$-d[p.k]/dt = k_p[p.k][O_3]$$



$$k_p = k_1 + k_2 + k_3$$

p.k: p-krezol, k_p : p-krezolün ozonla oksitlenme hızı,

k_1 : p-krezolden p-hidroksi benzoik asit oluşma hız sabiti,

k_2 : p-krezolden maleik asit oluşma hız sabiti

k_3 : p-krezolden kararlı parçalanma ürünlerinin oluşma hız sabiti

P-krezolün ve parçalanma ürünlerinin ozonla parçalanma hızları ile ilgili bağıntılar şu şekilde verilebilir:

$$d[p.k]/dt = -k_1[p.k][O_3] - k_2[p.k][O_3] - k_3[p.k][O_3] \dots \dots \dots (1)$$

$$d[p.h.b.a]/dt = k_1[p.k][O_3] - k_{p.h.b.a}[p.h.b.a][O_3] \dots \dots \dots (2)$$

$$d[m.a]/dt = k_2[p.k][O_3] - k_{m.a}[m.a][O_3] \dots \dots \dots (3)$$

p.h.b.a: p-hidroksi benzoik asit, m.a: maleik asit

$k_{p.h.b.a}$: p-hidroksi benzoik asitin ozonla oksidasyon hız sabiti

$k_{m.a}$: maleik asitin ozonla oksidasyon hız sabiti

P-hidroksi benzoik asitin, p-krezolden oluşma hızı ile p-hidroksi benzoik asitin ozonla oksitlenme hızı eşit olduğu zaman, konsantrasyon profili bir pik oluşturur.

$$k_1[p.k][O_3] = k_{p.h.b.a}[p.h.b.a][O_3]$$

$$k_1 = k_{p.h.b.a}[p.h.b.a]^*/[p.k]^* \dots \dots \dots (4)$$

$[p.h.b.a]^*$ ve $[p.k]^*$, $dC/dt=0$ olduğu konsantrasyonlardır.

Şekil 4.32'de p-hidroksi benzoik asitin maksimum konsantrasyonu 0.2 mmol/L olduğu noktada, p-krezol konsantrasyonu 0.72 mmol/L'dir. $k_{p.h.b.a}$ ise p-krezole göre, şekil 4.34'deki grafikten bulunan bağılı hız sabitine göre hesaplandı:

$$k_{p.h.b.a} = 0.588 \times 0.336 = 0.198 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

(4) bağıntısında yerlerine konursa k_1 belirlenir:

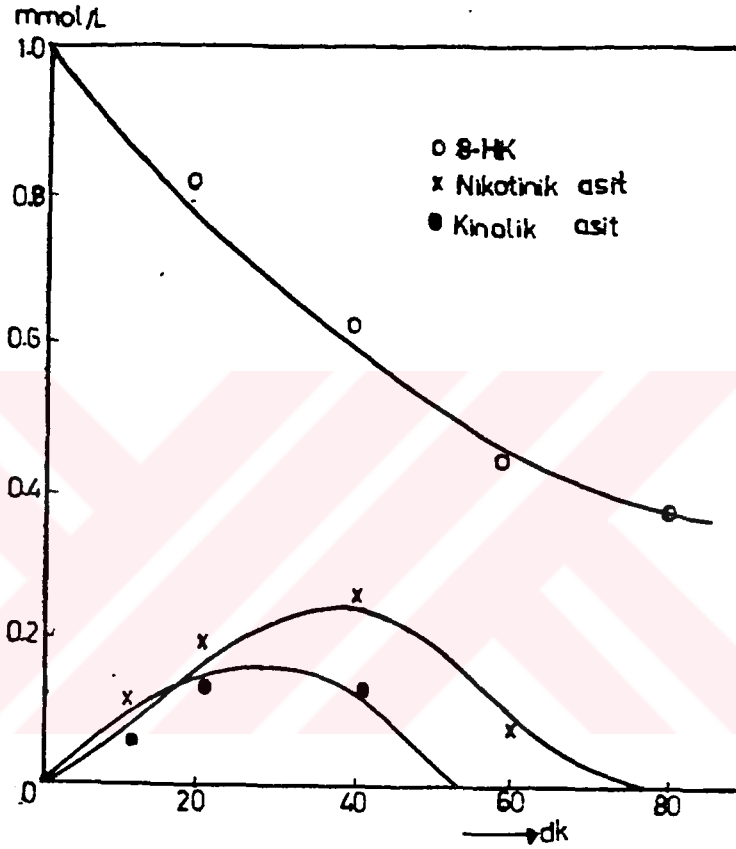
$$k_1 = 0.198 \times 10^{-2} \times 0.2 / 0.72 = 5.5 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

Aynı şekilde maleik asit için hesaplanırsa;

$$k_{m.a} = 0.277 \times 0.336 = 9.03 \times 10^{-2}$$

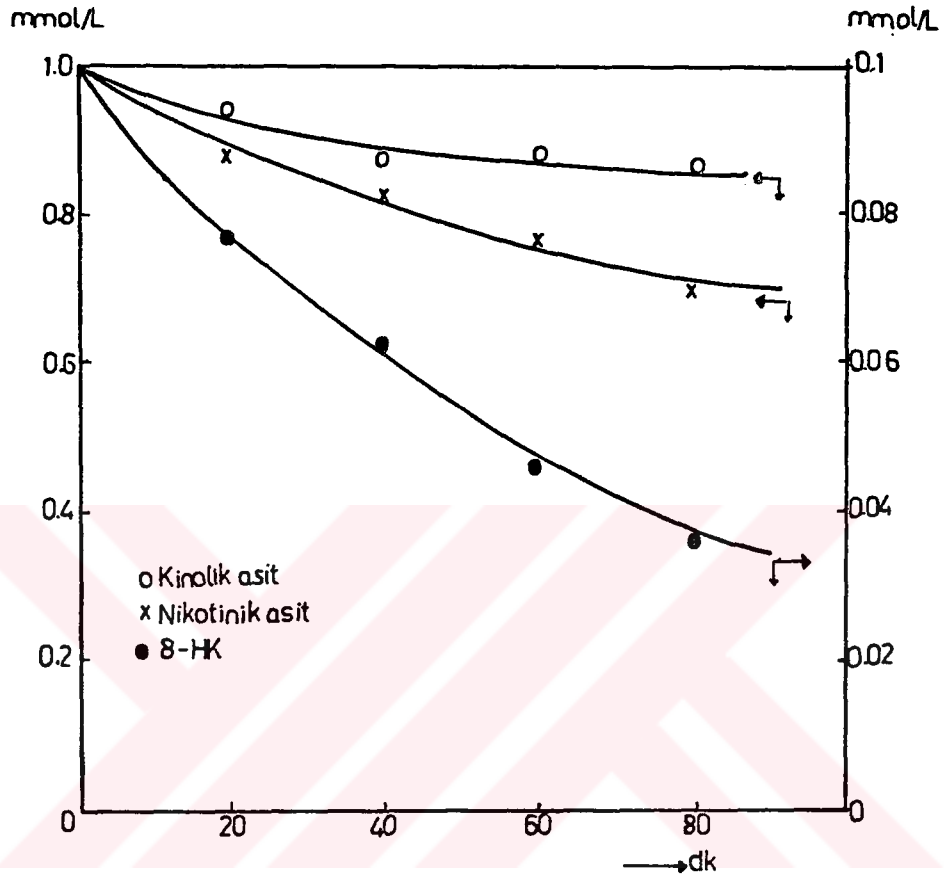
$$k_2 = 9.03 \times 10^{-2} \times 0.17 / 0.61 = 2.5 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ dir.}$$

1 mmol/L 8-HK'nin ozonlanması ile oluşan parçalanma ürünleri kinolik ve nikotinik asitlerin konsantrasyonlarının zamanla değişimi ise, UV-spektrofotometresi kullanılarak 8-HK, kinolik, nikotinik asit için sırasıyla 226, 274 ve 262 nm'de belirlendi (Şekil 4.35):



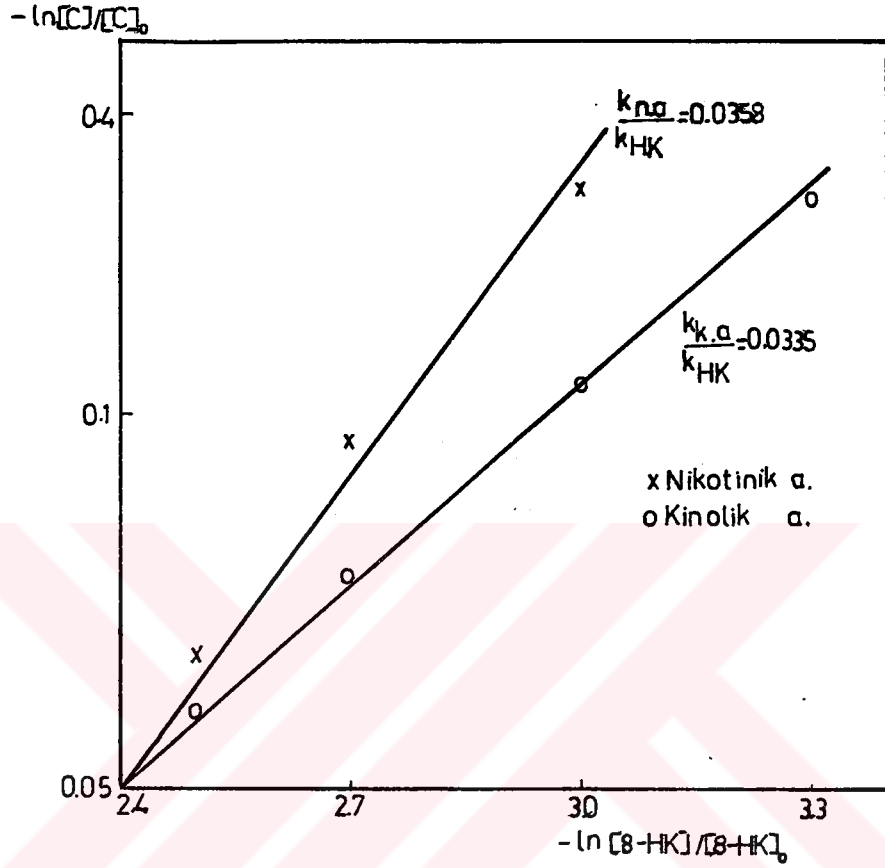
Şekil 4.35. 8-HK'nin ve ozonla parçalanma ürünlerinin zamana bağlı olarak değişimi

8-HK'nin oksidasyon ürünlerinin ozonla oksidasyon hızlarını belirlemek için; parçalanma ürünleri nikotinik ve kinolik asitleri 1 mmol/L ,8-HK'i 0.1 mmol/L konsantrasyonlarında içeren çözelti hazırlandı. 80 dakika süreyle ozonlandı. Zamana karşı konsantrasyon değişimleri UV-spektrofotometresi ile saptandı (Şekil 4.36).



Şekil 4.36. Kinollik ve nikotinik asitin, 8-HK'ne göre ozonla oksidasyonu.

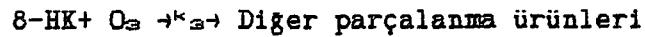
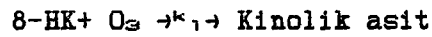
8-HK'nin parçalanma ürünlerinin ozonla oksidasyon hızları, 8-HK'e göre bağıl hızları bulunarak hesaplandı (Şekil 4.37).



Şekil 4.37. Kinolik ve nikotinik asitin, 8-HK'ne göre bağlı hızları

8-HK'nin ozonla reaksiyon hızı, 8-HK'nin zamanla derişimindeki azalmaya bağlı olarak şu şekilde verilebilir:

$$-d[\text{HK}]/dt = k_{\text{HK}}[\text{HK}][\text{O}_3]$$



$$k_{\text{HK}} = k_1 + k_2 + k_3$$

HK : hidroksi kinolin,

k_{HK} : Hidroksi kinolinin ozonla oksitlenme hız sabiti

k_1 : 8-HK'den kinolik asit oluşma hız sabiti

k_2 : 8-HK'den nikotinik asit oluşma hız sabiti

k_3 : 8-HK'den kararlı parçalanma ürünlerinin oluşma hız sabiti

8-HK'nin parçalanma ürünlerinin ozonla parçalanma hızları ile ilgili bağıntılar şu şekilde verilebilir:

$$d[\text{HK}]/dt = -k_1[\text{HK}][\text{O}_3] - k_2[\text{HK}][\text{O}_3] - k_3[\text{HK}][\text{O}_3] \dots \dots \dots (5)$$

$$d[\text{k.a}]/dt = k_1[\text{HK}][\text{O}_3] - k_{k.a}[\text{k.a}][\text{O}_3] \dots \dots \dots (6)$$

$$d[\text{n.a}]/dt = k_2[\text{HK}][\text{O}_3] - k_{n.a}[\text{n.a}][\text{O}_3] \dots \dots \dots (7)$$

$k_{n.a}$: nikotinic asitin ozonla oksidasyon hız sabiti

$k_{k.a}$: kinolik asitin ozonla oksidasyon hız sabiti

Şekil 4.37'den yararlanarak, kinolik asitin 8-HK'den oluşma hızı bulundu:

$$k_{k.a} = 0.0335 \times 0.261 = 8.7 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_1 = k_{k.a}[\text{k.a}]/[\text{HK}] \text{ bağıntısından;}$$

$$k_1 = 8.7 \times 10^{-3} \times 0.37 / 0.6 = 5.37 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ bulundu.}$$

Aynı şekilde nikotinic asitin, oluşma hızı da belirlendi:

$$k_{n.a} = 0.0358 \times 0.261 = 9.3 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$$

$$k_2 = k_{n.a}[\text{n.a}]/[\text{HK}] \text{ bağıntısından;}$$

$$k_2 = 9.3 \times 10^{-3} \times 0.2 / 0.76 = 2.45 \times 10^{-3} \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1} \text{ bulundu.}$$

4.2. Model Bileşiklerin Beyaz Küf Mantarı (*P. chrysosporium*) ile Biyolojik Olarak Parçalanması

Çalışılan model bileşiklerin aerobik ortamda biyolojik olarak parçalanabilirliklerini incelemek için farklı konsantrasyonlarda bu maddeleri içeren kültür ortamları bölüm 3.3.1.'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin konsantrasyonları;

Benzoik asit için % 0.05, 0.03 ve 0.01;

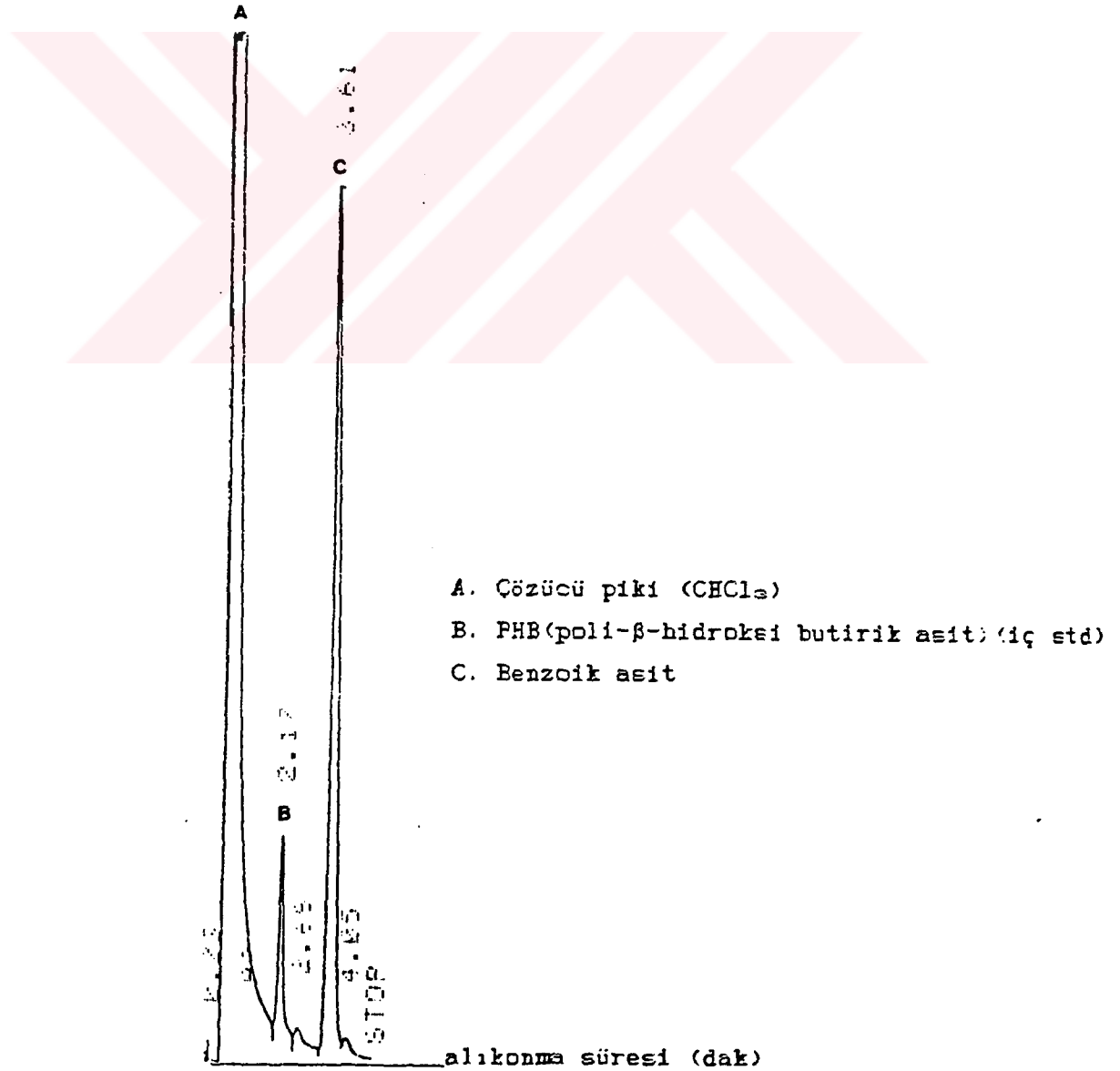
p-krezol için % 0.05, 0.03, 0.01 ve 0.005;

8-HK için % 0.03, 0.02, 0.01 ve 0.005 dir.

Model bileşiklerin farklı konsantrasyonlarda beyaz küf mantarı tarafından ne oranda parçalandıklarını tayin etmek için 3'er gün arayla alınan örneklerde model maddelerin parçalanma miktarları bölüm 3.4'de anlatıldığı şekilde belirlendi. Ayrıca bu ortamlarda beyaz küf mantarının kuru ağırlık ve substrat (glikoz) tüketim miktarları bölüm 3.3.2. ve bölüm 3.3.3'de anlatıldığı şekilde tayin edildi.

4.2.1. Benzoik asit, P-krezol ve 8-Hidroksi kinolin'in Beyaz Küf Mantarıyla Parçalanma Miktarının Tayini

% 0.05, 0.03 ve 0.01 gibi farklı derişimlerdeki benzoik asit ve substrat olarak glikoz içeren kültür ortamına beyaz küf mantarı aşılansarak, biyolojik parçalanmaya bırakıldı. Benzoik asitin mantar tarafından parçalanma miktarı 3'er gün arayla örnek alınarak bölüm 3.4'de anlatıldığı şekilde önce suyu uzaklaştırılıp daha sonra benzoik asit metil esterine dönüştürülmek suretiyle saptandı. İçerisine iç standart olarak kloroformda çözülmüş PHB (poli- β -hidroksi butirik asit) eklendi. Kloroform fazına geçen kısım alınarak gaz kromatografisinde verilerek şekil 4.38'deki kromatogram elde edildi.



