

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

ORGANİK KÖKENLİ TEKSTİL BOYALARININ SULU ORTAMLARDAN
UZAKLAŞTIRILMASINDA *Trametes trogii*'nin KULLANILMASI

YUNUS TARIM

HAZİRAN 2005

Fen Bilimleri Enstitüsü müdürünün onayı.


Prof. Dr. Yakup ARICA

Müdür

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


Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

Ana Bilim Dalı Başkanı

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


Doç. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU

Ortak Danışman


Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Doç. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU

Doç. Dr. Filiz ŞENKAL

Yrd. Doç. Dr. İlhami TÜZÜN







ÖZET

ORGANİK KÖKENLİ TEKSTİL BOYALARININ SULU ORTAMLARDAN UZAKLAŞTIRILMASINDA *Trametes trogii*'nin KULLANILMASI

TARIM, Yunus

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. M. Yakup ARICA

Ortak Danışman: Doç. Dr. Gülay BAYRAMOĞLU

Haziran 2005, 55 sayfa

Trametes trogii mikroorganizması kullanılarak sulu ortamdan organik kökenli boya moleküllerinin uzaklaştırılması işleminde, model olarak seçilen Reaktif Orange 14 ve Reaktif Blue 2 tekstil boyalarının biyosorpsiyonu araştırıldı. Fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesine fiziksel ve kimyasal ön işlemin etkisi araştırıldı. Doğal fungal biyokütle ile ısı, asit ve alkol ile işleme maruz bırakılarak yüzey özellikleri değiştirilen biyokütlelerin, sulu ortamlardan tekstil boyalarını uzaklaştırma eğilimi ve kapasitelerine ortam pH'sı, sıcaklık, başlangıç boya konsantrasyonu gibi parametrelerin etkisi kesikli sistemde incelendi. Önışlem uygulanmamış fungal biyokütle ile ısı, asit ve

alkol ile önişlem gören *Trametes trogii* biyokütlesinin maksimum biyosorpsiyon kapasitesi, Reaktif Orange 14 tekstil boyası için sırasıyla 161.8, 202.2, 127.8 ve 174.3 mg/g ve Reaktif Blue 2 tekstil boyası için sırasıyla 219.6, 251.2, 154.6 ve 201.2 mg/g olarak bulundu. Reaktif Orange 14 ve Reaktif Blue 2 tekstil boyaalarının fungus biyokütlesine ilgisi ısıl > doğal > alkol > asit ve ısıl > alkol > doğal > asit olarak sıralandı. Önişlem uygulanmamış biyokütle ile ısı, asit ve alkol ile işlem gören *Trametes trogii* biyosorbenti üzerine tekstil boyası biyosorpsiyonu için optimal pH değeri, 1.0-10.0 değerleri arasında araştırıldı. Maksimum Reaktif Orange 14 ve Reaktif Blue 2 tekstil boyaalarının biyosorpsiyonu, doğal biyokütle ile ısı, asit ve alkol ile işlem gören biyosorbentlerle pH 2.0'de gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: *Trametes trogii*; biyosorpsiyon; Reaktif Orange 14; Reaktif Blue 2; ısı, asit ve alkol ile işlem

ABSTRACT

THE REMOVAL OF ORGANIC TEXTILE DYES FROM AQUEOUS SOLUTIONS BY USING *Trametes trogii*

TARIM, Yunus

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc.Thesis

Supervisor: Prof. Dr. M. Yakup ARICA

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

June 2005, 55 pages

The removal of organic Reactive Orange 14 and Reactive Blue 2 textile dyes from aqueous solution was studied by using *Trametes trogii*. The effect of physical and chemical treatment on the biosorption capacity of fungal biomass was determined in batch experiment. The effect of system parameters such as pH, temperature and initial dye concentration on the biosorption capacity of heat-, acid-, alcohol treated and native fungal biomass was also determined by batch experiments. Maximum biosorption capacity of heat-, acid-, alcohol treated and native fungal biomass for Reactive Orange 14 was 161.8, 202.2, 127.8 and 174.3 mg/g, respectively. And the maximum biosorption capacity of Reactive Blue 2 for heat-, acid-, alcohol treated and native fungal