Şekil 4.38. Benzoik asit için elde edilen kromatogram

Bu kromatogramda alıkonma süresi 0.60. dakikada çözücü olarak kullanılan kloroforma (CHCl_3) ait pik, 2.17. dakikada iç standart olarak kullanılan PHB (poli- β -hidroksi butirik asit) piki ve, 3.61 dakikada ise benzoik asit piki elde edildi (Şekil 4.38).

Benzoik asit için standart kromatogram elde edildikten sonra, alet standart benzoik asit çözeltileri ile kalibre edildi. Kalibrasyon 2 g/L benzoik asit ve 1 g/L PHB için şu şekilde yapıldı:

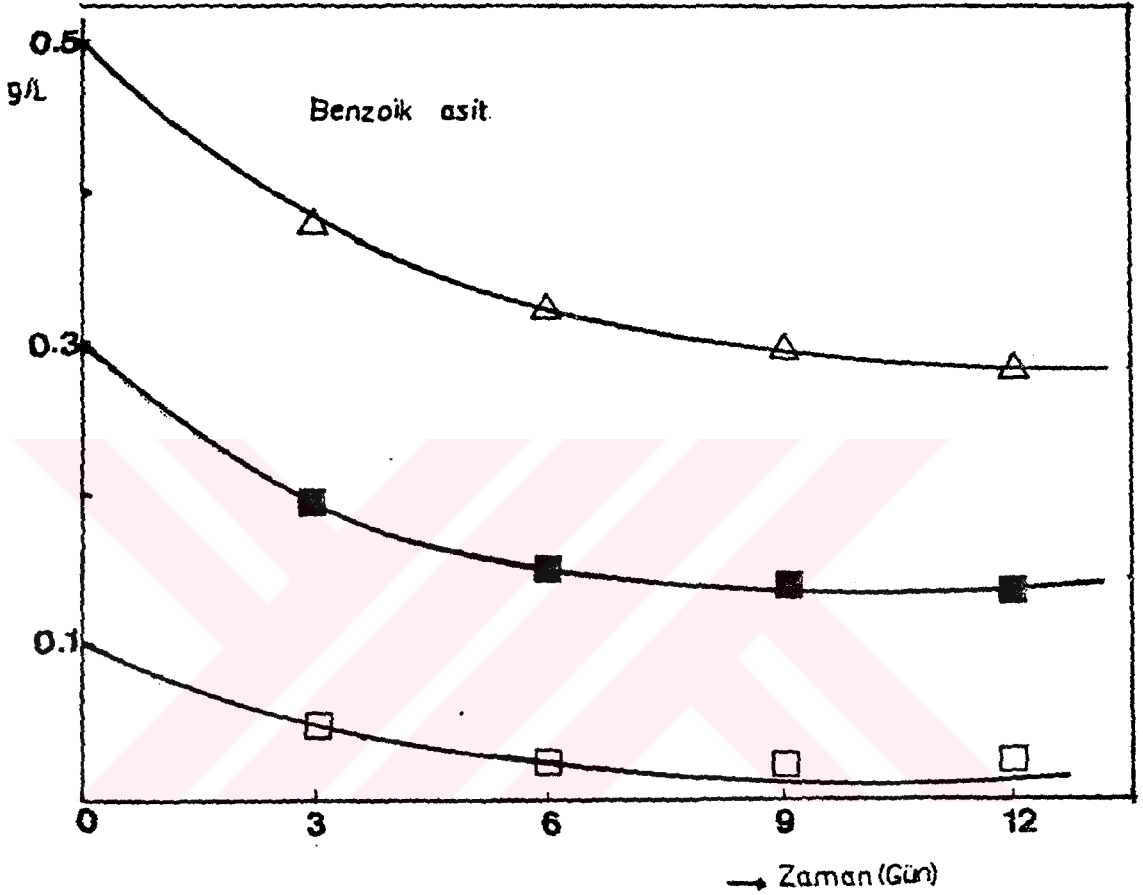
CALIB ISTD

% RTW : 5

	RT (min)	AMT (g/L)
REF :	2.17	1.000
	3.61	2.000
DIL FACTOR :	1.000	
ISTD AMT :	1.000	
SAMPLE AMT :	100	

Her standart çözelti için bu kalibrasyon ayrı ayrı yapıldı. Standart çözeltilere göre kalibre edilen alet, örneklerin içerdiği benzoik asit konsantrasyonlarını otomatik olarak hesaplayıp, sonuçları doğrudan verdi.

Benzoik asitin % 0.05, 0.03 ve 0.01 başlangıç konsantrasyonlarında beyaz küf mantarı tarafından zamana karşı elde edilen parçalanma miktarları şekil 4.39.'da verilmektedir:



Şekil 4.39. Farklı konsantrasyonlardaki benzoik asitin beyaz küf mantarı ile parçalanma miktarları.

P-krezolün biyolojik parçalanması içinde %0.03, 0.01 ve 0.005'lik çözeltileri hazırlanarak içerisinde substrat olarak glikoz (15 g/L) ve mantarın büyümesi için gerekli inorganik tuzlar ve maddeler eklendi (Bölüm 3.3.1). Farklı derişimde p-krezol içeren bu ortamların her birine beyaz küf mantarı asıldı. 3'er gün arayla alınan örneklere iç standart olarak propiyonik asit (2g/L) eklenerek gaz kromatografisine verildi (Bölüm 3.4, çizelge 3.2). Elde edilen gaz kromatogramı şekil 4.40'da görülmektedir:



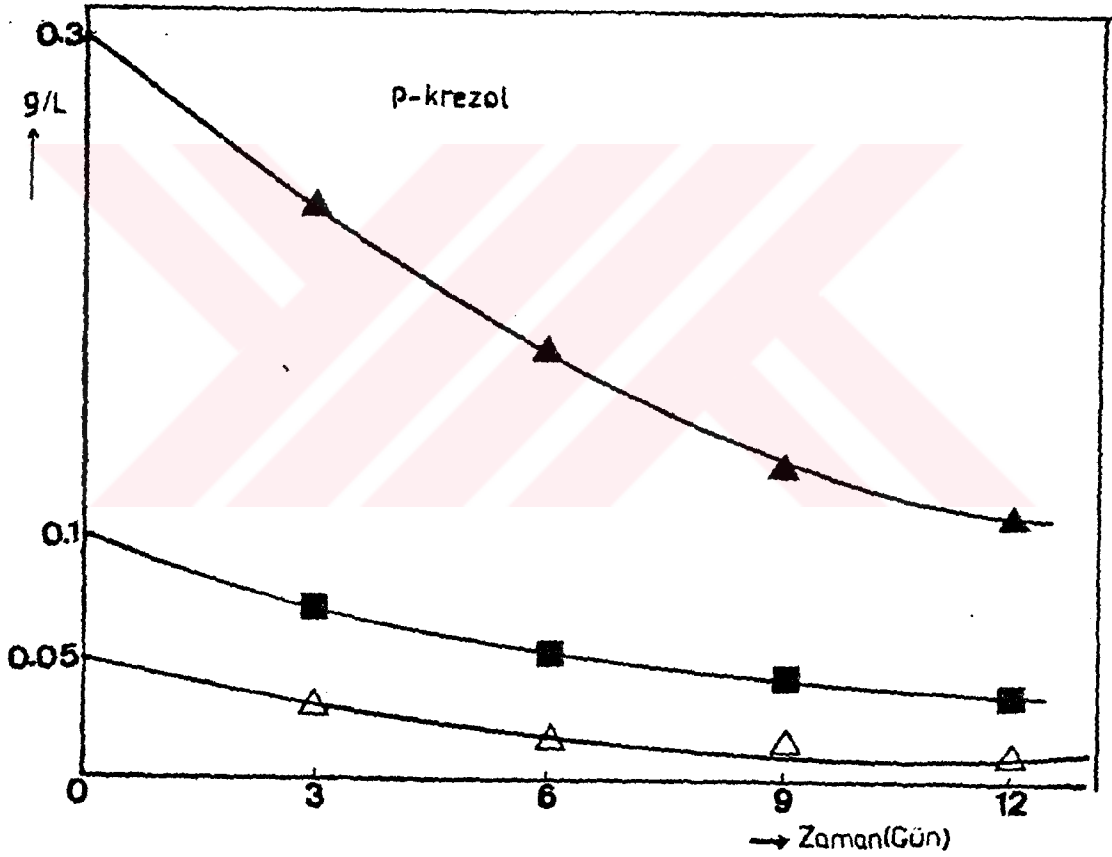
Şekil 4.40. P-krezol için elde edilen kromatogram

A. Çözücü piki (su), B. Propiyonik asit (iç standart),

C. P-krezol.

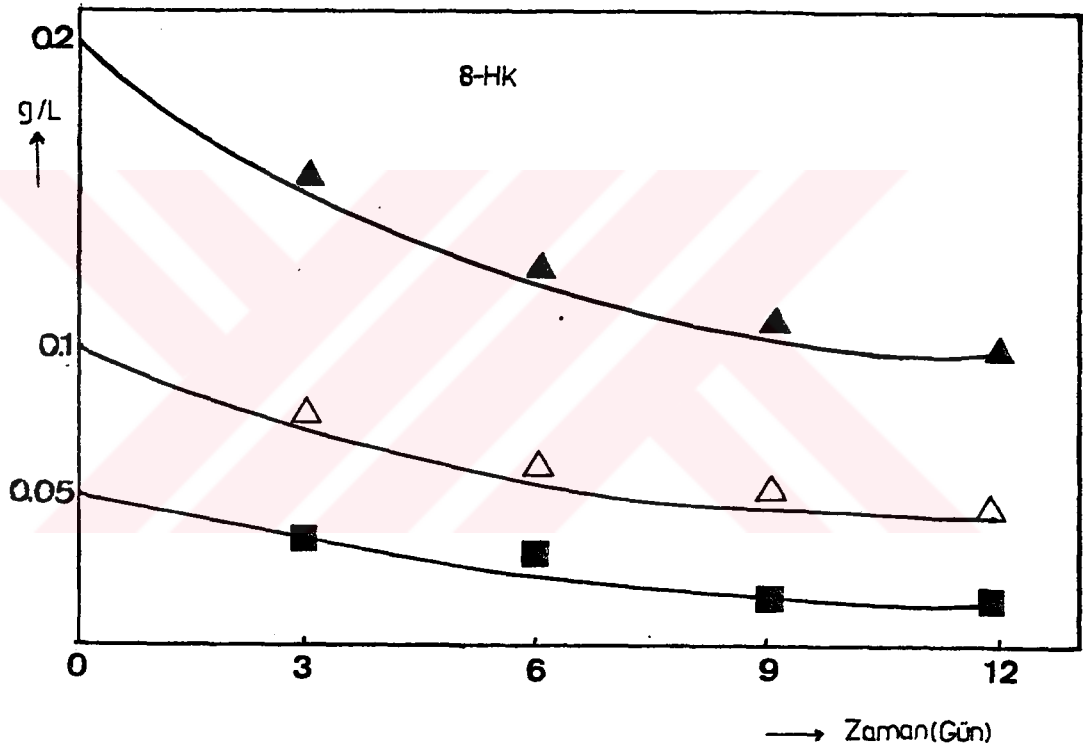
Kromatogramda alıkonma süresi 0.62 dakika olan pik çözücü (su) piki'dir. İç standart olarak kullanılan propiyonik asit için elde edilen alıkonma süresi 1.07, p-krezol için ise 5.95'dakikadır.

Benzoik asit standart çözeltileri için yapılan kalibrasyon, p-krezol standart çözeltileri ile de benzer şekilde yapılarak örneklerin içerdiği p-krezol konsantrasyonları gaz kromatografisi ile otomatik olarak tayin edildi. Daha sonra p-krezolün tayin edilen parçalanma miktarları zamana karşı grafiğe alındı (Şekil 4.41):



Şekil 4.41. Farklı konsantrasyonlardaki p-krezolün, beyaz küf mantarı ile parçalanma miktarları

8-HK'in UV-spektrofotometresiyle tayininin gaz kromatografisi ile yapılan tayininden daha kısa sürede yapılabilmesi nedeniyle spektrofotometrik yöntem tercih edildi. 8-HK'in benzoik asit ve p-krezolde olduğu gibi, çözeltileri hazırlanarak beyaz küf mantarıyla biyolojik parçalanmaya uğratıldı. 3'er gün aralıklarla alınan örneklerde 425 nm'de UV-spektrofotometresiyle 8-HK'in parçalanma miktarları belirlendi ve zamana karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.42).

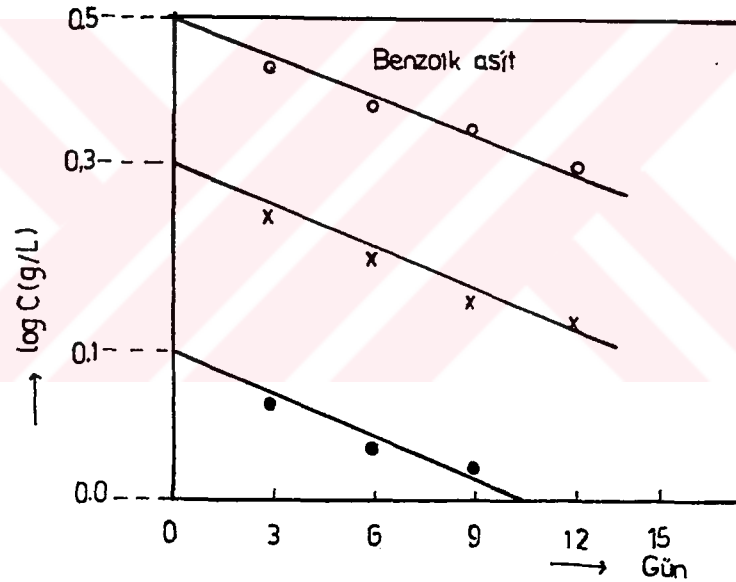


Şekil 4.42. Farklı konsantrasyonlardaki 8-HK'in, beyaz küf mantarı ile parçalanma miktarları

4.2.2. Model Bileşiklerin Beyaz Küf Mantarıyla Biyolojik Parçalanma Reaksiyon Derece ve Hız Sabitlerinin Tayini

Benzoik asit, p-krezol ve 8-HK'in farklı konsantrasyonlarını içeren kültür ortamlarında mantarın bu bileşikleri parçalama miktarına göre reaksiyon hız sabitleri ve reaksiyon dereceleri belirlendi. Bu amaçla model bileşiklerin gaz kromatografisiyle ve spektrofotometrik olarak bölüm 3.4.'de anlatıldığı şekilde tayin edilen derişimleri yarı logaritmik grafik kağıdında, zamana karşı grafiğe geçirildi.

Benzoik asitin % 0.05, 0.03 ve 0.01 derişimlerini içeren kültür ortamlarında beyaz küf mantarı tarafından parçalanması sırasında 3'er gün arayla alınan örneklerdeki madde derişiminin logaritmasının, zamana karşı değişimi aşağıda verilmektedir (Şekil 4.43):

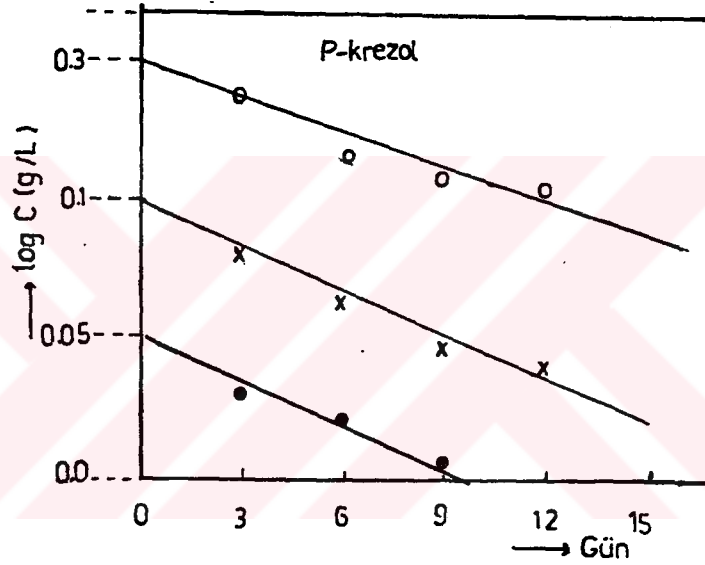


Şekil 4.43. Benzoik asitli kültür ortamlarında, zamana karşı logC değişimi

Bu grafiğin doğrusal olması benzoik asitin beyaz küf mantarı ile parçalanma tepkimesinin 1.dereceden olduğunu göstermektedir. Doğruların eğiminden, her konsantrasyon için benzoik asitin beyaz küf mantarıyla parçalanma hız sabiti belirlendi:

<u>Benzoik asit derişimi (g/L)</u>	<u>$k(s^{-1}) \times 10^{-6}$ (hız sabitleri)</u>
0.1 (%0.01)	5.65
0.3 (%0.03)	5.39
0.5 (%0.05)	4.86

P-krezolün %0.005, 0.01 ve 0.03 derişimlerini içeren kültür ortamlarında beyaz küf mantarı tarafından biyolojik olarak parçalanma reaksiyon derecesini belirlemek için madde derişiminin logaritmasının, zamana karşı değişimi grafiğe alındı (Şekil 4.44):



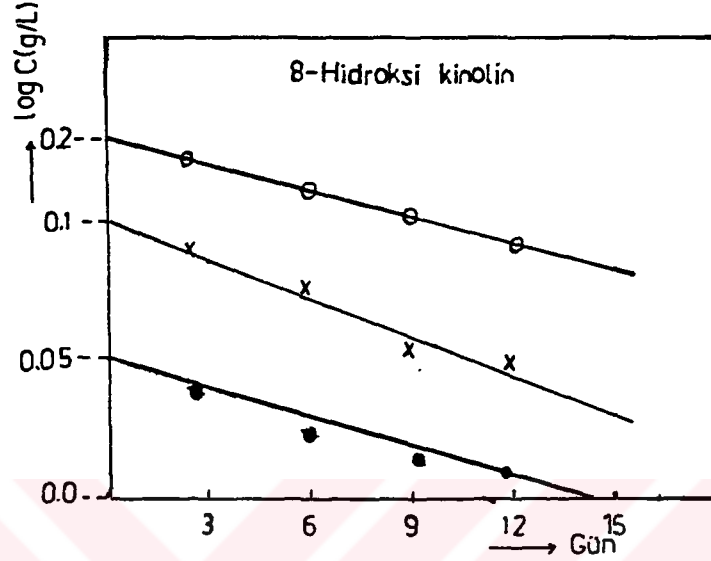
Şekil 4.44. P-krezollü kültür ortamlarında, zamana karşı logC değişimi

Bu grafiğin doğrusal olması p-krezolün beyaz küf mantarıyla parçalanma reaksiyonunun 1.dereceden olduğunu göstermektedir. Her konsantrasyon için çizilen doğruların eğiminden p-krezolün parçalanma hız sabiti belirlendi:

<u>P-krezol derişimi (g/L)</u>	<u>$k(s^{-1}) \times 10^{-6}$ (hız sabitleri)</u>
0.05	7.23
0.1	4.67
0.3	3.38

8-HK'in %0.05, 0.1 ve 0.2 derişimlerini içeren kültür ortamlarında beyaz küf mantarı tarafından 3'er gün aralıklarla alınan

örneklerdeki 8-HK derişiminin logaritmasının, zamana karşı değişim grafiği aşağıda verilmektedir (şekil 4.45):



şekil 4.45. 8-HK'li kùltür ortamlarında zamana karşı, logC değişimi

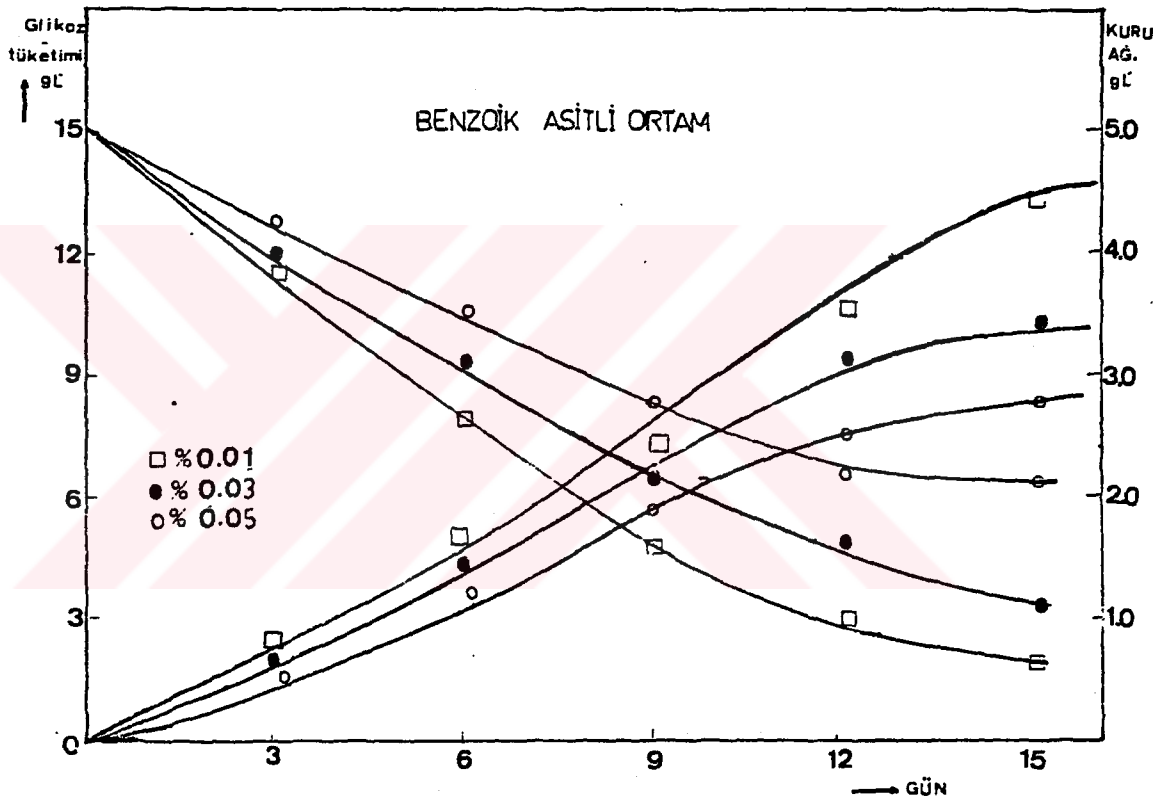
8-HK'in farklı konsantrasyonları için logC ve t grafiğinin doğrusal çıkması, 8-HK'in beyaz kùf mantarı ile parçalanma reaksiyonunun 1.dereceden olduğunu göstermektedir. Her konsantrasyon için çizilen doğruların eğiminden 8-HK'in parçalanma hız sabiti belirlendi:

8-HK derişimi (g/L)	$k(s^{-1}) \times 10^{-6}$ (hız sabitleri)
0.05	6.82
0.1	4.38
0.2	3.77

4.2.3. Beyaz Kùf Mantarının (*P. chrysosporium*) Model Bileşikleri İçeren Besi Ortamında Büyümesi Üzerine Organiklerin Toksik Etkilerinin ve Substrat Tüketiminin Tayini

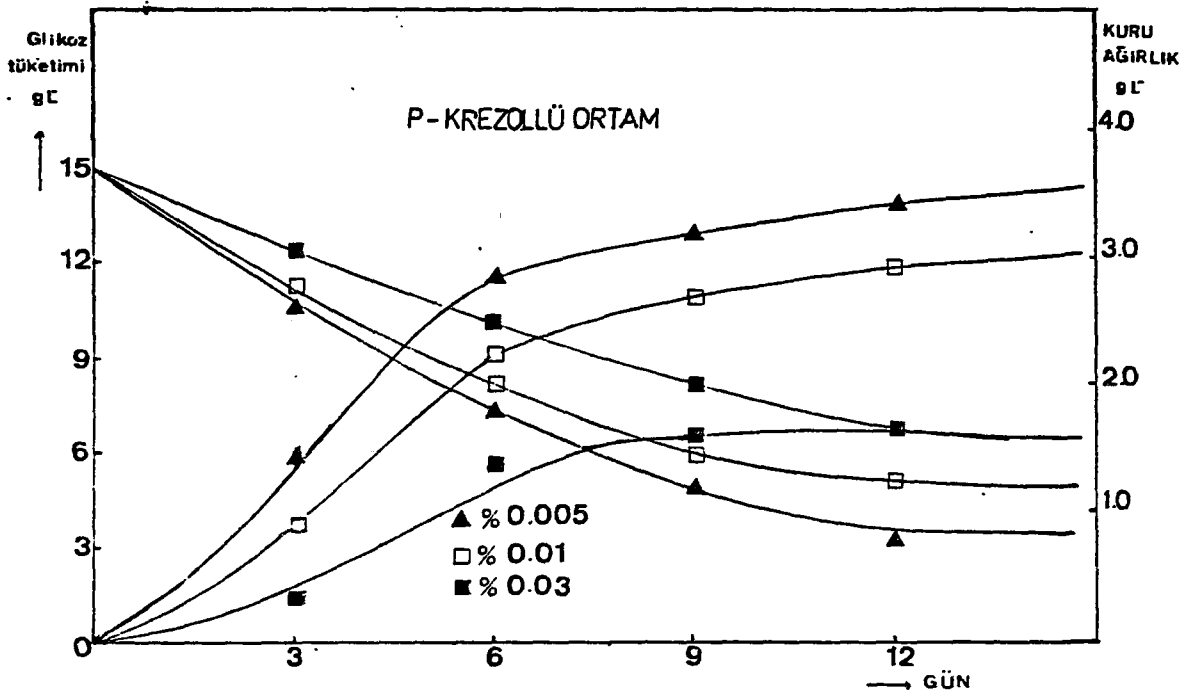
%0.05, 0.03 ve 0.01'lik benzoik asit içeren kùltür ortamları bölüm 3.3.1.'de anlatıldığı şekilde hazırlandı. Her kùltür ortamına büyüme substratı olarak 15 g/L olacak şekilde glikoz ekleildi. Sterilize edilen bu ortamlara beyaz kùf mantarı kùltürleri asılandı.

Mantarın bu ortamlarda çoğalarak artması, mantarın kuru ağırlık tayini yapılarak belirlendi (Bölüm 3.3.2). Aynı zamanda mantar tarafından tüketilen glikoz miktarı saptandı (Bölüm 3.3.3). Beyaz küf mantarının zamana karşı kuru ağırlık artışı ve ortamda kalan glikoz miktarı grafiğe geçirildi (Şekil 4.46):

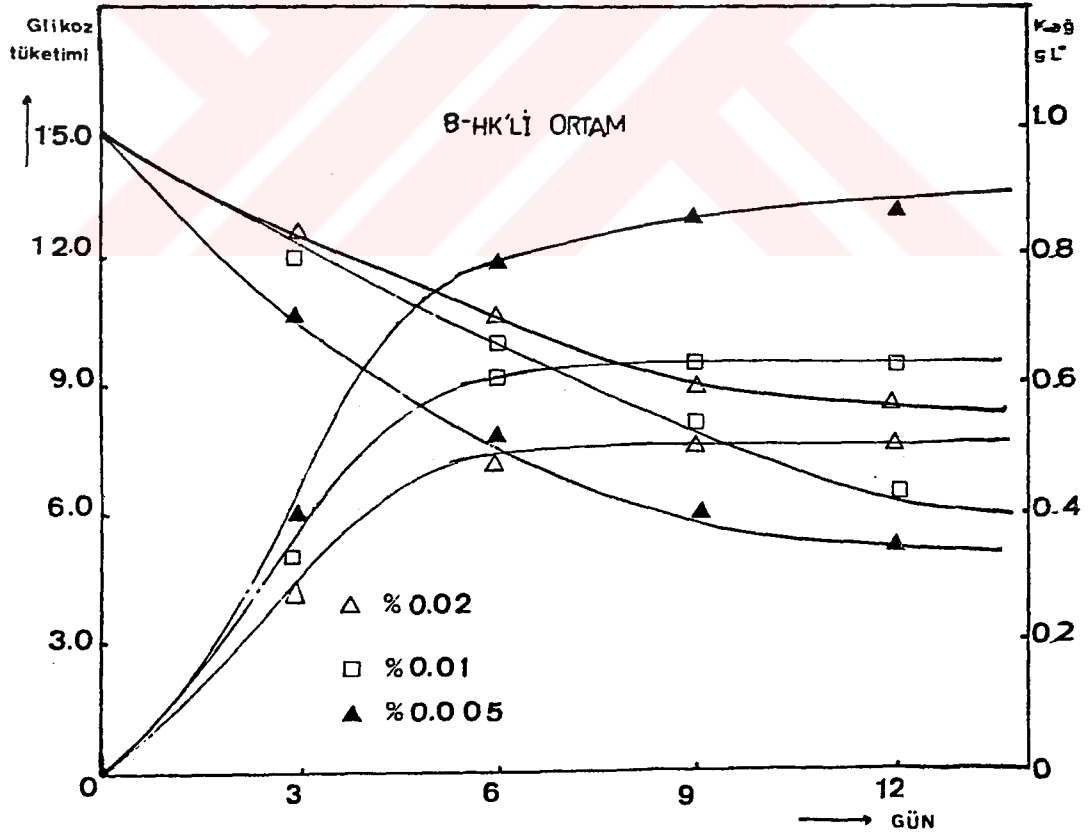


Şekil 4.46. Benzoik asitin farklı konsantrasyonları için *P. chrysosporium*'un büyüme ve glikoz tüketimi

Aynı işlemler %0.03, 0.01 ve 0.005 derisimindeki p-krezol ve 20.02, 0.01 ve 0.005 derisimindeki 8-EK içeren kültür ortamları için yapıldı. Her bir ortam için mantarın kuru ağırlığı ve glikoz tüketimi tayin edilerek zamana karşı grafikleri çizildi (Şekil 4.47 ve 4.48):

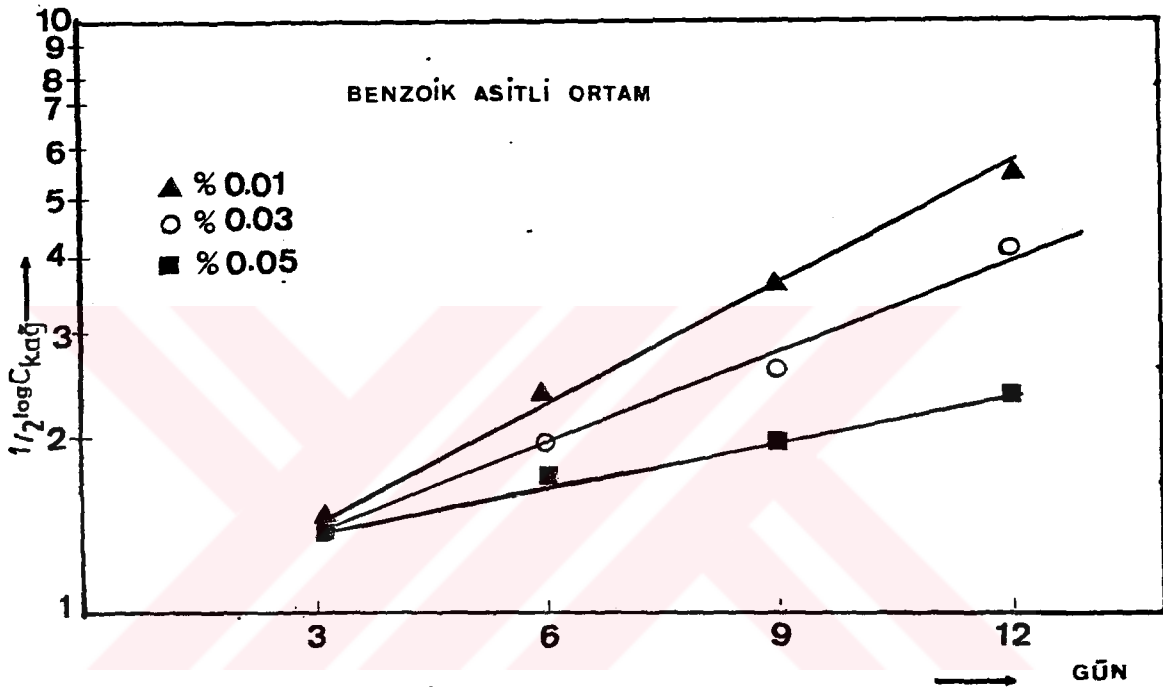


Şekil 4.47. P-krezolün farklı konsantrasyonları için *P. chrysosporium*'un büyüme ve glikoz tüketimi



Şekil 4.48. 8-HK'nin farklı konsantrasyonları için *P. chrysosporium*'un büyüme ve glikoz tüketimi

Benzoik asitin % 0.01, 0.03 ve 0.05 konsantrasyonlarında hazırlanan kültür ortamı içinde beyaz küf mantarının büyüme eğrisinde (şekil 4.46) logaritmik fazdaki kuru ağırlık miktarındaki artış yarı logaritmik grafik kağıdında zamana karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.49).



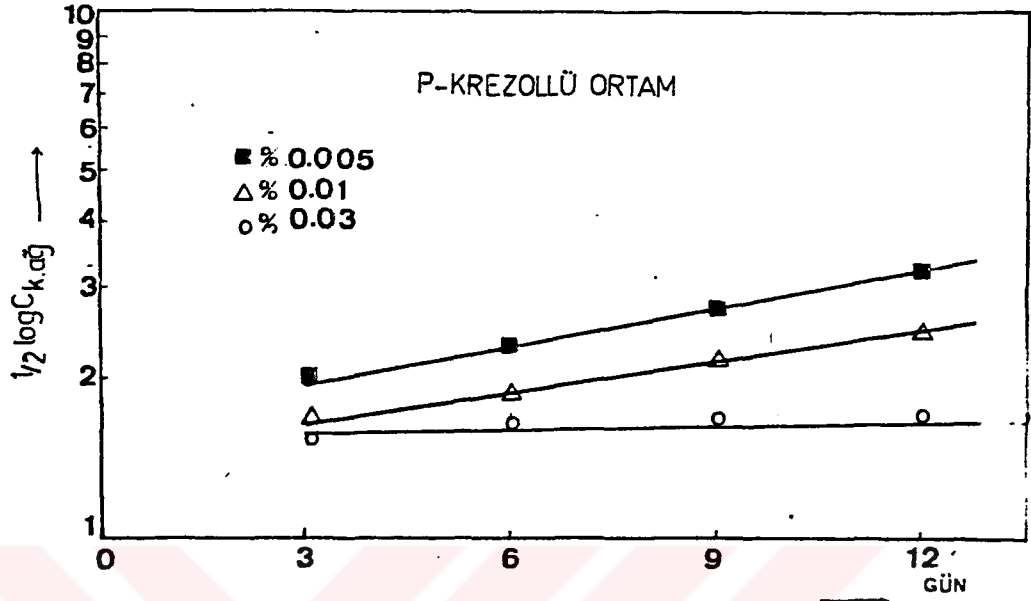
Şekil 4.49. Benzoik asitin farklı konsantrasyonlarında *P. chrysosporium*'un zamana karşı, $\log C_k$ grafiği

Farklı konsantrasyonlar için doğruların eğiminden her konsantrasyonda büyüme hız sabiti belirlendi:

<u>Konsantrasyon (g/L)</u>	<u>Büyüme hız sabiti (saat⁻¹)</u>
0.1	0.029
0.3	0.013
0.5	0.0063

p-krezolün % 0.05, 0.01, 0.03 ve 0.05 konsantrasyonlarında hazırlanan kültür ortamı içinde *P. chrysosporium*'un büyüme hız sabiti ve p-krezolün mantarın büyümesini inhibe eden konsantrasyonu belirlendi. Bunun için p-krezolün farklı konsantrasyonlarında büyüme eğrisinde (Şekil 4.47) logaritmik fazdaki kuru ağırlık miktarındaki

artış, yarı logaritmik grafik kağıdında zamana karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.50):



Şekil 4.50. P-krezolün farklı konsantrasyonlarında

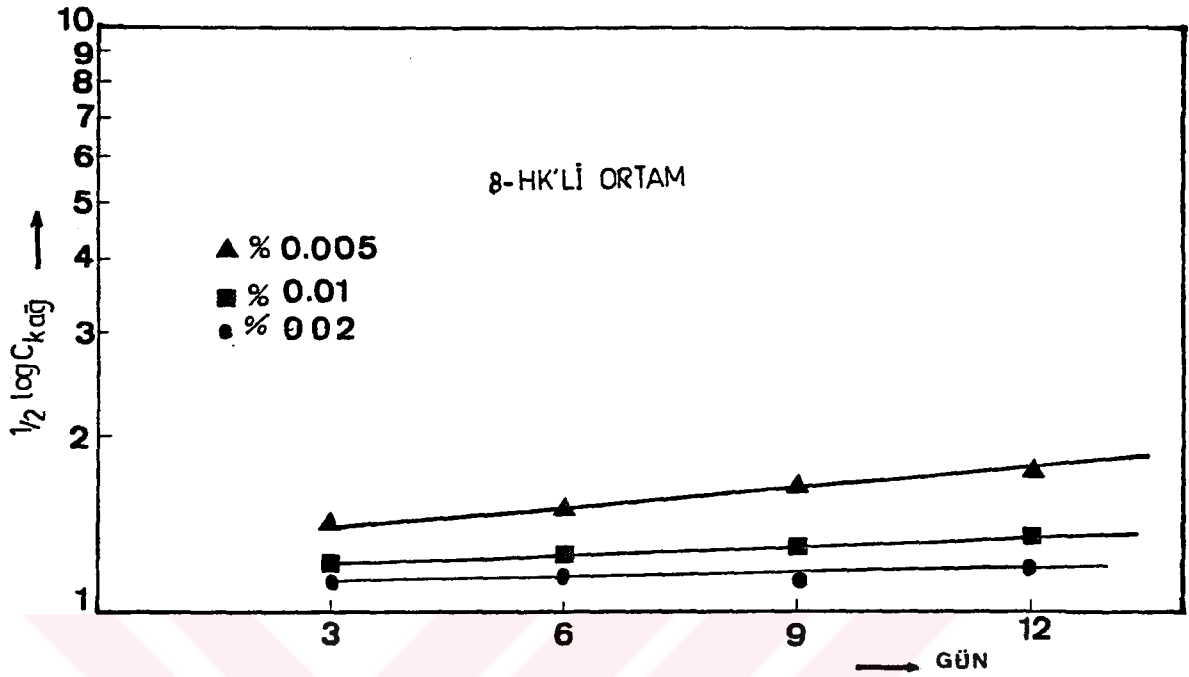
P. chrysosporium'un zamana karşı logC_{k.ağ.} grafiği

Doğruların eğiminden her bir konsantrasyon için büyüme hız sabiti belirlendi:

Konsantrasyon (g/L)	Büyüme hız sabiti (saat ⁻¹)
0.05	0.0130
0.1	0.0125
0.3	0.0082

%0.03 derisimli çözeltilisinden daha derisik p-krezol içeren kültür ortamında mantarın büyümesini inhibe etmesi nedeniyle, %0.05 derisiminde p-krezol içeren ortamda mantarın büyüme hız sabiti belirlenemeyecek kadar düşüktür.