biomass was 219.6, 251.2, 154.6 and 201.2 mg/g, respectively. Biosorption capacity of fungal biomass for Reactive Orange 14 and Reactive Blue 2 increases in order heat > native > alcohol > acid and heat > alcohol > native > acid, respectively. The pH effect on the biosorption capacity of heat-, acid-, alcohol treated and native fungal biomass was determined in the pH range of 1.0-10.0. Maximum biosorption capacity of heat-, acid-, alcohol treated and native fungal biomass for Reactive Orange 14 and Reactive Blue 2 textile dyes were observed at pH 2.0.

Key Words: *Trametes trogii*; biosorption; Reactive Orange 14; Reactive Blue 2; heat-treated; acid-treated; alcohol-treated

TEŞEKKÜR

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

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

Yunus TARIM

Kırıkkale, Haziran 2005

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
1.GİRİŞ.....	1
2.KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. Organik Kökenli Kirleticiler ve Canlı Sistemleri Üzerine Etkileri.....	5
2.1.1. Reaktif Boyalar.....	6
2.1.2. Fenolik Bileşikler ve Pestisitler.....	8
2.2. İnorganik Kirleticiler	10
2.3. Arıtım Yöntemleri.....	11
2.3.1. Fiziksel Yöntemler.....	12
2.3.2. Kimyasal Yöntemler.....	13
2.3.3. Biyosorpsiyon.....	14
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	17
3.1. Materyaller	17
3.1.1. Kimyasal Maddeler	17
3.1.2. Cihazlar	17

3.1.2.1. UV-VIS Spektrofotometre	17
3.1.2.2. Kullanılan Diğer Cihazlar	17
3.2. Yöntem.....	18
3.2.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma.....	18
3.2.2. Fungusun Üretimi.....	18
3.2.3. Fungal Biyokütlenin Isı, Asit ve Alkol ile Modifikasyonu.....	20
3.2.4. Fungal Biyokütlenin Karakterizasyonu.....	20
3.2.4.1. Fungal Biyokütlenin Denge-Su İçeriği.....	20
3.2.4.2. Fungal Biyokütlenin Yüzey Morfolojisi.....	21
3.2.4.3. Fungal Biyokütlenin FT-IR Spektrumu.....	21
3.2.5.Boya Biyosorpsiyonu.....	21
3.2.5.1. pH'nın Etkisi.....	22
3.2.5.2. Biyosorpsiyona Zamanın Etkisi.....	23
3.2.5.3. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi.....	23
4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE DEĞERLENDİRME.....	24
4.1. Araştırma Bulguları.....	24
4.1.1. Karakterizasyon Çalışmaları.....	26
4.1.1.1. Denge Su İçeriği.....	26
4.1.1.2. Yüzey Analizleri.....	27
4.1.1.3. Fungal Biyosorbentin FT-IR Spektrumu.....	28
4.1.2. Sulu Ortamdan Boya Uzaklaştırılması Çalışmaları.....	31
4.1.2.1. Biyosorpsiyon Zamanı.....	32
4.1.2.2. pH'nın Etkisi.....	35
4.1.2.3. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi.....	40

4.1.2.4. Fiziksel ve Kimyasal Ön İşlemin Etkisi.....	43
4.2. Değerlendirme.....	47
KAYNAKLAR	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

2.1. Organik maddelerin aerobik ve anaerobik parçalanmaları sonucu meydana gelen maddeler.....	6
3.1. GMY sıvı büyüme ortamının bileşenleri	19
3.2. Minimal büyüme ortamının bileşenleri.....	19

ŞEKİLLER DİZİNİ

4.1. Fungal biyosorbentin denge-su içeriği.....	27
4.2. Araştırmada kullanılan fungusun SEM fotoğrafı.....	28
4.3. Doğal ve ısı, asit ve alkol ile işlem görmüş biyokütelerin FTIR spektrumu.....	30
4.4. Reaktif Orange 14 boya molekülünün kimyasal yapısı	31
4.5. Reaktif Blue 2 boya molekülünün kimyasal yapısı	32
4.6. Doğal biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı.....	33
4.7. Isıl işlem gören biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı.....	34
4.8. Asit ile işlem gören biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı	35
4.9. Etanol ile işlem gören biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı	35
4.10. Doğal biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	37
4.11. Isı ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	38
4.12. Asit ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	38
4.13. Etanol ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi.....	39