8-HK'nin % 0.005, 0.03, 0.02 ve 0.01 konsantrasyonlarında hazırlanan çözeltileri içinde beyaz küf mantarının büyüme hız sabiti belirlendi. Bunun için bu derisimlerde 8-HK içeren kültür ortamında mantarın büyüme eğrisinde (Şekil 4.48) logaritmik fazdaki kuru ağırlık miktarındaki artış, yarı logaritmik grafik kağıdında zamana karşı grafiğe geçirildi (Şekil 4.51):



Şekil 4.51. 8-HK'nin farklı konsantrasyonlarında

P. chrysosporium'un zamana karşı $\log C_{k. katg.}$ grafiği

Bu grafikteki doğruların eğiminden her konsantrasyon için büyüme hız sabiti belirlendi:

Konsantrasyon (g/L)	Büyüme hız sabiti (saat ⁻¹)
0.05	0.0040
0.1	0.0032
0.2	0.0024

4.2.4. Model Bileşiklerin Beyaz Küf Mantarı ile Parçalanma Ürünlerinin Tayini

Benzoik asit, p-krezol ve 8-hidroksi kinolinin farklı konsantrasyonlarını (%0.005-0.05 arasında) içeren kültür ortamları hazırlandı (Bölüm 3.3.1). Bu ortamlardaki model maddeler beyaz küf mantarı ile biyolojik parçalanmaya uğratıldı. Biyolojik parçalanma sırasında oluşan parçalanma ürünlerinin tayini için HP 5840 model gaz kromatografisi ve Porapak Q kolon kullanıldı. Model maddelerin ve biyolojik parçalanma ürünlerinin gaz kromatografisinde belirlenen alıkonma süreleri standart maddelerin alıkonma süreleriyle karşılaştırılarak çizelge 4.19'da verilen bileşikler saptandı:

Çizelge 4.19. Model bileşiklerin ve beyaz küf mantarıyla parçalanma ürünlerinin GC'de Porapak Q kolonunda alıkonma süreleri (T 220°C)

Bileşik	Alıkonma süresi (t _R) (dak)
Benzoik asit	15.46
Okzalik asit	1.29
Formik asit	1.93
Hidrojen peroksit	2.44
P-krezol	12.23
Maleik asit	13.60
Glikolik asit	10.69
Okzalik asit	1.29
Formik asit	1.93
Hidrojen peroksit	2.44
8-hidroksi kinolin	19.12
Propiyonik asit	5.15
Glikolik asit	10.69
Okzalik asit	1.29
Formik asit	1.93
Hidrojen peroksit	2.44

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada seçilen model bileşiklerden biri olan benzoik asit; tuzları ve esterleri tıp ve veterinerlikte ilaç yapımında, gıda ve kozmetik sanayiinde, p-krezol; fenol-formaldehit bazlı reçine yapımında, tekstil yardımcı maddesi, antioksidant, boya ve p-krezolün metil veya fenil eteri veya asetatı, sentetik parfüm yapımında ve dezenfektan olarak; 8-hidroksi kinolin ise antiseptik olarak, halojenleme sonucu elde edilen türevleri bakteriyel orijinli gastrointestinal enfeksiyonlarda kullanılmaktadır. Örneğin ticari adı Vioform olan ilaç 5-kloro-7-iodo-8-hidroksi kinolindir. 8-HK'nin bakır kompleksi fungusit olarak tarımda kullanılmaktadır.

Yukarıda belirtildiği gibi çok çeşitli kullanım alanları olan benzoik asit, p-krezol ve 8-HK gibi toksik etkiye sahip üç tür madde bu çalışmada model bileşik olarak seçildi. Bu bileşiklerin sulu ortamda 10^{-3} M'lık çözeltileri saf maddelerden hazırlandı. Bu çözeltiler farklı ozon dozları ile ozonlanarak sulu çözeltilerinde maddelerin kısmen veya tamamen giderilmesine çalışıldı. Ayrıca beyaz küf mantarı (*Phanerochaete chrysosporium*) ile bu model maddelerin sulu çözeltilerinden biyolojik olarak parçalayıp giderilmesi için etkin parçalanma koşulları araştırıldı.

5.1. Model Maddelerin Ozonlanması ve Parçalanma Mekanizması

Sulu ortamda bulunan organik bileşiklerin ozonlanarak giderilmesinin ve parçalanma hızlarının, ozon dozu ve ozonlama süresine bağlı olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1., 4.2., 4.3). Model bileşiklerin ozonla temas süresine ve kullanılan ozon dozuna bağlı olarak ortamdaki uzaklaştırılma miktarları şu şekilde değişmektedir.

Çizelge 5.1. Benzoik asitin parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi

Ozon dozu (mg O ₃ /dk)	Temas süresi (dk)	Benzoik asitin giderilme yüzdesi (%)	COD giderilme yüzdesi (%)
5	20	20	17
	40	25	21
	60	32	32
	80	40	37
10	20	26	20
	40	32	33
	60	50	39
	80	57	51
15	20	33	50
	40	50	73
	60	70	83
	80	72	87
20	20	38	58
	40	70	85
	60	90	92
	80	98	93

Çizelge 5.2. P-krezolün parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi

Ozon dozu (mg O ₃ /dk)	Temas süresi (dk)	P-krezolün giderilme yüzdesi (%)	COD giderilme yüzdesi (%)
5	20	28	29
	40	48	38
	60	65	46
	80	77	47
10	20	37	35
	40	62	51
	60	80	55
	80	95	56
15	20	48	43
	40	77	60
	60	90	72
	80	97	76
20	20	68	54
	40	93	74
	60	95	80
	80	99	84

Çizelge 5.3. 8-HK'in parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi

Ozon dozu (mg O ₃ /dk)	Temas süresi (dk)	8-HK'in giderilme yüzdesi (%)	COD giderilme yüzdesi (%)
5	20	9	24
	40	20	26
	60	30	29
	80	40	31
10	20	14	34
	40	29	47
	60	40	48
	80	52	49
15	20	20	37
	40	34	46
	60	52	51
	80	63	53
20	20	26	46
	40	50	56
	60	73	59
	80	86	61

Başlangıçta 122 mg/L (1 mM) olan benzoik asit konsantrasyonu 20 mg O₃/dk dozla, 60 dakika ozonlama sonucu 12.2 mg/L'ye kadar düşürülmüş ve % 90'ı ortandan uzaklaştırılmıştır. P-krezol ise aynı dozda 40.dakikada %93 oranında giderilmiştir. Heterohalkalı yapısı nedeniyle zor parçalanan 8-HK, 20 mg O₃/dk ozon dozunda 80.dakikada ancak %86 oranında parçalanmaktadır. Ozon dozu artıkça her üç model bileşikte ozonlama süresine bağlı olarak parçalanma miktarı artmıştır (Çizelge 5.1.,5.2.,5.3.).Yüksek ozon dozlarında maddelerin parçalanması daha hızlı ve daha kısa sürede olmaktadır (BOZTEPE ve GÜL, 1987).

Model maddelerin ozon tüketimleri de parçalanma miktarlarının artmasına paralel olarak çoğalmaktadır. Ozon dozu artıkça parçalanma miktarı artmakta ve dolayısıyla daha fazla ozon tüketilmektedir (Şekil 4.4, 4.5., 4.6.).

Ozonlama süresince tepkime ortamının pH değişimi asidik bölgeye doğru kaymaktadır. Bu sonuç organik maddenin ozonla oksitlenerek, organik asitlere dönüştüğünü göstermektedir. Ozon dozu artıkça pH değişimi daha kısa sürede meydana gelmektedir (Çizelge 4.1., 4.2., 4.3). Ozonlama sonunda sulu çözeltilerdeki organik kirleticilerin azalma miktarına bağlı olarak kimyasal oksijen gereksinimleri (COD) de azalmaktadır (Çizelge 5.1., 5.2., 5.3.). Örneğin, 20 mgO₃/dk. ozon dozunda 80 dakika ozonlama sonunda benzoik asitin başlangıçta 240 mg/L olan COD değeri %93 giderilerek 18 mg/L'ye kadar düşürülmüştür, aynı süre ve dozda p-krezolün başlangıçta 272 mg/L olan COD değeri %84 giderilme sonucu 43 mg/L'ye, 8-HK'in başlangıçta 304 mg/L'ye kadar olan COD değeri ise %61 giderilme sonucu 118 mg/L'ye kadar düşürülmüştür (Çizelge 5.1., 5.2., 5.3.). Ozon dozu artıkça, organik maddenin parçalanma miktarı ve giderilmesi artmakta ve dolayısıyla COD miktarı da düşmektedir (Şekil 4.7., 4.8., 4.9.).

Ozonlanmadan önce biyolojik parçalanabilirlikleri düşük olan bu model bileşiklerin, ozonlanma sonunda biyolojik parçalanabilirliklerinin arttığı saptanmıştır. Biyolojik parçalanabilirlik her bir model bileşik için BOD₅ değerleri COD değerlerine oranlanarak belirlendi (Çizelge 4.4., 4.5., 4.6.). Bu oranların artması biyolojik parçalanabilirliğin bir ölçüsü olarak kabul edilmektedir. Deney sonuçları bu oranların arttığını göstermiştir. Benzoik asitin 1 mM'lık çözeltisinde, ozonlamadan önce 0.077 olan BOD₅/COD oranı, 80 dakikalık bir süre sonunda 5, 10, 15 ve 20 mg O₃/dk. dozlarında sırasıyla; 0.326, 0.410, 0.720 ve 0.983'e kadar ; p-krezolün ise 1 mM'lık çözeltisinde ozonlamadan önce 0.066 olan BOD₅/COD oranı 80 dakika ozonlama sonucu 5, 10, 15 ve 20 mg O₃/dk. ozon dozlarında sırasıyla; 0.227, 0.260, 0.494, 0.530 oranında artmıştır. 8-HK'in 1 mM'lık çözeltisinde BOD₅/COD oranı ozonlamadan önce 0.012 iken, 80 dakika ozonlama sonunda 5, 10, 15 ve 20 mg O₃/dk. gibi dört ozon dozunda doz artışına bağlı olarak sırasıyla; 0.051, 0.058, 0.386 ve 0.428'e kadar yükselmiştir (Çizelge 4.4., 4.5., 4.6.).

Ortamın pH'sı organik maddelerin oksitlenmesinde önemli olan parametrelerden biridir. Bu amaçla çalışılan model bileşikler farklı başlangıç pH'larında ozonlandı. Ortamın pH'sı artıkça, parçalanma

miktarı (Şekil 4.10., 4.11., 4.12.) ve buna bağlı olarak ozon tüketimi de (Şekil 4.13., 4.14., 4.15.) artmaktadır. Model bileşiklerin ortamın pH'na ve ozonla temas süresine bağlı olarak ortandan uzaklaştırılma miktarları ise şu şekilde değişmektedir.

Çizelge 5.4. Benzoik asitin sabit ozon dozunda, farklı başlangıç pH değerlerinde parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi
Benzoik asit:122 mg/L , COD:240 mg/L , Ozon dozu: 10 mg O₃/dk

Temas süresi (dk)	% Parçalanma			% COD giderme		
	pH 3	pH 7	pH 9	pH 3	pH 7	pH 9
20	10	16	22	20	27	34
40	20	32	46	33	45	53
60	30	48	60	39	50	61
80	37	57	73	51	54	67

Çizelge 5.5. P-krezolün sabit ozon dozunda, farklı başlangıç pH değerlerinde parçalanması ve COD üzerine ozonun etkisi
P-krezol:108 mg/L , COD:272 mg/L , Ozon dozu: 10 mg O₃/dk

Temas süresi (dk)	% Parçalanma			% COD giderme		
	pH 3	pH 7	pH 9	pH 3	pH 7	pH 9
20	12	17	24	33	35	52
40	24	36	45	46	51	65
60	37	51	67	51	55	69
80	48	63	76	52	56	71

Çizelge 5.6. 8-HK'in sabit ozon dozunda, farklı başlangıç pH değerlerinde parçalanma ve COD üzerine ozonun etkisi
8-hidroksi kinolin:145 mg/L , COD:304 mg/L , Ozon dozu: 10 mg O₃/dk

Temas süresi (dk)	% Parçalanma			% COD giderme		
	pH 3	pH 7	pH 9	pH 3	pH 7	pH 9
20	16.5	14	23	52	34	53
40	34	28	44	62	47	64
60	52	44	65	62.5	48	65
80	64	53	75	63	49	66

Benzoik asitte ortamın pH değişimine bağlı olarak en fazla parçalanma bazik ortamda meydana gelmektedir. Ozonla temas süresi artıkça, parçalanma miktarı artmaktadır. Başlangıçta 204 mg/L olan kimyasal oksijen ihtiyacı, bazik ortamda 80 dakika sonunda %67 oranında azalarak 79.2 mg/L'ye kadar düşmüştür. Aynı şekilde p-krezol ve 8-hidroksi kinolinde de bazik ortamda en fazla parçalanma ve kimyasal oksijen ihtiyacında azalma görülmüştür. Parçalanma yüzdesi ve COD miktarındaki azalma temas süresi artıkça artmaktadır.

Ozonlama sırasında alınan örneklerdeki pH değişimi (asidik alana kayması) başlangıç pH'na bağlı olarak en fazla yüksek pH'larda yani bazik ortamda meydana gelmektedir (Çizelge 4.7., 4.8., 4.9.).

Organik maddelerin bazik ortamda ozonla daha fazla parçalanması kimyasal oksijen tüketimlerinin daha az olmasına (Şekil 4.16., 4.17., 4.18.), biyolojik parçalanabilirliğin diğer ortamlara kıyasla daha fazla olmasına (Çizelge 4.10., 4.11., 4.12.) neden olmaktadır.

Farklı başlangıç pH'larında ozonlanmış örneklerde yapılan toksisite testleri, ozonlama süresine bağlı olarak maddelerin toksisitelerinin azaldığını ve bazik ortamdaki ozonlanma ürünlerinin daha az toksik olduğunu göstermektedir (Çizelge 4.13., 4.14., 4.15.). Benzoik asitin 1 mM'lık çözeltisinin 10 mg O₃/dk. ozon dozuyla 80 dakika ozonlanması sonucu; pH 3'de başlangıçta %25 olan toksisite %9'a, pH 7'de başlangıçta %20 olan toksisite %5'e, pH 9'da %22 olan

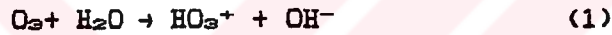
toksisite %1.8'e kadar, p-krezolün yine aynı doz ve sürede ozonlanması sonucu pH 3'de ozonlanmadan önce %65 olan toksisitesi %40.7'ye, pH 7'de %50 olan toksisite %24.3'e, pH 9'da %41 olan toksisite %13.2'ye düşürülmüştür. 8-HK'de ise 1mM'lık çözeltisinin 10 mg O₃/dk.ozon dozunda, 80 dakika ozonlanması sonucu ise, pH 3'de ozonlanmadan önce %60 olan toksisite %28.5'a, pH 7'de %78'den, %45.6'ya; pH 9'da %51.5'dan %15'e kadar azalmıştır.Çünkü bazik ortamda maddelerin parçalanma ve giderilme miktarı daha fazladır.

Organik bileşiklerin ozonla parçalanmasında ozon dozu, ortamın pH'sı, ozonlama süresi ve maddelerin kimyasal yapısı gibi parametreler önemli olmaktadır (BOZTEPE ve GÜL, 1987; 1988; GÜL ve BOZTEPE, 1987). Bu amaçla fonksiyonel grupları farklı olan model maddeler seçildi.

Model maddelerin ozonla parçalanmalarının kimyasal yapılarına bağlılığını, parçalanma miktarlarını göz önüne alarak açıklayabiliriz. Benzoik asit pH 3'ün üzerinde oldukça dissosiyeye olur. pH'nın artması COOH grubunun deprotonasyonunu artırır. Bazik ortamda ise ozonun sulu ortamda bozunması sonucu oluşan OH⁻ radikallerinin sayısının artması oksidatif etkisini çoğaltarak maddenin parçalanma miktarını artırır. Benzoik asitin, 122 mg/L başlangıç konsantrasyonu, 80 dakika ozonlama sonucu, pH 3'de %37 parçalanma sonucu 77 mg/L'ye düşürülürken, pH 7'de %57 parçalanma sonucu 53 mg/L'ye, pH 9'da %73 parçalanma sonucu 33 mg/L'ye kadar azalmıştır (Çizelge 5.4). Bu sonuç benzoik asitin en fazla bazik ortamda parçalandığını göstermektedir. Ozon düşük pH'larda -CH₃ ve -OH substitue p-krezole karşı elektrofilik olarak davranmaktadır. Ancak pH artışı CH₃ grubunun oksitlenerek -COOH grubunun oluşmasına ve bazik ortamda daha aktif olan fenolat iyonunun oluşmasına neden olur. Bu da bazik ortamda p-krezolün daha fazla parçalanmasına neden olur. Deneysel sonuçlar bunu doğrulamaktadır. P-krezolün 108 mg/L derişimi, 10 mg O₃/dk. ozon dozunda 80 dakika ozonlanması sonucu pH 3'de %48 parçalanma ile 56 mg/L'ye, pH 7'de %68 parçalanma ile 40 mg/L'ye, pH 9'da %76 parçalanma sonucu 26 mg/L'ye kadar düşürülmüştür (Çizelge 5.5). Asidik ortamda 8-HK'nin, -N atomu pozitif yük kazanır ve hetero halkanın elektron yoğunluğunu azaltır. Bunun sonucunda, ozonun elektrofilik saldırısına karşı halkayı deaktive eder. Bu nedenle asidik ortamda parçalanma, bazik ortama göre daha güç olmaktadır. Deneysel sonuçlar, 145 mg/L derişimindeki 8-HK'in

10 mg O₃/dk. ozon dozunda 80 dakika ozonlanması sonucu pH 3'de %64 parçalandığı halde pH'de %53 parçalandığını göstermiştir. En fazla parçalanma bazik ortamda %75 oranında gerçekleşti. pH 7'de ise -OH⁻'in bulunduğu halkada oluşan -O⁻ iyonu ile, -N⁻'in bağlı bulunduğu halkada -NH⁺ iyonu dengededir. 8-HK'nin asidik ve bazik ortamda, nötr ortama göre daha fazla parçalanmasının nedeni amfoter bir özelliğe sahip olmasından ileri gelmektedir.

Bazik ortamda, ozonun sulu ortamda bozunması ile oluşan OH⁻ radikallerinin oksidatif etkisiyle parçalanma miktarı artmaktadır. Her üç bileşik de bazik ortamda (pH 9) en fazla parçalanmaktadır (GÜL ve BOZTEPE, 1987 b). Bazik ortamda parçalanmanın daha fazla olmasının nedeni Hewes ve Davison'un, ozonun sulu ortamda bozunma tepkimesi göz önüne alınarak açıklanabilir (Bölüm 1.1.6.).



Bu bozunma tepkimesinin 2. basamağındaki tepkime iki yönlü bir denge tepkimesidir. Bu basamakta meydana gelen radikallerin derişimi ortamın bazlığına bağlıdır. Ortamdaki OH⁻ iyonu artınca denge Le Chatelier prensibine göre, sağa yani radikallerin lehine kayar. Dolayısıyla radikallerin sayısı artar. Sulu bazik ortamda radikal sayısının artması organik maddeyle daha çok tepkimeye neden olur. Bundan dolayı bazik ortamda tepkime hızı artmaktadır. Asidik ortamda ise hidrojen iyonlarının (H₃O⁺) derişiminin artması, 2. tepkimenin sağında bulunan OH⁻ iyonlarıyla birleşerek H₂O oluşmasına neden olur. Böylece denge sola kayar ve radikal derişimi azalır. Organik maddenin radikallerle tepkime hızı düşer. Bu nedenle asidik ortamda parçalanma daha yavaş olmaktadır.

Model bileşiklerin ozonla parçalanma tepkimelerinin derecesi ve hız sabitleri tayin edildi. Bunun için iki farklı deney yapıldı. Önce model maddenin derişimi sabit tutularak, değişik ozon dozlarında parçalanma miktarı tayin edildi. Model maddenin ozonla parçalanma miktarının logaritması (logC), zamana karşı yarı logaritmik bir kağıda geçirildi. Grafiğin doğrusal olması maddenin, ozonla parçalanmasının ozon dozuna bağlı olarak 1. dereceden olduğunu göstermektedir (Şekil 4.19., 4.23., 4.27.). Daha sonra ozon dozu sabit tutularak,

model maddenin farklı derişimlerinde ozonla parçalanma miktarı saptandı. Parçalanma miktarının logaritması ($\log C$), zamana karşı grafiğe geçirildi. Bu grafiğin doğrusal olması madde derişimine bağı olarak, organik maddenin ozonla parçalanma tepkimesinin de 1. dereceden olduğunu göstermektedir (Şekil 4.20., 4.24., 4.28.). Maddenin ozonla parçalanma tepkimesinin toplam derecesi yukarıdaki verilere göre ozon ve madde derişimine bağı olarak 2. dereceden olmaktadır. Tepkimenin hızı genel olarak şu şekilde ifade edilir:

Organik madde + $O_3 \rightarrow$ Parçalanma ürünleri

$$-dC/dt \text{ (Tepkime hızı)} = k[O_3][\text{Organik madde}]$$

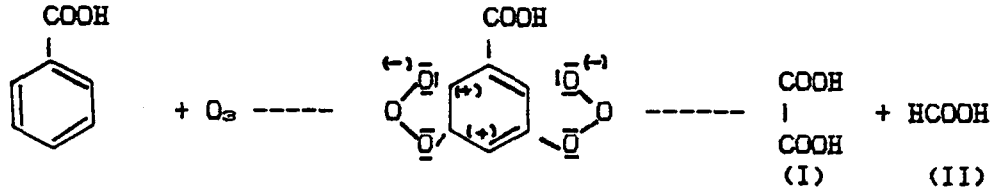
Reaksiyon hız sabitleri, her bir madde için hem madde derişimi, hem de ozon konsantrasyonu değiştirilerek elde edilen doğruların eğiminden hesaplandı (Şekil 4.19., 4.20., 4.23., 4.24., 4.27., 4.28.). Benzoik asitin ozonla reaksiyon hız sabitleri, ozonun 5, 10, 15 ve 20 mgO_3/dk dozlarında sırasıyla; $1.08 \times 10^{-4} s^{-1}$, $1.33 \times 10^{-4} s^{-1}$, $1.66 \times 10^{-4} s^{-1}$ ve $2.00 \times 10^{-4} s^{-1}$ iken, benzoik asitin 0.25, 0.50 ve 1.00 $mmol/L$ derişimleri için $0.66 \times 10^{-4} s^{-1}$, $0.83 \times 10^{-4} s^{-1}$, $1.83 \times 10^{-4} s^{-1}$ olarak değişmektedir. P-krezolde ozon dozuna bağı olarak hız sabitleri sırasıyla $1.66 \times 10^{-4} s^{-1}$, $1.72 \times 10^{-4} s^{-1}$, $1.92 \times 10^{-4} s^{-1}$ ve $2.06 \times 10^{-4} s^{-1}$. p-krezol konsantrasyonuna bağı olarak ise; $1.08 \times 10^{-4} s^{-1}$, $1.25 \times 10^{-4} s^{-1}$, $3.33 \times 10^{-4} s^{-1}$ 'dir. 8-HK'de ozon dozuna bağı olarak $1.66 \times 10^{-4} s^{-1}$, $2.16 \times 10^{-4} s^{-1}$, $2.50 \times 10^{-4} s^{-1}$ ve $3.00 \times 10^{-4} s^{-1}$, madde derişimine bağı olarak $0.83 \times 10^{-4} s^{-1}$, $1.00 \times 10^{-4} s^{-1}$ ve $2.50 \times 10^{-4} s^{-1}$ 'dir.

Hız sabitleri kendi aralarında belli bir katsayıya bağı olarak değişmektedir. Benzoik asitte ozon derişimine bağı olarak hız sabitleri arasındaki katsayılar 1.20-1.23 arasında değişmekte, benzoik asit konsantrasyonuna bağı olarak; 0.50/0.25 oranı için 1.25, 1.00/0.50 oranı için 2.20 değerini almaktadır. P-krezolde bu katsayılar ozon konsantrasyonuna bağı olarak 1.04-1.11 arasında değişmekte, p-krezol derişimindeki artışa bağı olarak 0.50/0.25 oranı için 1.15, 1.00/0.50 oranı için 2.66 olmaktadır. Hız sabitleri arasındaki katsayılar 8-HK'de ozonun derişimlerine bağı olarak; 1.15-1.30 arasında değişmekte; 8-HK'in konsantrasyonlarına bağı olarak 0.50/0.25 oranı için 1.20, 1.00/0.50 oranı için 2.50 olmaktadır. Katsayıların üstel olarak değil, bir parametreye bağı olarak

değişmesi tepkimenin 1.dereceden olduğunu göstermektedir. Bunun doğruluğu 1. dereceden tepkimenin hız sabitlerinin logaritmasının, maddenin başlangıç derişimlerinin logaritmasına ve ozon konsantrasyonlarının logaritmasına karşı grafiğe geçirilerek de denendi (Şekil 4.21., 4.22., 4.25., 4.26.,4.29., 4.30). Hoigne ve Bader'e göre bu grafiğin doğrusal çıkması ve doğrunun eğiminin 1 ± 0.5 sınırları içinde olması, ozonla parçalanma tepkimesinin hem maddenin konsantrasyon değişimine, hem de ozon konsantrasyon değişimine bağlı olarak 1.dereceden olduğunu göstermektedir (HOIGNE ve BADER, 1983). Her üç model bileşik için 1.dereceden tepkimenin hız sabitlerinin logaritmasının, maddenin başlangıç konsantrasyonuna ve ozon konsantrasyonlarının logaritmasına karşı çizilen grafikleri doğrusaldır. Bu grafiklerden ozonun farklı derişimlerine bağlı olarak belirlenen eğimler sırasıyla benzoik asit, p-krezol ve 8-HK için 1.5, 0.5 ve 1.0'dir. Aynı şekilde maddenin farklı başlangıç derişimine bağlı olarak belirlenen eğimler benzoik asit, p-krezol ve 8-HK için sırasıyla; 1.23, 0.80 ve 0.90 olmak üzere 1 ± 0.5 sınırı içindedir. Ozon ile model bileşikler arasındaki 2.dereceden tepkimenin hız sabitleri yine Hoigne ve Bader'in çalışmalarına göre; 1.dereceden tepkimenin hız sabitlerinin maddenin başlangıç derişimlerine oranlanmasıyla bulundu (HOIGNE ve BADER, 1983). Benzoik asit, p-krezol ve 8-HK için 2.dereceden tepkimenin hız sabitleri sırasıyla $0.160 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$, $0.336 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ve $0.261 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ dir.

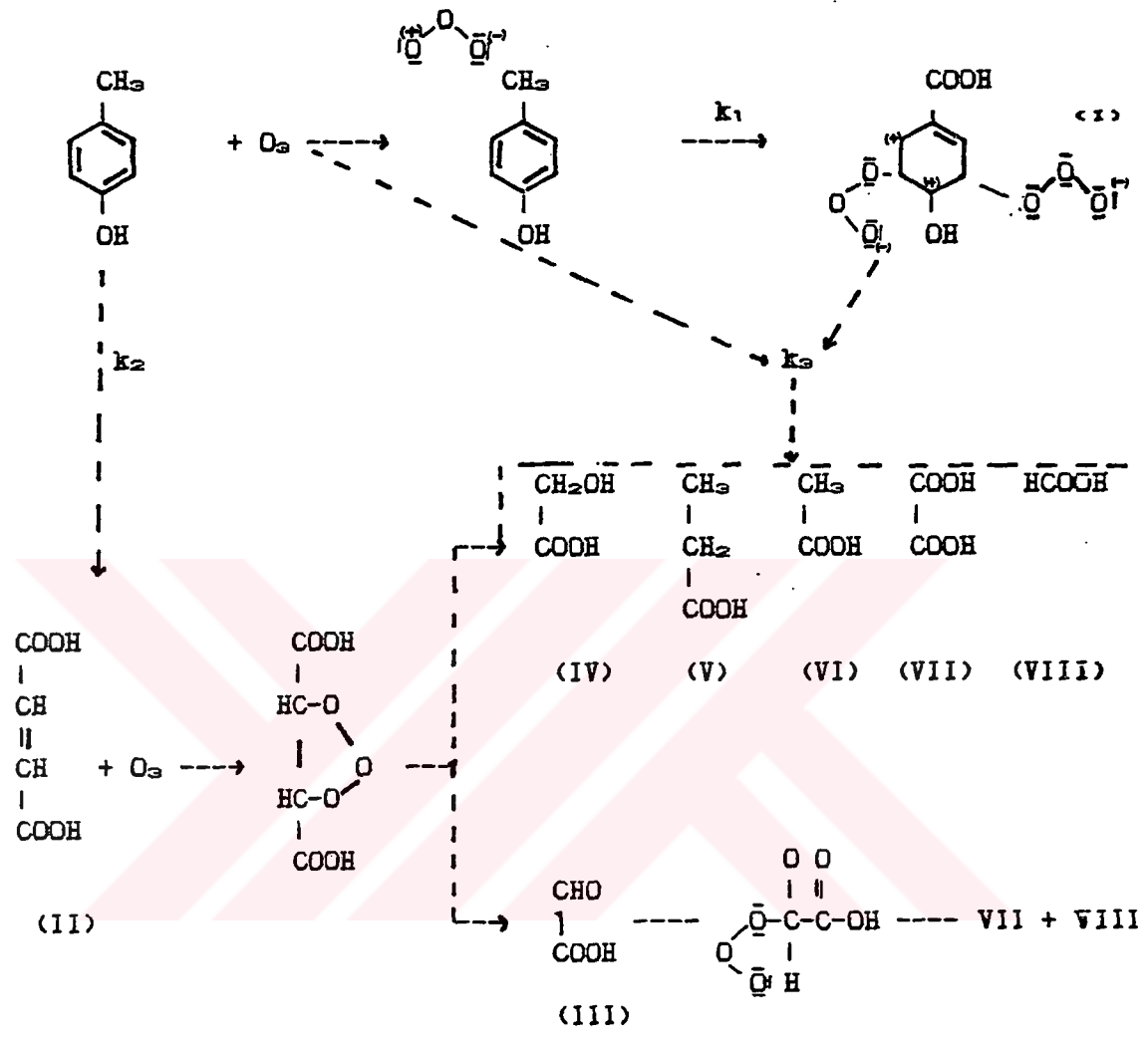
Model bileşiklerin ozonla parçalanma mekanizmasını açıklamak için parçalanma ürünlerinin tayini gaz kromatografisi ve GC/MS ile bölüm 3.4'de anlatıldığı şekilde yapıldı. Belirlenen parçalanma ürünleri ve maddelerin kimyasal yapısı göz önüne alınarak her model bileşik için ozonla parçalanma mekanizması verilmeye çalışılmıştır:

Benzoik asit molekülünde COOH grubundaki karbon atomu yüksek oksidasyon basamağında (+3) olduğu için ozonla oksidasyon ilgisi azdır (HENDRICKSON ve ark., 1970). Ozonun halkaya elektrofilik saldırısı 3. ve 5. karbon atomları üzerine olur. Halka parçalanır ve parçalanma ürünleri oluşur. Gaz kromatografisi ile bu ürünlerin okzalik ve formik asitler (Bölüm 4.1.4, çizelge 4.16) olduğu saptandı. Buna göre benzoik asitin parçalanma mekanizması şu şekilde önerilebilir:



Okzalik ve formik asitlerin her ikisinin de ozonla reaksiyon ilgileri oldukça azdır. Ozonla parçalanma hız sabitleri, benzoik asit ozon reaksiyon hız sabitini etkilemeyecek kadar düşüktür (HOIGNE ve BADER, 1983 ; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984). Bu yüzden reaksiyon hızını belirleyen basamak, halkanın ozonla parçalanmasıdır. Reaksiyon son basamak olarak CO_2 ve H_2O 'a kadar ilerlemektedir.

P-krezolde halkaya bağlı $-\text{CH}_3$ ve $-\text{OH}$ gruplarının her ikisinde halkanın elektron yoğunlugunu artırır. İlk olarak $-\text{CH}_3$ grubunda -3 oksidasyon basamağındaki karbon atomu, $-\text{COOH}$ 'e oksitlenir. I no'lu molekül oluşur. Bu molekülün 3. ve 5. karbon atomlarına ozonun saldırısı sonucu halka parçalanır. Parçalanma sonucu II, IV, V, VI, VII ve VIII parçalanma ürünleri oluşur (HENDRICKSON ve ark., 1970). Bu parçalanma ürünlerinin meydana geldiği gaz kromatografisi ve GC/MS ile belirlendi (Bölüm 4.1.4, çizelge 4.16, 4.17). P-krezolün ozonla parçalanma mekanizması şu şekilde önerilebilir:



II parçalanma ürünü ile ozonun reaksiyonu sonucu III ve VIII; III parçalanma ürününün oksitlenmesi sonucu ise VII ve VIII meydana gelir. Daha sonra CO₂ ve H₂O'a kadar parçalanır. Parçalanma ürünleri: I.p-hidroksi benzoik asit, II. maleik asit, III.gliksilik asit, IV.glikolik asit, V.propiyonik asit, VI.asetik asit, VII.okzalik asit, VIII.formik asit.

Önerilen bu mekanizma Gilbert'in maleik asitin ozonlanması ile ilgili yaptığı çalışma sonuçlarıyla uygunluk göstermektedir. Gilbert'e göre; maleik asitin ozonlanması sonucu gliksilik ve formik asitler oluşmakta, gliksilik asitin ozonlanması sonucunda ise okzalik asit meydana gelmektedir. Maleik asitin tamamen parçalanması ile CO₂ ve H₂O meydana gelmekte, okzalik asit ise çok az oksitlenmektedir (GILBERT, 1978).

P-krezolün ozonla parçalanma mekanizması oluşan ara ürünlerin oksidasyon hızlarına ve buna bağlı olarak p-krezolün bu ara ürünlere dönüşme oranı göz önüne alınarak da açıklanabilir:

P-hidroksi benzoik asitin p-krezolden oluşma hız sabiti k_1 ve p-krezolün ozonla oksitlenme hız sabiti k_p , olmak üzere; k_1/k_p oranlanarak p-krezolün, p-hidroksi benzoik asite dönüşme oranı bulundu.

$k_1/k_p = 5.5 \times 10^{-2} / 0.336 = 0.164$ olması, p-krezol oksidasyon reaksiyonunun %16.4'nün p-hidroksi benzoik asit üzerinden yürüdüğünü göstermektedir. Aynı şekilde maleik asit için hesaplanırsa, k_2 , maleik asitin p-krezolden oluşma hız sabiti olduğuna göre;

$$k_2/k_p = 2.5 \times 10^{-2} / 0.336 = 0.074 \text{ bulunur.}$$

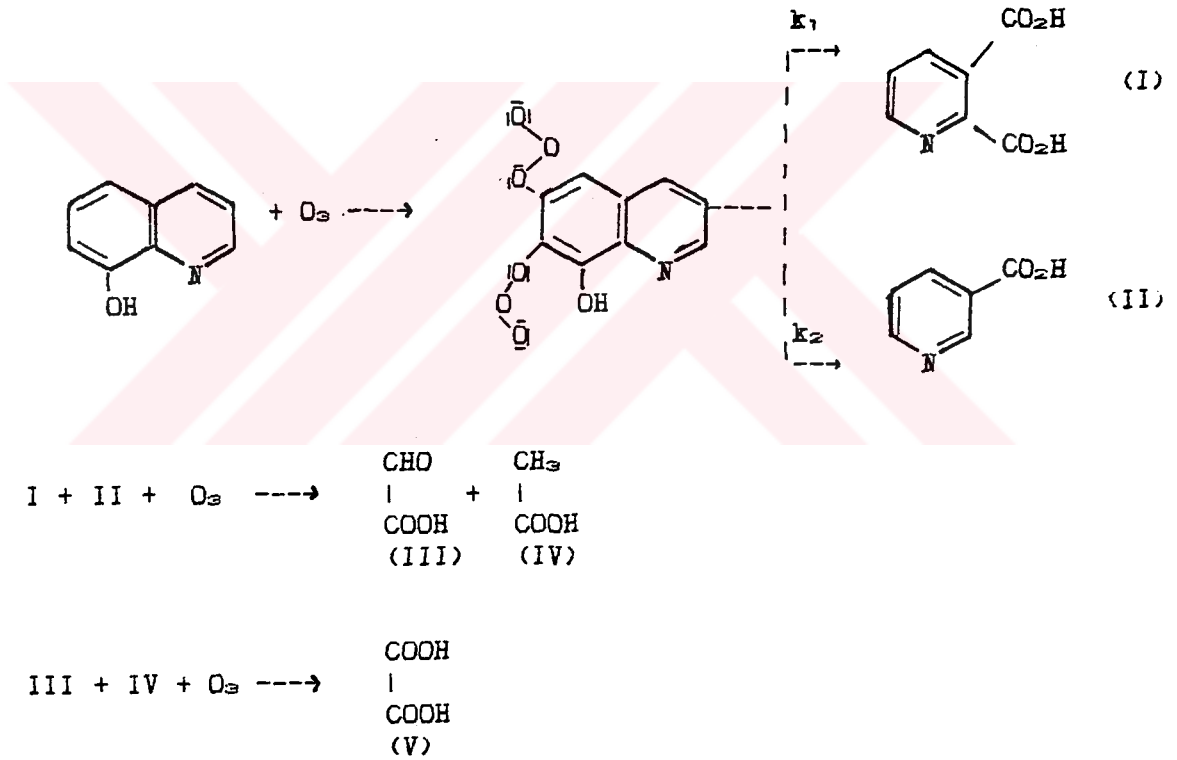
Bu sonuç p-krezolün ozonla oksidasyon reaksiyonunun %7.4'nün maleik asit üzerinden yürüdüğünü göstermektedir. Geriye kalan %74'ü diğer parçalanma ürünlerine harcanmaktadır. Asetik asit, okzalik asit, formik asit, gliksilik ve propiyonik asitler pratik olarak reaksiyon ilgilerinin düşük olması nedeniyle ozonla çok yavaş reaksiyona girerler (HOIGNE ve BADER, 1983; RAZUMOVSKII ve ZAIKOV, 1984). Bu yüzden p-krezol hız sabitini etkilemezler.

8-HK'in ozonla parçalanma mekanizması ise şu şekilde açıklanabilir: Ozonun hetero halkalı 8-HK'ne elektrofilik saldırısı elektron yoğunluğunun en fazla olduğu 5,6. ve 7,8 bağlarına olur. -OH grubunun bulunduğu hetero halka açılır ve I,II no'lu parçalanma

ürünleri meydana gelir. I ve II'nin ozonla parçalanması sonucu III, IV; III'ün ozonla oksidasyonu sonucu V meydana gelir.