4.14. Biyokütlelerin sulu ortamdan R Blue biyosorpsiyonunda başlangıç boya	
konsantrasyonunun etkisi.....	41
4.15. Biyokütlelerin sulu ortamdan R Orange biyosorpsiyonunda başlangıç boya	
konsantrasyonunun etkisi.....	42

1. GİRİŞ

Hızlı sanayileşme sonucunda su kaynakları, endüstriyel atıklarla her geçen gün daha belirgin olarak kirlenmektedir. Tekstil, kağıt ve kağıt hamuru, basım, demir-çelik, kok kömürü, petrol, tarım ilaçları (pestisit), ilaç sanayii, boya, çözücü, ahşap koruyucu kimyasallar (pentaklorofenol vb) üreten çok sayıdaki endüstriden, yüksek hacimde su ile birlikte organik kökenli kirleticiler çevreye atılmaktadır. Bu kimyasallar moleküler ağırlıkları, kimyasal yapıları, toksisiteleri vs. açısından, büyük farklılıklar gösterir. Bu endüstrilerin atık suları, inorganik ve/veya organik kirleticileri sakıncalı miktarlarda içerebilir ve kullanım yeri ve amacına göre ulusal veya dünya sağlık örgütünün izin verdiği değerlere indirmek için işlenmeye gereksinim duyulmaktadır.

Endüstriyel atık maddeler arasında yer alan tekstil boyar maddeleri, sulu ortamlardan arıtılması en zor olan kirlilikler arasında yer almaktadır. Genellikle sentetik kökenli olan boya molekülleri, kompleks aromatik yapılarından dolayı oldukça karardır ve bu nedenle de degradasyonları oldukça zordur. Boyaların dünyada yıllık, 7.0×10^5 tonun üzerinde üretildiği ve ticari olarak kullanılan 100.000'in üzerinde çeşidi olduğu rapor edilmiştir (Meyer, 1981; Zollinger, 1987). Reaktif boyalar parlak renk sağlaması, mükemmel renk sabitlenmesi ve uygulanabilirliğinin kolay olmasından dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır ve geleneksel arıtım işlemlerinden etkilenmeden atık su ile birlikte çıktıkları için çevresel yönden en sorunlu boyalar olarak kabul edilmektedirler.

Nehir ve göllere boşaltılan boya içeren renkli atık sular, doğal su kütlelerinde güneş ışığı geçirgenliğini engelleyerek, sırasıyla hem fotosentetik aktivitenin hem de

oksijen konsantrasyonunun azalmasına neden oldukları çok sayıda araştırıcı tarafından rapor edilmiştir (Fu ve Viraraghavan, 2001). Ayrıca, boyaların yapısındaki aromatik, metal ve klor gibi grupların varlığı sucul yaşamları, toksik etkileri nedeni ile olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle, önemli bir çevre kirletici ajan olan boya moleküllerini içeren atık sularının renk giderimi ekoloji ve canlı sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır.