8-HK'in gaz kromatografisi ile belirlenen (Bölüm 4.1.4, çizelge 4.18) parçalanma ürünleri ; I. kinolik (2,3-dikarboksilik) asit, II. nikotinik (3-piridin karboksilik) asit, III. glioksilik asit, IV. asetik asit, V. okzalik asit 'dir.

Buna göre 8-HK'in ozonla parçalanma mekanizması aşağıdaki şekilde gösterilebilir:



8-HK'in ozonla parçalanma mekanizmasını açıklayabilmek için ayrıca 8-HK'in oluşan parçalanma ürünlerine dönüşme oranı tayin edildi (Bölüm 4.1.5, şekil 4.35, 4.36, 4.37). k_1 , 8-HK'den kinolik asitin oluşma hız sabiti olmak üzere k_1/k_{HK} oranı, 8-HK'in kinolik asite dönüşme oranını verir.

$$k_1/k_{HK}=5.37 \times 10^{-3}/0.261 \times 100 = \% 2.0 \text{ oranındadır.}$$

Nikotinic asit üzerinden ise $k_2/k_{HK}=2.45 \times 10^{-3}/0.261 \times 100 = \% 0.93$ oranında gerçekleşmektedir. %97 ise halka parçalanması şeklinde yürümektedir.

5.2. Benzoik asit, P-krezol ve 8-HK'in *P. chrysosporium* ile Biyolojik Parçalanması ve Mantarın Bu Ortamda Büyüme Hız Sabitlerinin Tayini

Farklı yapıdaki pek çok organik bileşiği parçalayabilme özelliğine sahip beyaz küf mantarı *P. chrysosporium*'un benzoik asit, p-krezol ve 8-HK gibi model bileşiklerini ne oranda parçalayabildiğini tayin etmek için; bu model bileşiklerini içeren kültür ortamlarına (Bölüm 3.3.1.) *P. chrysosporium* asılanarak 15 gün boyunca biyolojik parçalanmaya bırakıldı. Bu sırada 3'er gün aralıklarla alınan örneklerde benzoik asit ve p-krezolün parçalanma miktarları gaz kromatografisiyle, 8-HK'in ise spektrofotometrik olarak tayin edildi (Bölüm 4.2.1.). Maddelerin farklı derişimlerinde beyaz küf mantarıyla 15 gün sonundaki parçalanma miktarları aşağıda verilmektedir:

<u>Benzoik asit derişimi (g/L)</u>	<u>% Parçalanma</u>
0.5	43
0.3	50
0.1	90

<u>P-krezol derişimi (g/L)</u>	<u>% Parçalanma</u>
0.3	42
0.1	63
0.05	75

<u>8-HK derişimi (g/L)</u>	<u>% Parçalanma</u>
0.2	50
0.1	56
0.05	65

Her üç model bileşikte de konsantrasyon artıka beyaz küf mantarıyla parçalanma miktarı azalmaktadır. Bu da konsantrasyon artıka model maddelerin mantar üzerine toksik etki yaptığını göstermektedir. Aynı konsantrasyonlardaki model bileşikler içinde en fazla benzoik asit, en az 8-HK parçalanmaktadır. Örneğin 0.1 g/L derişiminde benzoik asit %90 parçalandığı halde, p-krezol %63, 8-HK %56 oranında parçalanmaktadır.

Farklı derişimlerdeki model maddelerden 3'er gün aralıklarla alınan örneklerde, ortamda kalan madde miktarının logaritmasının zamana karşı çizilen grafiklerinin (Şekil 4.43, 4.44, 4.45) her üç madde için doğrusal çıkması, bu maddelerin beyaz küf mantarı ile parçalanma tepkimesinin 1.dereceden olduğunu göstermektedir. Bu doğruların eğiminden model maddelerin beyaz küf mantarıyla parçalanma hız sabitleri belirlendi. Benzoik asitin %0.01, 0.03 ve 0.05 derişimleri için tayin edilen hız sabitleri sırasıyla $5.65 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, $5.39 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ve $4.86 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 'dir. P-krezolün %0.05, 0.1 ve 0,3 derişimleri için ise $7.23 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, $4.67 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ve $3.38 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, 8-HK'in %0.05, 0.1 ve 0.2 derişimleri için sırasıyla $6.82 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$, $4.38 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ ve $3.77 \times 10^{-6} \text{ s}^{-1}$ 'dir. Hız sabitlerinin değeri, aynı derişimdeki model bileşiklerde en fazla benzoik asit, en az 8-HK'de olduğu bulundu.

Model maddelerin, mantarın büyümesi üzerine ne oranda toksik etkisi olduğunu saptamak için hazırlanan farklı derişimlerdeki çözeltilerine substrat olarak glikoz eklenerek (15 g/L) beyaz küf mantarının büyümesi 15 gün boyunca incelendi. Bu süre içinde 3'er gün aralıklarla alınan örneklerde mantarın büyüme miktarı kuru ağırlık olarak tayin edildi (bölüm 3.3.2). Bu değerler zamana karşı grafiğe geçirilerek büyüme eğrileri elde edildi (Şekil 4.46, 4.47, 4.48). Mantarın büyümesine paralel olarak mantarın glikoz tüketimi de artmaktadır. Model bileşiklerin aynı konsantrasyonlarda büyüme ve buna

bağlı olarak glikoz tüketimi en fazla benzoik asitli ortamda, en az ise 8-HK içeren ortamda gerçekleşmektedir. Örneğin 0.1 g/L derişimindeki benzoik asit içeren ortamda beyaz küf mantarının kuru ağırlık miktarı 4.59 g/L ve geriye kalan glikoz miktarı 1.8 g/L iken, aynı derişimde 15 gün sonunda p-krezolde kuru ağırlık miktarı 3.05 g/L, geriye kalan glikoz miktarı 4.7 g/L, 8-HK'de kuru ağırlık miktarı 0.64 g/L, geriye kalan glikoz miktarı 6.75 g/L'dir. Bu da en düşük toksisiteye benzoik asitin ,en fazla 8-HK'nin sahip olması nedeniyledir. Sonuçlar literatür verileriyle uygunluk göstermektedir (GLEASON ve ark., 1969; ARENA, 1979).

Büyüme egrisindeki logaritmik fazdaki biyokütle derişiminin zamana karşı logaritmik kağıda geçirilmesi ile elde edilen doğrudan büyüme hız sabiti belirlendi. Bu amaçla model bileşiklerin farklı konsantrasyonlarındaki büyüme egrisinde 3. ve 12. günler arasındaki büyüme miktarları logaritmik kağıda geçirildi (Şekil 4.49., 4.50., 4.51). Bu doğruların eğimi hesaplanarak her maddenin farklı konsantrasyonlardaki büyüme hız sabiti bulundu. Benzoik asitin %0.01, 0.03 ve 0.05 konsantrasyonları için belirlenen hız sabitleri sırasıyla 0,029 saat⁻¹, 0.013 saat⁻¹ ve 0.0063 saat⁻¹'dir. P-krezolün %0.05, 0.01 ve 0.03 konsantrasyonları için sırasıyla 0.0130 saat⁻¹, 0.0125 saat⁻¹ ve 0.0083 saat⁻¹'dir, 8-HK %0.0005, 0.01 ve 0.02 konsantrasyonları için ise, 0.0040 saat⁻¹, 0.0032 saat⁻¹ ve 0.0024 saat⁻¹'dir. Model maddelerin büyüme hız sabitleri parçalanma hız sabitleri gibi konsantrasyon artıka azalmaktadır. *P. chrysosporium*'un benzoik asiti tolere edebilme konsantrasyonu 0.5 g/L'ye kadar çıkabilmektedir. P-krezolde büyüme hız sabiti %0.03 derişiminde birden bire azalmaktadır. Bu sonuç bu derişimdeki, p-krezolün beyaz küf mantarının büyümesini inhibe ettiğini göstermektedir. Bu derişimin üstünde mantar üzerine p-krezolün toksik etkisi artmaktadır. 8-HK'de ise 0.2 g/L'ye kadar büyüme hız sabiti belirlenebildiği halde 0.3 g/L derişiminde mantarda tayin edilebilecek miktarda büyüme hız sabiti belirlenemedi. Hız sabitleri model bileşiklerin konsantrasyonları artıka düşmektedir. Model bileşiklerin aynı derişimdeki çözeltileri içinde büyüme hız sabiti en fazla benzoik asitli ortamda en az 8-HK içeren ortamda belirlendi.

Model bileşiklerin beyaz küf mantarı ile biyolojik parçalanması sonucu gaz kromatografisiyle belirlenen parçalanma ürünleri (Bölüm 4.2.4., çizelge 4.19) aşağıda verilmektedir:

Model madde	Parçalanma ürünleri
Benzoik asit	Okzalik asit, formik asit, hidrojen peroksit
P-krezol	Maleik asit, glikolik asit, okzalik asit, formik asit, hidrojen peroksit
8-HK	Propiyonik asit, glikolik asit, okzalik asit, formik asit, hidrojen peroksit

Biyolojik parçalanma sonucu her üç bileşikte görülen hidrojen peroksit, beyaz küf mantarının salgıladığı enzimlerle model maddelerin parçalanması sonunda, parçalanma ürünü olarak ortamda bulunmaktadır.

P. chrysosporium'un model bileşikleri parçalaması 3 -6. günler arasında başlamaktadır. 3. günden önce çok az veya hiç parçalanma gözlenmemiştir. 3-6 günler boyunca, inkübasyon erlenlerinde mantarın misellerinde farkedilir şekilde büyüme gözlemlendi. Bu süreye uyum süresi denir. Bu süre sonunda mantar büyümeye başlar ve büyüme miktarında maksimum artış ve organiklerin parçalanması görülür. Benzoik asitte 0.1 g/L derişiminde 6.günde kuru ağırlık miktarı 1.65 g/L iken maksimum büyümenin olduğu 15. günde 4.59 g/L'ye yükselmiş, madde miktarı 6.günde 0.025 g/L iken, 15 günde tayin edilemeyecek kadar düşmüştür. Aynı derişimde p-krezolde kuru ağırlık miktarı 6.günde 2.2 g/L'den, maksimum büyümenin gözlemlendiği 12. günde 2.38 g/L'ye yükselmiş, madde miktarı 6.günde 0.05 g/L iken 12.günde 0.035'e düşmüştür. 8-HK'de ise 0.1 g/L derişiminde 6. günde kuru ağırlık miktarı 0.6 g/L'iken 12.günde 0.65'e kadar yükselmiş, madde miktarı 6.günde 0.054 g/L'den 12. günde 0.044 g/L'e düşmüştür.

P.chrysosporium'un organik bileşikleri parçalama mekanizması enzimlerin etkisiyle oluşan peroksitler ve bunların ortama verdiği OH·

radikallerine bağılı olmaktadır (LEATHAM ve ark., 1983; BUMPUS ve AUST, 1985; 1986 a; 1986 b; 1988).

Benzoik asitte önce dekarboksilasyon daha sonra halka parçalanması meydana gelir. P-krezolde ise demetilasyonla önce $-CH_3$ grubu $-COOH$ 'e oksitlenir. Oksidasyon sonunda ortamda bulunması beklenen p-hidroksi benzoik asit bu mantar tarafından %100 oranında parçalanmaktadır. Bu nedenle ortamda gözlenememiştir. Ancak diğer parçalanma ürünleri tayin edildi. 8-hidroksi kinolinde de doğrudan halka parçalanması ile oluşan organik asitler belirlendi.

Beyaz küf mantarı *P. chrysosporium* atık su arıtımında kullanılan pek çok mikroorganizmaya kıyasla önemli üstünlüklere sahiptir. Çoğu mikroorganizma sulu ortamda sadece çözülmüş haldeki organikleri parçalayabildiği halde, *P. chrysosporium*'un salgıladığı özel hücresel enzimleri, sudaki çözünürlüğü düşük olan veya çözünmeyen organiklerin oksidasyonunu katalizleyebilmektedir. Çoğu mikroorganizma belirli yapıdaki organikleri parçalayabildiği halde, *P. chrysosporium* çok farklı yapıdaki enzimleriyle parçalanmaya dirençli pek çok organik bile CO_2 'e kadar tamamen parçalayabilmektedir.

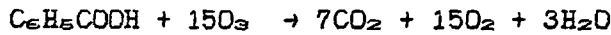
P. chrysosporium'un doğal oluşumlu olması, uygulama ve bulunma kolaylığı gibi nedenlerle su arıtımında önemi gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışmada da aromatik halkalı ve suda çözünürlüğü düşük olan organik maddelerin bile, düşük molekül ağırlıklı organik asitlere kadar 15 gün içinde önemli ölçüde parçalandıkları belirlendi.

Ozonla arıtma hem kısa sürede arıtmayı gerçekleştirmekte, hemde sulu ortamda bulunan organikler tamamen zararsız olan CO₂ ve H₂O'a kadar oksitlenebilmektedir. Bu çalışmada da model bileşiklerin parçalanma eğrileri (Şekil 4.1., 4.2. ve 4.3) ekstrapole edilirse en düşük dozda (5 mg O₃/dk), 1 mmol konsantrasyonundaki organik maddeleri oksitleyerek parçalamak için, benzoik asit ve 8-HK için 2 saat, p-krezol için 70 dakika, 20 mg O₃/dk ozon dozunda ise benzoik asit için 55 dakika, p-krezol için 18 dakika, 8-HK için 70 dakika gerekmektedir. Ortamın pH'nı ve ozon dozunu ayarlayarak bu süre daha da kısaltılabilmektedir. Bu çalışmada sulu ortamda organikleri içeren örneklerde ozonla parçalamanın en etkili bazik ortamda (pH 9) gerçekleştiği belirlenmiştir. Ayrıca model bileşiklerin ozonla, düşük molekül ağırlıklı oksalik ve formik asitlere kadar oksitlendiği saptandı.

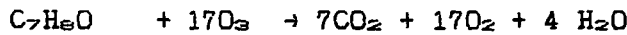
İçme suyu arıtımında ozonun üretim ve kullanım giderleri olarak; doların günümüzdeki kuru göz önüne alınırken düşük 9 TL, en fazla 20 TL/m³ su maliyet söz konusudur (EPA,1978). Sontheimer, içilebilir suda çözülmüş organik karbon içeriğinin (DOC) ≤0.2 mg/L olması halinde suyun ozonlanabileceğini deneylerle göstermiştir (EPA,1978).

Bu çalışmada model bileşiklerin ozonla verdiği parçalanma ürünlerinin belirlenebilmesi ve reaksiyon mekanizmasının tayin edilmesi için başlangıçta 1 mM olarak hazırlanan sulu çözeltilerinde organiklerin %100 CO₂ ve H₂O'a oksitlenmesi için gerekli O₃ miktarı teorik olarak hesaplandı. Reaksiyon denklemleri şu şekilde verilebilir:

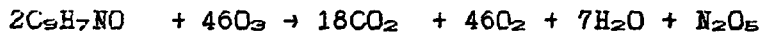
Benzoik asit için;



P-krezol için;



8-Hidroksi kinolin için;



Yukarıdaki tepkimeler göz önüne alınırsa, 1 mM benzoik asit (122mg/L) için, 720 mg O₃, 108 mg/L p-krezol için 816 mgO₃ ve 145 mg/L 8-HK için 1104 mg O₃ gerekmektedir. Eğer bu derişimler Sontheimer'in içme suyu için önerdiği oranlara düşürülerek, 1 metreküp su için verilirse; 122 mg/m³ benzoik asit için 720x10⁻⁶ kg O₃,

108 mg/m³ p-krezol için 816x10⁻⁶ kg O₃, 145 mg/m³ 8-HK için 1104x10⁻⁶ kg O₃ gerekmektedir.

Avrupadaki içme suyunun ozonla arıtıldığı tesislerde Temple, Barke ve Sloane'nin yaptıkları çalışmalar sonucu; farklı içme suyu kapasiteli tesisler için O₃ işletme maliyeti hesaplanmıştır (EPA, 1978). Bu verilerden yararlanarak, doların bugünkü kuru üzerinden model bileşiklerin içme suyunda için verilen 0.2 mg/L'lik derişimleri için sarf edilen ozonun maliyeti hesaplanabilir: 1 m³ içme suyunun ozonlanması için kg ozon başına 13 517 TL maliyet söz konusu olduğuna göre ;benzoik asit için 13 517 TL/kgx7.2x10⁻⁴ kg/m³=9.7 TL/m³ su bulunur. Aynı şekilde p-krezol ve 8-HK için de hesaplanırsa; p-krezol için 11.07 TL/m³ su ve 8-HK için 14.98 TL/m³ su bulunur. Bu sonuçlar Avrupadaki mevcut içme suyu arıtma tesisleri için verilen maliyet sınırları içindedir. Ozonla arıtmanın yapıldığı içme suyu tesislerinde arıtım yapılacak suyun hacmi artıkça bu maliyet dahada azalmaktadır. Örneğin;

60 m ³	su kapasiteli bir tesis için	81426 TL/kg O ₃ -gün,
4232 m ³	"	" " 16390 " "
319160 m ³	"	" " 5138 " "
2912052 m ³	"	" " 2826 " "

maliyet söz konusudur.

İçme su kaynakları genellikle 3-15 mg/L arasında suda çözülmüş organik madde içerir. Suda çözülmüş bu maddelerin filtreler ve aktif karbonla uzaklaştırılması mümkün değildir. Sudaki organiklerin çoğu fenolik yapılı hümkik asitlerdir. Suyun klorlanması ile fenolik klorlu ve kanserojen olan trihalometan bileşiklerinin (CCl₄, CHCl₃) oluşması söz konusudur (NEBEL ve NEZGOD, 1984; EPA, 1978). Ozonun içme sularındaki çözülmüş organikleri oksitlemesi sırasında, toksik ve suyun tadını bozan ürünler oluşturmaması, suya istenmeyen renk ve tad veren inorganiklerin uzaklaştırılması ve en önemlisi hastalık yapıcı mikroorganizmaların, bakteri ve virüslerin herhangi bir organik kalıntı bırakmadan yok edilmesi gibi çok yönlü kullanım söz konusudur.

Ozonun elektrige bağlı olarak üretilmesi nedeniyle, ekonomik bir arıtma yöntemi olmadığını savunanlar mevcuttur. Ancak ozonun çok yönlü kullanımının, düşük dozlarda bile kısa sürede etkili olmasının, maliyetinin klorla kıyaslanabilir düzeyde olduğunu göstermiştir

(MAJUMDAR ve SPROUL, 1974). Ozonun klora göre kullanım masrafları ve diğer üstünlükleri göz önüne alındığında, içme suyunun hazırlanmasında ozonlama, uygun bir yöntem olarak önerilebilir.

6. ÖZET

İçilebilir suları etkin olarak dezenfekte etme ve içerdiği organiklerden arıtma yöntemlerinden biri, ozonlamadır. Ozonun yüksek oksidasyonu potansiyeline sahip olması, içme suyunun hazırlanmasında çok amaçlı kullanımını sağlar. Bu kullanımlar arasında, suda çözülmüş organiklerin oksitlenerek parçalanması, ağır metallerin çöktürülerek ortamdaki uzaklaştırılması; tad, renk, koku giderme; dezenfeksiyon; süzülebilirlik ve safsızlıkların biyolojik parçalanabilirliklerinin artırılması gibi uygulamalar vardır.

Su arıtımında ozonun etkinliği, pH, ozon dozu ve sulu ortamdaki organiklerin yapısına bağlıdır. Bu çalışmada benzoik asit, p-krezol ve 8-hidroksi kinolin gibi bazı toksik organik maddeler model bileşik olarak seçildi. Bu bileşiklerin 1 mM'lık çözeltileri hazırlanarak ozonlandı..

Laboratuvardaki deneysel çalışma, ozonla etkin arıtma koşullarını tayin etme ve ozonla parçalanma ürünlerinin belirlenmesi amacıyla yapıldı. Ozonlama iki şekilde gerçekleştirildi. İlk olarak çözeltilerin kendi başlangıç pH'larında farklı ozon dozları (5, 10, 15 ve 20 mg O₃/dk) kullanıldı. İkinci olarak, kullanılan ozon dozu sabit tutulup (10 mg O₃/dk), ortamın pH'ı (pH 3, pH 7, pH 9) değiştirildi.

Ozon dozu ve çözeltilerin başlangıç pH'nın artışına bağlı olarak organiklerin parçalanma miktarları ve ozon tüketimleri artarken, organik madde konsantrasyonu azalmaktadır. Buna bağlı olarak örneklerin kimyasal oksijen ihtiyaçları (COD) ve toplam organik karbon miktarları (TOC) azaldı.

Biyolojik olarak parçalanamayan veya parçalanabilirliği düşük olan organiklerin ozonlanması sonucunda biyolojik parçalanabilirliklerinin de arttığı görüldü.

Model maddelerin ozonlama ile toksisitelerinin azalıp azalmadığını belirlemek amacıyla, model maddelerin farklı başlangıç pH'larında ozonlamadan önceki ve ozonlama sırasında alınan örneklerde toksisite testi yapıldı. Bu test bakteri (*Pseudomonas putida*) testi kullanılarak yapıldı. Örneklerin toksisitelerinin model bileşiklerin farklı başlangıç pH'larında ozonlama ile azaldığı gözlemlendi.

Organiklerin parçalanmasında ortamın pH'da önemlidir. pH'nın artışı, ozonun daha aktif olan hidroksil radikallerine bozunmasına neden olur. Bu nedenle her üç model bileşikte de, bazik ortamda parçalanma daha fazladır.

Model maddelerin ozonla parçalanma ürünlerinin nitel ve nicel analizleri UV-VIS spektrofotometresi, gaz kromatografisi ve kütle spektrometresi kombine gaz kromatografisi (GC/MS) ile yerine getirildi.

Benzoik asit, p-krezol ve 8-HK'in belirlenen parçalanma ürünleri aşağıda verilmektedir:

Benzoik asit : Okzalik asit, formik asit
 P-krezol : p-hidroksi benzoik asit, maleik asit, propiyonik asit, glioksilik asit, glikolik asit, asetik asit, okzalik asit, formik asit
 8-HK : Kinolik (2,3-dikarboksilik) asit, nikotinic (3-piridin karboksilik) asit, glioksilik asit, okzalik asit

Belirlenen parçalanma ürünlerine göre, model maddelerin ozonla reaksiyon mekanizmaları açıklanmaya çalışıldı.

Model bileşiklerin ozonla reaksiyon hız sabitleri belirlendi. Çalışılan tüm reaksiyonlar hem ozon hem de madde konsantrasyonuna bağlı olarak 1.dereceden, toplam reaksiyon derecesi ise her üç model bileşik için 2.dereceden bulundu. Model maddelerin ozonla parçalanma mekanizması, model maddelerin oluşan parçalanma ürünlerine dönüşme oranı göz önüne alınarak da açıklandı.

Biyolojik arıtma, atık sudaki biyolojik parçalanabilir organik maddeleri uzaklaştırmada kullanılır. Bununla birlikte, mikrobiyolojik parçalanmaya dirençli organik kirleticiler de vardır.

Beyaz küf mantarı *Phanerochaete chrysosporium*, doğal olarak parçalanmaya dirençli çok sayıdaki organik kirletici de dahil olmak üzere pek çok organik bileşiği parçalayabilmektedir.

Bu çalışmada model bileşiklerin beyaz küf mantarı *P. chrysosporium* tarafından ne oranda parçalandıkları ve bu bileşiklerin mantarın büyümesi üzerine hangi derişimde toksik etki yaptığını belirlemek için, model bileşikleri değişik derişimlerde içeren kültür ortamları hazırlandı. Hazırlanan bu ortamlarda benzoik asit ve p-krezolün beyaz küf mantarıyla parçalanma miktarları gaz

kromatografisi, 8-HK ise spektrofotometre ile belirlendi. Model bileşikler içinde en fazla benzoik asit, en az 8-HK parçalanmaktadır.

Model maddelerin beyaz küf mantarıyla parçalanması sırasında, ortamda kalan madde konsantrasyonunun logaritmasının zamana karşı çizilen grafiklerinin her üç madde için doğrusal çıkması, bu maddelerin beyaz küf mantarıyla parçalanma tepkimesinin 1.dereceden olduğunu göstermektedir.

Beyaz küf mantarının büyümesi üzerine en fazla 8-HK, en az benzoik asitin toksik etki yaptığı belirlendi. Büyüme eğrisindeki logaritmik fazın zamana karşı logaritmik kağıda geçirilmesi sonucu, farklı derisimlerdeki model bileşikler için büyüme hız sabitleri belirlendi.

Benzoik asit, p-krezol ve 8-HK'nin beyaz küf mantarıyla biyolojik parçalanması sırasında oluşan ve gaz kromatografisiyle belirlenen parçalanma ürünleri aşağıdadır:

Benzoik asit: Okzalik asit, formik asit ve hidrojen peroksit

P-krezol : Maleik asit, glikolik asit, okzalik asit, formik asit ve hidrojen peroksit

8-HK : Propiyonik asit, glikolik asit, okzalik asit, formik asit ve hidrojen peroksit.

Phanerochaete chrysosporium hem doğal oluşumlu mikroorganizma oluşu hem de biyolojik parçalanmaya dirençli sentetik maddeleri bile parçalayabilmesi gibi nedenlerle atık su arıtımında önemi gün geçtikçe artmaktadır.

Sontheimer'e göre, içerisindeki çözünmüş organik karbon miktarı (DOC) 0.2 mg/L olan bir su herhangi bir problem olmadan ozonlanabilir (EPA, 1978). Bu çalışmada da model bileşikleri en fazla 0.2 mg/L derişiminde içerecek şekilde sulu çözeltiler hazırlandı. Bu organiklerin giderilmesi için ozonun, 1 m³ su başına doların bugünkü kuruna göre maliyeti hesaplandı. Sonuçların klorlama ile kıyaslanabilir düzeyde olduğu bulundu. Ozonun çok amaçlı kullanımı ve düşük dozlarda bile etkili olabilmesi maliyetini daha da düşürmektedir. Sudaki organikleri tamamen zararsız olan ürünlere oksitlemesi gibi üstünlükleri de düşünülürse, ozon içme suyu hazırlanmasında uygun görülmektedir.

7. SUMMARY

One of the effective methods for disinfection and removing organic contents of potable waters is ozonation. Ozone provides the usage for many aims in water treatment because of its high oxidation potential. Among these applications are: degradation of dissolved organics in water by oxidation; removal of heavy metals by precipitation; reduction of taste, odor, and color; disinfection; increasing filtration characteristics and even biodegradability of impurities.

In water clarification the efficiency of ozonation is affected by pH, ozon dosages and structures of organics in aqueous medium. In this study, some toxic organic compounds such as benzoic acid, p-cresol and 8-hydroxy quinoline (8-HQ) were chosen as model compounds. 1 mM aqueous solutions each of these compounds were prepared and ozonated.

An experimental work was carried out in laboratory with the aim of finding efficient treatment conditions with ozone and identification of ozonation by-products. Ozonation was carried out in two parts. In the first part of ozonation, different ozon dosages of 5, 10, 15 and 20 mgO₃/L ozone were used at initial pHs of compounds. In the second part of ozonation, pHs of media (pH 3, pH 7, pH 9) were changed at constant dosage of 10 mgO₃/min ozone.

It was found that, while the amount of degradations of organics and the ozone consumption increase, the concentrations of organic carbon decrease with the increasing of ozone dosages and initial pHs. Hence, chemical oxygen demands (COD) and amounts of total organic carbon (TOC) of samples decrease

It has also been seen that, non biodegradable or poorly degradable organics can be made biodegradable by oxidation with ozone.

The toxicity test is carried out in samples which were taken before and during ozonation at different initial pHs of model compounds in order to determine whether toxicity of model compounds decrease by ozonation or not. This test with *Pseudomonas putida* gives a result that, the toxicities of samples decreased with ozonation time.

pH of the medium is also important for degradation of organics. Increasing of pH, induces to decomposition of ozone into hydroxyl radicals which more reactive. For this reason degradation of each three compounds in basic medium is more than other media.

Qualitative and quantitative analyses of degradation products of model compounds by ozonation were performed by UV-VIS Spectrophotometer, Gas Chromatography, and Mass Spectrophotometer combine gas chromatography (GC/MS).

Degradation by-products of benzoic acid, p-cresol and 8-HQ which were estimated, are as follows:

Benzoic acid: Oxalic acid, formic acid

P-cresol : p-hydroxy benzoic acid, maleic acid, propionic acid, glyoxylic acid, glycolic acid, acetic acid, oxalic acid, formic acid

8-HQ : Quinolic (2,3-dicarboxylic) acid, nicotinic (3-pyridine carboxylic) acid, glyoxylic acid, oxalic acid.

The degradation mechanisms of model compounds are given according to degradation products which are determined.

Rate constants of reactions of ozone with model organic compounds have been determined. The rates of all the reactions studied are first order with respect to ozone and solute concentration. It is found that, total rate orders of overall reaction of organics with ozone are 2. order. The degradation mechanism of the model compounds by ozone has also been explained by taking into consideration the ratio of degradation products to model compounds.

Biological treatment is used primarily to remove the biodegradable organic substances in wastewater. However, there are organopollutants that are resistant to microbial degradation. The white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* is able to mineralize a wide variety of organic compounds, including a number of organopollutants which are normally resistant to microbial degradation in the environment.

In this experimental work, solutions of model compounds were prepared at various concentrations in order to determine their extent of degradation by *P. chrysosporium* and at which concentration they have toxic effect on growth of fungus. The extent of degradation of

benzoic acid and p-cresol by white rot fungus were estimated by gas chromatography and of that 8-HQ were determined by spectrophotometer. Benzoic acid is the most, 8-HQ is the least degradable .

Linearity of graphs of log residu concentrations of organics versus time shows that, the reactions of degradations of model concentrations by white rot fungus are first order.

It is determined that, 8-HQ has the most, and benzoic acid has the least toxic effect on growth of white rot fungus. The growth rate consants for different concentrations of model compounds were determined by plotting the logarithm of the phase concentration in growth curve, versus time.

The products which are formed during biodegradation of benzoic acid, p-cresol and 8-HQ by white rot fungus were determined by GC, are as follows:

Benzoic acid : Oxalic acid, formic acid and hydrogen peroxide
 P-cresol : Maleic acid, glycolic acid, oxalic acid, formic acid
 and hydrogen peroxide
 8-HQ : Propionic acid, glycolic acid, oxalic acid, formic acid
 and hydrogen peroxide.

The use of *P. chrysosporium* holds great potential for use in biodegradation of wastes not only because of its natural role as primary decomposer of naturally occuring biomass, but also for its likely role as decomposer of man made xenobiotics as environmental pollutants.

According to Sontheimer, water with a dissolved organic carbon DOC ≤ 0.2 mg/L can be ozonated without any problem. In this study aqueous solutions of model compounds were prepared containing impurity at maximum concentration of 0.2 mg/L .The cost of ozone per m³ water was calculated with respect to currency rate of Dollar. The results indicated that the cost was comparable to chlorination. Because ozone has a multipurpose application and the fact it is effective at low dosages makes ozone even cheaper. In addition, ozone has the advantage of oxidizing the organic material in water into harmless products. Thus ozone is more preferable in potable water treatment.

8. KAYNAKLAR

- AGRIOS, G.N., 1978. Plant Pathology. Academic Press. New York.
- AHMED, M., KINNEY, C.R., 1950. Ozonization of Humic Acids Prepared from Oxidized Bituminous Coal. J. Am. Chem. Soc. 72. 559-561.
- AMIN, D., BASHIR, V.A., 1986. Spectrophotometric Determination of α -Naphthol, β -Naphthol and Oxine in Aqueous Solution. Microchemical Journal. 33. 78-80.
- ARENA, J.M., 1979. Poisoning. Toxicology. Symptoms. Treatment. 4th ed. Charles C Thomas Publishers. Illinois. USA. s.116.
- ARJMAND, M., SANDERMANN, H., 1985. Mineralization of chloro aniline/ Lignin conjugates and of free chloroanilines by the White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. J. Agric. Food. Chem. 33. 1055-1060.
- AYERS, A.R., ERIKSSON, K.E., 1978. Cellobiose oxidase, purification and partial characterization of a hemoprotein from *Sporotrichum pulverulentum*. Eur. J. Biochem. 90. 171-181.
- BAARSCHERS, W.H., HEITLAND, H.S., 1986. Biodegradation of Fenitrothion and Fenitrooxon by the fungus *Trichoderma viride*. J. Agric. Food. Chem. 34. 707-709.
- BAILEY, P.S., 1978. Ozonation in organic Chemistry. Academic Press. New York. 39-1. 272.
- BANCROFT, K., CHROSTOWSKI, P., WRIGHT, R.L., SUFFET, I.H., 1984. Ozonation and Oxidation Competition values. Relationship to Disinfect and Microorganisms regrowth. Water Rec. 18. 4. 473-478.
- BANDE, H., BURCHARD, H., ARSOVIÇ, H.M., 1970. Ozon Oksidatives Abbaumittel für Phenole in wässrigen Lösungen. Ges. Ing. 9. 258-262.
- BARTHELMAI, W., CZOK, R., 1962. Klin. Wochensch. 40 585.
- BEAN, E.L., 1959. Ozone effectiveness, production and cost in water treatment. J. Am. Chem. Soc. Adv. Chem. 21. 430-442.
- BELEV, J.S., 1969. Oxidation. vol 1. New York, London. 259.
- BIRDSALL, C.M., JENKINS, A.C., SPADINGER, E., 1952. Iodometric Determination of Ozone. Analytical Chemistry. 24. No 4. 662-664.
- BOLLYKY. J.K., 1977. Reactions of ozone with trace organics in water and wastewaters. In Virus and Trace Contaminants in Water and Wastewaters

- J.C. Bouchard, J.K. Cleland. Ann Arbor. MI.
- BOLLYKY, J.K., CHROSTOWSKI, P., WRIGHT, R.L., SUFFET, I.H., 1984. Ozonation and Oxidation Competition Values. Water Res. 18. No 4. 473-478.
- BOUCHER, P.L., 1967. Micro-straining and ozonation of water and wastewater. Pro. Twenty-second Industrial Waste Conf. Purdue Univ. Part II. 771.
- BOZTEPE, H., GÜL, Ş., 1987. Rezorsin, anilin ve 8-hidroksi kinolin gibi bazı bileşiklerin sulu ortamda ozonlanması ve parçalanma miktarının ozon dozuna bağlılığının araştırılması. Uluslararası Çevre'87 Sempozyumu. İstanbul.....1988. Nitrobenzen, rezorsinol ve benzoik asit gibi bazı organik bileşiklerin sulu ortamda ozonlanması ve parçalanma miktarlarının tayini. Ç.Ü. Araştırma Fonu I.Bilim Kongresi Bildirileri. s.261-271. 28-30 Kasım 1988. Adana.
- BRUNER, W., SUTHERLAND, F.H., FOCHT, D.D., 1985. Enhanced biodegradation of polychlorinated biphenyls in soil by analog enrichment and bacterial inoculation. J. Environ. Qual. 14. 324-328.
- BUCHALA, A.J., LEISOLA, M., 1987. Structure of the β -D-glucan secreted by *Phanerochaete chrysosporium* in continuous culture. Carbohydrate Research. 165. 146-149.
- BUESCHER, C.A., RYCKMAN, D.W., 1961. Reduction of foaming of ABS by ozonation. Proc. Sixteenth Industrial Waste Conf. Purdue Univ. 251.
- BUMPUS, J.A., TIEN, M., WRIGTH, D., AUST, S.D., 1985a. Oxidation of Persistent Environmental Pollutants by a White Rot Fungus. Science. 228. 1434-1436....., 1985b. Biodegradation of Environmental Pollutants by the White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Incineration and Treatment of Hazardous Wastes. Proc. of the Eleventh Annual Research Symposium. Cincinnati.OH.U.S. EPA. EPA/600/9-85/028. 120-126.
- BUMPUS, J.A., AUST, S.D., 1985. Studies on the Biodegradation of Organopollutants by a White Rot Fungus. Proc. International Conference on New Frontiers for hazardous Waste Management. Pittsburgh. PA. U.S. EPA. EPA/600/9-85/025. 404-410....., 1986a. Biodegradation of Environmental Pollutants by the White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Involment of the Lignin Degrading System. Bio Essay.6. No 4. 166-170....., 1986b. Biological Oxidations by Enzymes from a

- White Rot Fungus. American Institute of Chemical Engineers. Summer Meeting. Boston. MA. Aug. 1986....., 1988. Biodegradation of chlorinated Organic Compounds by *Phanerochaete chrysosporium*. A wood Rotting Fungus. J.H. Exner (editor). Solving Hazardous Waste Problems ACS Books. Washington. DC.
- BURNHAM, A.K., CALDER, G.V., FRITZ, J.S., JUNK, G.A., SVEC, H.J., WILLIS, R., 1972. Identification and Estimation of Neutral Organic Contaminants in Potable Water. Anal. Chem. 44. No.1. 139-142.
- CHANG, H.M., JOYCE, T.W., CAMPBELL, A.G., GERRARD, E.D., HUYNH, V.B., KIRK, T., 1983. Fungal decolorization of bleach plant effluents. T. Hicuchi, H.M. Chang., T.K. Kirk (editörler). Recent Advances in Lignin Biodegradation. Uni. Publishers. Tokyo. 257-268.
- CHROSTOWSKI, P.C., DIETRICH, A.M., SUFFET, I.H., 1983. Ozone and Oxygen Induced Oxidative coupling of Aqueous Phenolics. Water Res. 17. 1627-1633.
- COIN, L., 1964. Inactivation par l'ozone du virus de la poliomyélite present dans les eaux. Presse me'd. 72. 37.
- CRAWFORD, R., 1981. Lignin Biodegradation and Transformation. John Wiley. New York. 154.
- CRIGEE, R.A., 1975. Mechanismus der Ozonolyse. Ing. Chemie. 765-771.
- CROMLEY, J.T., O'CONNOR, J.T., 1976. Effect of ozonation on the Removal of Iron from a Ground Water. American Water Works Association Journal. 68. 315-319.
- DAHI, E., 1976. Physicochemical aspects of disinfection in water by means of ultrasound and ozone. Water Resour. 10. 677-684.
- DOBINSON, F., 1960. Ozonization of Maleic Acid in Aqueous Solution. Chemistry and Industry. 6. 853-854.
- DIAPER, E.W.J., 1968. Microstaining and ozonation of sewage effluent. 41st. An. Conf. of Wat. Pollut. Control Fed. Chicago.
- EATON, D.C., 1985. Mineralization of Polychlorinated Biphenyls by *Phanerochaete chrysosporium*. A Ligninolytic Fungus. Enzyme Microb. Technol. 7. 194-196.
- EL'YASHEVICH, M.A., 1972. Atomic and Molecular Spectra. Moscow. Fizmatgiz. 558.