Boya molekülleri gibi organik kirleticileri içeren atıksular, genellikle fiziksel ve kimyasal işlemlerle arıtılmaktadır (Aksu, 2005). Doğal su kütlelerine boşaltılan, kirletici ajan olarak tekstil boyası içeren atıksuların renk giderim işlemleri membran filtrasyonu, iyon değişimi, yükseltgenme, adsorpsiyon, kimyasal çöktürme ve flokülasyon (Robinson âve ark., 2001; Fu ve Viraraghavan, 2001; Malik ve Saha, 2003; Slokar ve Marechal, 1997; Otero ve ark., 2003) gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal yöntemlerle birlikte biyolojik yöntemleri de içermektedir. Ancak bu yöntemlerin uygulanması, aşırı miktarda kimyasal kullanımı veya bunları yok etme problemleri ile konsantre tortu birikimi, pahalı teçhizat gereksinimleri ya da işlem maliyetleri, etkili renk azalmasının noksanlığı ve değişken atıksu girişine olan hassasiyet gibi bazı sınırlamalar getirmektedir (Aksu, 2005). Her ne kadar biyolojik uygulamalar bazı organik bileşikler için etkin bir uzaklaştırma işlemi ise de, bunların biyodegradasyon ürünlerinin de çevreye zarar verdiği çok sayıda araştırıcı tarafından rapor edilmiştir. Ayrıca, arıtım işlemine tâbi bırakılmış atıklar ile birlikte, çevreye bırakılan bazı biyolojik ve kimyasal olarak parçalanmayan bileşikler, biyolojik birikim yolu ile, besin zinciri yolu ile insanlara geri dönüşümünden dolayı, çok sayıda sağlık problemlerine neden olduğu bildirilmiştir.

Boyaların düşük biyodegradasyon hızından dolayı geleneksel arıtma teknikleri etkili bir biçimde kullanılamamaktadır. Biyolojik olarak parçalanamayan organik

kökenli moleküllerin, mikrobiyal biyokütle kullanılarak, biyosorpsiyon işlemi ile atık suların uzaklaştırılması mevcut geleneksel tekniklerin yerini tutacak veya destekleyecek alternatif bir yöntem olmaya başlamıştır. Bu teknolojinin kullanımı, biyosorbent materyalinin ve endüstriyel ölçekli üretiminin düşük maliyet gerektirmesi ve oldukça düşük konsantrasyondaki boyaların sulu ortamlardan uzaklaştırılmasında etkin olması gibi bazı önemli avantajlar sağlamaktadır. Tekstil boyaları yüksek toksisiteleri ve çevrede uzun süre kalıcı olmaları nedeni ile, fenolik maddeler ve pestisitlerden sonra çevreden mutlak olarak uzaklaştırılması gereken kirleticiler arasında yer almaya başlamıştır. Atık sulardaki, toksik etkiye sahip organik bileşiklerin, mikroorganizmalar kullanılarak (funguslar, mayalar, alg, bakteriler vs.) biyosorpsiyon yöntemi ile uzaklaştırılması son yıllarda yoğun bir şekilde araştırılmaktadır (Fu ve Viraraghavan, 2001). Mikrobiyal biyoküteller boya molekülleri ile etkin adsorpsiyon ilişkisi sağlayabilecek karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino grupları gibi fonksiyonel gruplara sahiptir (Bayramoğlu ve ark., 2005). Kullanılan mikroorganizmaların fiziksel veya kimyasal işlem görmüş yapılarının, doğal (canlı) biyokütleyle göre doğal su kütlelerinde kirletici ajan olarak bulunan boya moleküllerinin uzaklaştırılması ve renk giderim işleminde daha etkin olabileceği rapor edilmiştir (Gallagher ve ark., 1997). Endüstriyel uygulamalarda ölü mikrobiyal hücrelerin kullanımı, doğal yapılarına göre, boya molekülü konsantrasyonuna ve elverişsiz işletim durumlarına karşı düşük duyarlılık gibi bazı avantajlar sağlar (Aksu, 2005).

Sulu ortamlardaki ve/veya atık sularındaki kirletici ajanların uzaklaştırılması işleminde Basidiomycetes grubundan beyaz-çürükçül odun mantarları olarak bilinen fungusların, atık sularındaki inorganik veya organik kirlilikleri parçaladıkları ve bu atıkları

mikroorganizmaların bünyelerinde biriktirdiği rapor edilmiştir (Aksu, 2005). Bu biyolojik parçalanma işleminde kompleks lignolitik enzimatik sistemler organik molekülleri veya bileşikleri biyolojik yolla parçalamaktadırlar (Kapdan ve ark., 2000; Robles ve ark., 2000; Sağlam ve ark., 1999).

Bu çalışmada, beyaz bir çürükçül fungus olan *Trametes trogii*'nin (*T. trogii*) biyokütlesi biyosorbent olarak sulu ortamlardan Reaktif Blue 2 (R Blue) ve Reaktif Orange 14 (R Orange) tekstil boyalarının uzaklaştırılmasında kullanılması amaçlandı. *T.trogii*, patates dekstroz agar katı besiyerinde saklandı ve uygun sıvı büyüme ortamında üretildi. Fungal biyokütlelerin sulu ortamlardan reaktif boya moleküllerine karşı göstereceği etkinlik farklı sistem parametreleri altında incelendi. Sulu çözeltilerden adsorpsiyon çalışmaları kesikli sistemde manyetik olarak karıştırılmalı hücre içerisinde gerçekleştirildi. Ayrıca, fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesine fiziksel ve kimyasal işlemin etkisi araştırıldı. Bu doğrultuda, fungal biyokütle yüzeyindeki fonksiyonel grupların (karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amin grupları gibi) etkinliğini arttırmak amacıyla ısı, asit ve alkol ile işleme tâbi tutuldu. Yüzey özellikleri modifiye edilerek değiştirilen fungal biyokütlenin biyosorpsiyon davranışları pH, sıcaklık, başlangıç boya konsantrasyonu gibi parametreler değiştirilerek incelendi.

2.KURAMSAL TEMELLER

2.1. Organik Kökenli Kirleticiler ve Canlı Sistemleri Üzerine Etkileri

Organik kökenli kirletici ajanlar suda çözülmüş olan oksijeni tüketerek kirlenmeye sebep olan maddelerdir. Bu çeşit maddeler antropojenik faaliyetler (evsel, hayvansal, gıda ve kağıt fabrikası atıkları, mezbaha, dericilik atıkları vb.) sonucunda sulara karışmaktadır. Karışıkları sular durgunsa kirleticiler sedimentasyon yolu ile su kütlelerinin zemininde çökelti oluşturarak birikirler. Sedimentasyonla çöken organik maddeler içinde inorganik maddelerde bulunur. Organik ve inorganik maddelerin bir karışımı olan sedimentler, bakteriler ve diğer organizmalar için iyi bir besin ortamı oluştururlar. Bu ortamlarda mikroorganizmalar suda çözülmüş oksijeni kullanarak sedimentteki organik maddeleri biyolojik yolla parçalarlar. Bu maddelerin mineralizasyonu sonucunda su, CO₂, NO₃, SO₄, ve PO₄ gibi moleküller açığa çıkartılır. Mikroorganizmalar tarafından sedimentte bulunan organik maddelerin suda çözülmüş olan oksijeni kullanarak parçalanmasına aerobik parçalanma denir. Aerobik parçalanma sonucunda suda çözülmüş oksijen konsantrasyonu azalır. Sulu ortamda azalan oksijen miktarı havadan absorplanan oksijen ile dengeye ulaşmaz. Sonuç olarak, sucul ortamdaki sedimentte bulunan organik madde miktarının yüksek olması ve buna bağlı olarak birim hacimde üreyen aerobik bakteri sayısında da aynı oranda artışın meydana gelmesine neden olur. Buradan, su kütlesi tarafından havadan absorplanan oksijen bakteriler tarafından tüketilen oksijeni karşılayamaz ve aerobik bakterilerin sayısının endüşük düzeylere indirgenmesine neden olur. Bu durumda, aerobik bakterilerin yerini,

anaerobik bakteriler alır. Bunlarda sedimentteki organik maddeleri parçalamaya devam ederler. Ancak, anaerobik bakterilerin organik maddeleri parçalama yolları aerobik bakterilerden farklıdır. Anaerobik bakterilerin organik maddeleri parçalama reaksiyonları aerobik bakterilerin tersine indirgenme reaksiyonları üzerinden yürütülür. Her iki yolla parçalanan organik maddelerin parçalanma ürünleri birbirinden farklıdır (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1. Organik maddelerin aerobik ve anaerobik parçalanmaları sonucu meydana gelen maddeler.