- EISENHAUER, H.R., 1968. The Ozonization of Phenolic Wastewater. *Poll.Cont. Fed.* 40. 1887-1899....., 1971a. Dephenolization by ozonolysis. *W.Res.* 5.467-472....., 1971b. Increased rate and efficiency phenolic waste ozonation. *J.Water Poll.Cont.Fed.* 200-208.
- EPA-600/2.78.1978. An assesment of Ozone and Chlorine Dioxide Technologies for Treatment of Municipal Water Supplies. August 1978
- ERDIK, E., OBALI, M., YUKSEKİŞİK, N., OKTEMER, A., PEKEL, T., IHSANOĞLU, E., 1987. *Denel Organik Kimya*. Ankara Universitesi Fen Fak. Yayın No.145.
- ERIKSSON, K.E., PETERSON, B., 1975a. Extracellular enzyme system utilized by the Fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 1. Separation, purification and physio-chemical characterization of five endo-1,4- β glucanoses. *Eur .J. Biochem.* 51. 193-206....., 1975b. Extracellular enzyme system utilized by the Fungus *Sporotrichum pulverulentum* (*Chrysosporium lignorum*) for the breakdown of cellulose. 3. Purification and physio-chemical characterization of an exo-1,4- β glucanase. *Eur. J. Biochem.* 51. 213-218....., 1982. Purification from the white rot Fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Eur.J.Biochem.* 124. 635-647.
- EVANS, F.L., RYCKMAN, D.W., 1963. Ozonated treatment of wastes containing ABS. *Proc. Eighteenth Industrial Waste Conf. Purdue Univ.* 141.
- FAROOQ, S., CAIN, E.S., ENGELBREHT, K., 1977. Basic concepts in disinfection with ozone. *J.Wat.Poll.Control. Fed.* 49. 1818-1831.
- FREMERY, M.I., FIELDS, E.K., 1963. Emulsion Ozonization of Cycloolefins in Aqueous Alkaline Hydrogen Peroxide. *J. Org. Chem.* 28.2537-47.
- GABOVICH, R.D., KURINNYI, I.L., FEDERENKO, Z.R., 1969. The Effect of Ozone and Chlorine on 3,4-Benzopyrene During Water Treatment. *Gig. Baselenn Mest.* 88.
- GLEASON, M.W., GOSSELIN, R.E., HODGE, H.C., SMITH, R.P., 1969. *Clinical Toxicology of Commercial Products. Acute Poisoning*. The Williams CO. Baltimore.
- GIBSON, D.T., 1984. *Microbial Degradation of Aromatic Hydrocarbons*. Marcel Dekker Inc. New York. 535.

- GILBERT, E., 1978. Reactions of Ozone with Organic Compounds in Dilute Aqueous Solutions. Identification of Their Oxidation Products. Ozone Chlorine Dioxide Oxidation Products of Organic Materials. R.G. Rice, J.A. Cotruva (editörler). Intl.Ozone. Ins. Cleveland. Ohio. 227-242.
- GUINVOICH, P., 1959. Three years of ozone sterilization of water in Paris. Ozone Chemistry and technology. Staff of ACS. Applied Publications. ACS Washington. DC.
- GUROL, M.D., NEKOUINAINI, S., 1984. Kinetic Behavior of Ozone in Aqueous Solutions of Substituted Phenols . Ind. Eng. Chem. Fundam. 23. 54-60.
- GÜL, Ş., BOZTEPE, H., 1987a. O-toluidin ve p-toluen sülfonik asit gibi organik bileşiklerin sulu ortamda ozonlanması ve parçalanma miktarının tayini. IV. Kimya ve Kimya Mühendisliği Sempozyumu. 10-12 Haz. Elazığ.....1987b. p-krezol, nitro benzen ve anilin gibi bazı organik bileşiklerin sulu ortamda ozonlanması ve pH değişimine bağlı olarak parçalanma ve COD miktarının tayini. Çevre 87 Sempozyumu. 26-28 Ekim. İzmir.
- HAAG, W.R., HOIGNE, J., 1983. Ozonation of water containing Chlorine or Chloroamines. Water Res. 17. No 10. 1397-1402.
- HAAG, W.R., HOIGNE, J., BADER, H., 1984. Improved ammonia oxidation by ozone in the presence of bromide ion during water treatment. Water Res. 18. 1125-1128.
- HAEMERLI, S.D., LEISOLA, M.S.A., SANGLARD, D., FIECHERA, A., 1986. Oxidation of Benzopyrene by Extracellular Ligninases of *Phanerochaete chrysosporium*. Veratryl Alcohol and stability of Ligninases. J. Biol. Chem. 261. 6900-6903.
- HEWES, C.G., DAVISON, R.R., 1971. Kinetics of ozone decomposition and reaction with organics in water. Am. Inst. Chem. Eng. Journ. 17. 141-147.
- HILLIS, R., 1977. The Treatment of Phenolic Wastes by Ozone. III. Intl. Symp. on Ozone Techn. Paris.
- HOIGNE, J., BADER, H., 1979. Ozone requirements and oxidation of trace impurities. W. Kuhn., H. Sontheimer (editörler). Oxidation Techniques in Drinking Water Treatment. EPA.570/9-79-020.

- HOIGNE, J., BADER, H., HAAG, W.R., STAEHELIN, J., 1981a. Rate constants of Reactions of Ozone with Organic and Inorganic Compounds in Water. I. Water Res. 17. 173-183., 1981b. Rate Constants of Reactions of Ozone with Organic and Inorganic Compounds in Water. II. Water Res. 17. 185-194., 1984. Rate Constants of Reactions of Ozone with Organic and Inorganic Compounds in Water. III. Water Res. 19. No 8. 993-1004.
- HRUBEC, J., HART, J.T., MARSMAN, P., LUISTEN, A.J., 1984. Impact of Chlorine, Chlorine Dioxide and Ozone on the Oxidation of NTA during Drinking Water Treatment. 33. 548-555.
- HUYNH, V.B., KIRK, T., 1983. Fungal decolorization of bleach plant effluents. T. Hicuchi, H.M. Chang, T.W., Kirk. Recent Advances in Lignin Biodegradation. Uni. Publishers. Tokyo. No 9. 257-268.
- HUYNH, V.B., CHANG, H.N., JOYCE, T.W., KIRK, T.K., 1985. Dechlorination of chloro-organics by a white rot fungus. T.A.P.P.I. J. 68. No 7. 98-102.
- IL'NITSKY, P., 1969. Experimental Investigation of the Elimination of Carcinogenic Hydrocarbons from Water During its Clarification and Disinfection. Gig.Y. Sanit. 34(9). 317-321.
- JAGER, A., CROAN, S., KIRK, K., 1985. Production of Ligninases and Degradation of Lignin in Agitated Submerged Cultures of *Phanerochaete chrysosporium*. Applied and Environmental Microbiology. No 5. 1274-1278.
- JUNK, G.A., RICHARD, J.J., GRIESER, M.D., WITIAK, D., WITIAK, J.L., CALDER, G.V., 1974. Use of Macroreticular Resins in the Analysis of Water for Trace Organic Contaminants. Journal of Chromatography. 99. 746-762.
- JURS, R.H., 1966. Die Wirkung des Ozons auf im Wasser Gelöste Stoffe (The Effect of Ozone on Materials which are Dissolved in Water). Fortschr. Wasserchem. Iher Grenzgebiete. 41. 40-64.
- KERSTEN, B.J., TIEN, M., KALYANARAMAN, B., KIRK, T.K., 1985. The Ligninase of *Phanerochaete chrysosporium* generates cation radicals from methoxy benzenes. J. Biol. Chem. 260. 2609-2612.
- KINMAN, R.N., 1975. Water and wastewater disinfection with Ozone. CRC. Criti. Rev. Environ. Control. 5. 141-152., 1976. Analysis of Ozone R.G. Rice, M.E. Browning (editörler). Fundamental Principles. First Int. Symp. on Ozone in Water and Wastewater Treatment. Cleveland. Ohio.

- KINNEY, C. R., FRIEDMAN, L. T., 1952. Ozonization Studies on Coal Constitution. J. Am. Chem. Soc. 74. 57-61.
- KIRK, T. K., CHANG, H. M., 1975. Decomposition of Lignin by White rot fungi. II. Characterization of heavily degraded lignins from decayed spruce. Holzforschung. 29. 56-64.
- KIRK, T. K., CONNORS, W. J., BLEAN, R. D., HACKELL, N. F., ZEUKUS, J. G., 1975. Preparation and microbial decomposition of synthetic [^{14}C] lignins. Proc. Nat. Acad. Sci. (Wash). 72. 2515-2519.
- KIRK, T. K., CONNORS, W. J., ZEIKUS, J. G., 1976. Requirement for a growth substrate lignin decomposition by two wood rotting fungi. Appl. Environ. Microbiol. 32. 192-194.
- KIRK-OTHMER. 1964. Encyclopedia of Chemical Technology. Sec. ed. H. F. Mark, J. J. Mcketta, D. F. Othmer (editörler). Interscience Publishers a Div. of John Wiley & Sons. USA. vol 3. 420-439. . . . 1965. vol 6. 434-444.
- KIRK, T. K., SCHULTZ, E., CONNORS, W. J., LORENZ, L. F., ZEIKUS, J. G., 1978. Influence of Culture Paramaters on Lignin Metabolizm by *Phanerochaete chrysosporium*. Arch. Microbiol. 117. 277-285.
- KORKE, R., 1965. Ozone and chlorine in water treatment. Chem. Abs. 63. 14357g.
- KUCZYNSKI, E. R., 1979. Applications of TOC Measurement. Adv. Instrum. 34(1). 333-341.
- KWIE, W. W., 1969. Ozone treats waste streams from polymer plant. Wat. Sew. Wks. 116. 74.
- LARRY, J. F., REDDY, C. A., TIEN, M., AUST, S. D., 1982. The Involment of Hydroxyl Radical Derived from Hydrogen Peroxide in Lignin Degradation by the White Rot Fungus *Phanerochaete chrysosporium*. The Journal of Biological Chemistry. 257. No. 19. 11455-11462.
- LAWRENCE, J., CAPELLI, F. P., 1977. Ozone in Drinking water Sci. Total. Envir. 72. 99-108.
- LEATHAM, G. F., CRAWFORD, R. L., KIRK, T. K., 1983. Degradation of phenolic compounds and ring cleavage of catechol by *Phanerochaete chrysosporium*. Appl. Environ. Microbiol. 46. 191-197.
- LEBOUT, H., 1959. Fifty years of ozonation at Nice ACS Applied Publicat. Ozone Chemistry and Technology. ACS. Washington. D. C.

- LEGUBE, B., SUGIMISU, H., GUYON, S., DORE, M., 1985. Ozonation of Naphtalene in Aqueous Solution. II. Wat. Res. 20. No.2. 209-214.
- LEIGHTON, P.A., 1961. Photochemistry of Air Pollution. New York. s.47.
- LEISOLA, M.S.A., SCHMIDT, B., THANEIWYSS, U., FIECHTER, A., 1985. Aromatic ring cleavage of veratryl alcohol by *Phanerochaete chrysosporium*. FEBS lett. 189. 267-270.
- MAJUMDAR, S.B., CECKLER, W.H., SPROUL, O.J., 1972. The inactivation of polio virus in water by ozonation. 45 th. Ann. Conf. Wat. Pollut. Cont. Fed. Atlanta. Georgia.
- MASSCHELEIN, W., FRANSOLETT, G., GENOT, J., 1975. Techniques for Dispersing and Dissolving Ozone in Water and Sewage Works. part I. s.57....., 1976 Techniques for Dispersing and Dissolving Ozone in Water. part II. s.34.
- NAMIE, H., AXT, G., SONTHEIMER, H., 1970. Zur katalytische Beeinflussung der Oxidation von organischen Wasserhaltsstoffen. Vom Wasser. 37. 98-193.
- NEBEL, C., NEZGOD, W.W., 1984. Purification of Deionized Water by Oxidation with Ozone. Solid state Techn. 27. No.10. 185-193.
- NEKRASOV, N.I., YAGDOVSKAYA, T.Y., KLIMUSHINA N.R., 1970. Chemical Physics of Low Temperature Plasma. Izdatel'stvo. Moscow. s 247.
- NIEGOWSKI, S.J., 1953. Destruction of Phenols by oxidation with Ozone. Industrial and Engineering Chemistry. 45. 632-634.....1953. Ozone method for destruction of phenols in petroleum waste waters. Sewage Ind. 28.1266.
- OTSON, R., WILLIAMS, D.T., BOTHWELL, P.D., MCCULLOUGH, P.S., TATE, P.A., 1979. Effects of sampling, shipping and storage on Total Organic Carbon Levels in Water Samples. Bull. Environm. Contam. Toxicol. 23. 311-318.
- PASZCZYNSKI, A., HUYNH, V.B., CAWFORD, R.L., 1985. Comparison of Ligninase-I and peroxidase-M2 from the White rot fungus. *Phanerochaete chrysosporium*. Arch. Biochem. Biophys. 244. 750-765.
- PERLMAN, P.G., 1969. Water resources engineering/technology briefs. Water Wastes. Eng. 6.14.

- PRYDE, E.H., MOORE, D.J., COWAN, J.C., 1968. Hydrolytic Reductive and Pyrolytic Decomposition of Selected Ozonolysis Products. Water as an Ozonization medium. J. Am. Oil. Chemists Soc. 45(12). 888-894.
- PSHEZHETSKII, S.Y., 1968. Mechanism of radiation Chemical Reactions. Moscow. Khimiya. s.178.
- RAZUMOVSKII, S.D., ZAIKOV, G.E., 1984. Ozone and its reactions with Organic compounds. Elsevier Science Publishers. B.V.
- REISSAUS, K., RUMMEL, W., 1967. Wasseraufberitung Ozon bei der Trinkwasser schönung. Fortsche-Wasserchemie. 6. 139-159.
- RIZZUTI, L., AUGUGLIARO, V., MARRUCCI, G., 1977. Ozone Absorbition in Aqueous Phenol solutions. The Chemical Engineering Journal. 13. 219-224.
- SANGLARD, D., LEISOLA, M.S.A., FIECHTER, A., 1986. Rols of Extracellular Ligninases in Biodegradation of Benzopyrene by *Phanerochaete chrysosporium*. Enzyme Microbiol. Technol. 8.209-212.
- SCACCIA, C., ROSEN, H.M., 1977. Ozone contacting what is the answer? IOI symposium for Advanced Ozone Technology. Toronto. Canada.
- SCHILLING, R., ENGELHARDT, G., WALLNOFER, R.R., 1985. Degradation of the Herbicide Metribuzin (Sencor) by Pure Cultures of *Cunninghamella echinulata*. Thaxter ATCC 38447. Chemosphere. 14. 267-270.
- SCHOEMAKER, H.E., HARVEY, P.J., BOWEN, R.M., PALMER, J.M., 1985. On the mechanism of enzymatic lignin breakdown. FEBS lett. 183. 7-12.
- SNIDER, E.H., PORTER, J.J., 1974. Ozone treatment of dye waste. Jour. Water Poll. Control Fed. 46. No.5. 886-894.
- SOTELO, J.L., BELTRAN, F.J., BENITEZ, F.J., HEREDIA, J.B., 1987. Ozone decomposition in Water. Kinetic Study. Ind. Eng. Chem. Res. 26.39-43.
- STANDART METHODS FOR THE EXAMINATION OF WATER AND WASTE WATER. 1980. 15th ed. APHA-AWWA-WPCF. . . . a. 399-402. . . . b. 483-489. . . . c. 490-493.
- STEENDEREN, R.A., BASSON, W.D., VAN DUUREN, F.A., 1979. Automated chemical analysis for measuring microgram levels of organic carbon in potable waters. Water Res. 13(6). 539-543.
- STRUIF, B., WEIL, L., QENTIN, K.E., 1978. Verhalten herbizider Phenoxy-alkan-carbonsauren bei der Wasserbereitung mit ozon. Z.f. Wasser und Abwasser Forscung. 11. Jahrgang. Nr.3/4. 118-127.

- STURROCK, M. G., CLINE, E. L., ROBINSON, K. R., 1963. The Ozonization of Phanthrene with Water as Participating Solvent. J. Org. Chem. 28.2340.
- SUBBA-RAO, R. V., ALEXANDER, M., 1985. Bacterial and Fungal co metabolism of 1,1,1-trichloro-2,2-bis(4-chlorophenyl) ethane-(DDT) and its Breakdown Products. Appl. Environ. Microbiol. 49. 509-516.
- SUCHKOV, B. B., 1964. Decontamination of drinking water containing agents which can cause intestinal diseases and enteroviruses by ozonation. J. Am. Wat. Wks. Ass. 52. s.84.
- SUZUKI, J., 1976. Study on ozone treatment of water soluble polymers. I. Ozone degradation of polyethylene glycol in water. J. of Appl. Polymer Sci. 20.93-103.
- THIRUMURTHI, D., 1968. Ozone in water treatment and waste water renovation. Wat. Sewage. Wks. 115-106.
- TIEN, M., KIRK, T. K., 1985. Lignin degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*. Purification, characterization and catalytic properties of a unique. H₂O₂-requiring oxygenase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 81.2280-2284.
- VENOSA, A. D., 1972. Ozone as a water and wastewater disinfectant. F. Evans. Ozone in water and wastewater treatment. Ann Arbor science. MI. s.123-144.
- WICKRAMANAYAKE, G. B., RUBIN, A. J., SPROOL, O. J., 1984. Inactivation of *Giardia lamblia* cysts with ozone. Applied and Environ. Microbiol. 48. No.3.671-672.
- YAMAMOTO, Y., NIKI, E., SHIOKAWA, H., KAMIYA, Y., 1978. Ozonation of organic Compounds. 2. Ozonation of Phenol in water. J. Am. Chem. Soc. No.13. 2137-2142.
- YURTERI, C., GURUL, M. G., 1987. Removal of Dissolved Organic Contaminants by Ozonation. Environmental Progress. 6. no.4.240-245.1988. Ozone Consumption in Natural Waters: Effects of Background Organic Matter, pH and Carbonate Species. Ozone Science and Engineering. 10. 277-290.1989. Evaluation of Kinetic Parameters for the Ozonation of Organic Micropollutants. Wat. Sci. Tech. 21. 465-476.

TEŞEKKÜR

Tez konumu veren ve çalışmalarım sırasında değerli bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Hamit Boztepe'ye teşekkür ederim.

Tezimin deneysel kısımlarını tamamlamak amacıyla bir yıl süreyle kaldığım Avusturya-Graz Teknik Üniversitesi Biyoteknoloji, Mikrobiyoloji ve Atık Teknolojisi Enstitüsünde çalışmalarımda yol gösteren ve bana gerekli olan tüm olanakları sağlayan sayın Ass. Prof. Doç. Dr. Walter Steiner ve Prof. Dr. R.M. Lafferty'e, ayrıca Graz Üniversitesi Organik Kimya Enstitüsü'nden Prof. Dr. Gert Kollenz'e teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZGEÇMİŞ

1958 yılında Ceyhan'da (Adana) doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Adana'da tamamladım. 1977-1978 öğretim döneminde Ç.Ü. Temel Bilimler Fakültesi Kimya Bölümüne girdim. 1980-1981 öğretim yılında mezun oldum. 1983 yılında aynı bölümde Yüksek Lisansımı tamamladım. 1983-1984 öğretim döneminde doktora çalışmaya başladım. 1988 yılında tez çalışmam nedeniyle bir yıl süreyle Avusturya Graz Teknik Üniversitesi, Biyoteknoloji, Mikrobiyoloji ve Atık Teknoloji Enstitüsü'nde çalışmalar yaptım. Halen Ç.Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

T. C.
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU'
Dokümantasyon Merkezi