Aerobik (Yükseltgenme)	Anaerobik (İndirgenme)
C = CO ₂	C = CH ₄
N = NH ₃ + HNO ₃	N = NH ₃ + R-NH ₂
S = H ₂ SO ₄	S = H ₂ S + R-SH
P = H ₃ PO ₄	P = PH ₃

2.1.1. Reaktif Boyalar

Bir organik kirletici grubunda yer alan sentetik boyalar; tekstil, kağıt, basım endüstrileri ve boyacılıkta geniş ölçekli olarak kullanılmaktadır. Boyama endüstrisi atıksuları, en problemlili atıksulardan birini teşkil etmektedir. Boyaların sulu ortamlarda, ışık geçirimini azaltmasından dolayı, sucul yaşamdaki fotosentetik aktivite olumsuz yönde etkilenmekte ve yapılarında aromatik yapılar, metaller, kloridler vs. bulunması nedeni ile yüksek derecede toksik etkiye sahiptirler (Clarke ve Anliker, 1980; Zollinger,

1987; Mishra ve Tripathy, 1993; Banat ve ark., 1996). Sentetik boyalar yapılarında bulunan gruplara göre; anyonik (reaktif, asidik), katyonik (bazik) ve iyonik olmayan (nötral) boyalar olarak sınıflandırılmıştır (Mishra ve Tripathy, 1993).

Anyonik ve iyonik boyaların yapısında bulunan kromofor gruplar, çoğunlukla azo veya antrakinon gruplarından oluşmaktadır. Azo bağlarının indirgenmesi sonucunda atık sularda toksik aminler oluşmaktadır. Antrakinon-kökenli boyalar, içiçe geçmiş aromatik yapılarından dolayı, kimyasal ve biyolojik degradasyona daha dayanıklı olmasının sonucunda atıksuların daha uzun süre renkli kalmasına neden olmaktadır. Reaktif boyalar tipik olarak, vinil sülfon, klorotriazin, trikloropirimidin, difluorokloroprimidin gibi farklı tip reaktif gruplarla kombine olmuş, azo temelli kromofor gruplar taşımaktadırlar. Bunlar, kovalent bağlarla pamuk gibi tekstil fiberlerine bağlanmalarıyla, diğer bütün boya sınıflarından ayrılır. Bu grupta yer alan boyalar, parlak ve su ile solmayan sabit renk, düşük enerji tüketen basit uygulama teknikleri gibi uygun karakteristikleriyle ilgili olarak tekstil endüstrilerinde geniş ölçüde kullanılmaktadır. Suda çözünen reaktif ve asit boyalar, geleneksel arıtma sistemlerinden etkilenmeden geçme eğiliminden dolayı çevre kirleticisi olarak oldukça çok problem yaratmaktadır.

Bazik boyalar yüksek parlaklığa ve renk yoğunluğuna sahiptir ve çok düşük konsantrasyonda bile görünürlükleri diğer boyalarla mukayese edildiğinde daha fazladır (Clarke ve Anliker, 1980; Banat ve ark., 1996; Fu ve Viraraghavan, 2001; Mittal ve Gupta, 1996; Chu ve Chen, 2002; Fu ve Viraraghavan, 2002). Metal kompleksli boyalar, çoğunlukla, kanserojenik olan krom metali içerir (Gupta ve ark., 1990; Banat ve ark.,

1996). Dispers boyalar, sulu ortamda iyonize olmazlar ve bazı dispers boyaların, biyolojik birikme eğilimine sahip olduğu rapor edilmiştir (Banat ve ark., 1996). Bu boyaların kimyasal kararlılığı ve biyolojik olarak parçalanmaları düşük olduğundan, geleneksel biyolojik atıksu arıtma sistemlerinin kullanımı, atıksulardan boya giderimi işleminde etkisiz kalmaktadır.

Boya molekülleri çeşitli yollarla doğal sulara karıştığında boya konsantrasyonuna ve temas zamanına bağlı olarak organizmalar üzerinde akut ya da kronik etkilere neden olduğu bildirilmiştir. Boyaların görünürlüğü, rengine, yayılma katsayısına ve suyun berraklığına bağlı olmasına rağmen tekstil boyaları yüksek derecede renk oluşturma özelliğine sahiptir. Boya içeren atık suların az miktarlarda çevreye verilmesi durumunda bile su kütlelerinde aşırı derecede renklenmeye neden olmaktadır ve çevresel sorun, boya moleküllerinin su kütlelerine giren güneş ışığını adsorplamaları ve/veya yansıtmaları sonucu oluşmaktadır. Bu sorun, bakterilerin bu tür kirlilikleri biyolojik olarak degrade edebileceği seviyeye kadar büyümesiyle ortadan kaldırılabılır ve bu da besin zincirine boya ve yan ürünlerinin katılımını başlatır. Bu nedenle, boya içeren atık suların deşarjı ile ilgili denetimler arttırılıp sıklaştırılmalıdır.

2.1.2. Fenolik Bileşikler ve Pestisitler

Diğer bir organik kirlenici grubu olan fenollü bileşiklerin çoğu, insan sağlığına zarar verme potansiyeli göz önüne alınarak tehlikeli kirleniciler olarak sınıflandırılırlar. Fenol veya fenollü bileşiklerin, içme suyunda $0,005 \text{ mg l}^{-1}$ konsantrasyonunda dahi bulunması, önemli tat ve koku problemlerinden dolayı kullanıma uygun olmayan hale

gelmesine neden olur. Fenol kirliliği içeren suların dezenfeksiyonu sırasında klorlanması sonucunda oldukça reaktif klorofenoller oluşmaktadır. En önemli kirletici kaynakları, demir-elik, kok kömürü, petrol, pestisit, boya, çözücü, eczacılık, ahşap koruyucu kimyasallar ve kağıt ve kağıt hamuru endüstrilerinden gelen, nitrofenoller, klorofenoller gibi, fenol ve fenolik bileşikler içeren atıksulardır (Patterson, 1977; Aksu ve Yener, 2001; Calace ve ark., 2001; Fu ve Viraraghavan, 2002). Boya endüstrilerinden gelen, fenol ve fenolik bileşikler içeren atıksularda bu bileşiklerin düşük konsantrasyonlarda bulunması bile organizmalar için özellikle insan sağlığına zarar verme potansiyellerinden dolayı tehlikelidir. Fenol ve fenollü bileşiklerle kontamine olmuş suların canlılar tarafından tüketilmesi kapiler hasarı, şiddetli ağrılar veya ölüme kadar sebep olabilecek sonuçlar oluşturabilmektedir.

Tarım alanında bitki koruma için pestisitlerin üretimi ve pestisit uygulamasındaki artışın, gıda ve içme suyundaki kalıntılar vasıtasıyla evre ve insan sağlığı için ciddi riskler içeren, yeraltı ve yüzey sularının kirlenmesine sebep olduğu bilinmektedir. Bu pestisitlerin bazıları, kalıcı, toksik, mutajenik, kanserojenik ve tümörojenik olarak bildirilmiştir. Pestisit kalıntıları, üretilen bitkiler, direkt yüzey kaçağı, sızma, dikkatsizce imha edilen boş taşıyıcılar, yıkama ekipmanları aracılığı ile doğal su kütlelerine ulaşır. Pestisitler bir çok sınıfa ayrılırlar, en önemlileri, organoklorin, organofosfor ve karbamat bileşiklerini oluşturmaktadır. Organoklorin pestisitlerinin lipofilik doğası, hidrofobitesi ve düşük kimyasal ve biyolojik degradasyon hızları, biyolojik dokularda birikmelerine ve besin zincirinde ilerleyen organizmalardaki konsantrasyonlarının artmasına yol açtığı bilinmektedir.

2.2. İnorganik Kirleticiler

Çeşitli endüstriyel atıksularda bulunan demir, mangan, klor, azot, fosfor gibi bir çok madde, inorganik kirlenmeye neden olmaktadır. Bu maddelerin her birinin çevre üzerinde etkilerinin farklı olduğu rapor edilmiştir. Arsenik, siyanür, kadmiyum, krom gibi inorganik kirleticiler, su ürünlerinin bünyesinde birikerek, gıda maddeleri olarak tüketimleri esnasında insan sağlığını da doğrudan tehdit etmektedirler. İnorganik kirlenmeye neden olan, çok farklı karmaşık yapıda ve çevresel etkiye sahip bu tür maddeler, alıcı ortamda yok olmadan biriktikleri için, gittikçe artan bir kirlilik meydana getirdikleri bildirilmiştir.

Çok sayıdaki endüstri atıksuları, sucul canlılar ve bu suyu kullanan canlılar için yüksek toksisitesi olan kurşun, bakır, nikel, civa, arsenik, demir ve krom gibi ağır metal iyonlarını içermektedir. Ağır metallerin zehirleyici özelliklerinden dolayı ekosistemi kirlenme etkileri insan sağlığını da tehlikeye sokmaktadır. Buna rağmen bu elementler endüstride kullanılmakta ve endüstriyel atıklardan belli bir miktar besin zincirine girmektedir. Bu nedenle, atıksuların ağır metal içerikleri çevreye verilmeden önce arıtılarak su standartlarına göre izin verilen değerlerinin altına düşürülmesi gerekmektedir.

Tekstil boya moleküllerinin yapısında bulunan metal iyonları (krom, bakır gibi) canlı sistemler için oldukça zehirli ve tehlikelidir. Kanserojenik ve toksik etkiye sahip olan ağır metal iyonlarının etkileri; uzun ve kısa vadede uykusuzluk, yorgunluk, baş ağrısı, egzama, hafıza ve konsantrasyon eksikliği, depresyon, bağışıklık sisteminde zayıflık, yüksek tansiyon olarak rapor edilmiştir. Ağır bir metal iyonu olan krom, farklı

yükseltgenme basamaklarına sahiptir. Ancak sadece III ve VI yükseltgenme basamağına sahip olan krom iyonu önemlidir. Cr(III) iyonu memelilerde protein, glikoz ve lipid metabolizması için gerekli elementler arasındadır. Cr(VI) metal iyonları, hücre membranlarının arasından CrO_4^{-2} ya da HCrO_4^- iyonları halinde difüze olarak toksik etkisinden dolayı biyolojik moleküllerin yükseltgenmesine neden olur (Bayramoğlu ve ark., 2005; Arıca ve Bayramoğlu, 2005). Kanserojenik etkiye sahip olan Cr(VI), DNA'nın kopyalanması işleminde modifikasyonlara neden olarak önemli kromozomik hatalara yol açtığı bildirilmiştir. Diğer toksik etkileri ise kronik ülser, deri, böbrek ve karaciğer hastalıkları olarak sıralanmaktadır.

2.3. Arıtım Yöntemleri

Endüstriyel atıklarla doğal su kütlelerine bırakılan tehlikeli organik bileşikler, çevreye bırakılmadan önce, fiziksel, kimyasal ve biyolojik uygulamalarla degradasyona ve detoksifikasyona tâbi tutulurlar. Her ne kadar biyolojik uygulamalar bazı organik bileşikler için bir uzaklaştırma işlemi ise de, bunların biyodegradasyon ürünleri de yüksek toksisiteye sahip olmaktadır. Ayrıca, arıtım işlemine tâbi tutulmuş bileşiklerle birlikte, çevreye bırakılan bazı degrade edilemeyen bileşiklerin biyolojik birikimi ile, genellikle insanlara geri dönmesinden dolayı çok sayıda sağlık sorunlarının meydana geldiği rapor edilmiştir.

Sulu ortamlarda kirletici olarak önemli bir sorun teşkil eden boyar maddelerin uzaklaştırmasında kullanılan geleneksel yöntemler; ters ozmoz, çözücü ekstraksiyonu,

iyon değişimi, koagölasyon veya kimyasal çöktürme ve biyosorpsiyon gibi fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemleri içermektedir.

2.3.1. Fiziksel Yöntemler

Fiziksel yöntemler; adsorpsiyon, membran filtrasyonu ve iyon değişimi gibi metotları içermektedir (Ciardelli ve ark., 2000; Slokar ve Marechal, 1997). Ucuz ve etkin katı destek materyalleri üzerine tekstil boyalarının adsorpsiyonu, atıksulardan tekstil boyalarını uzaklaştırmak için kullanılan basit ve ekonomik bir yöntemdir (Forgacs ve ark., 2004). Gaz, sıvı ya da bir çözültide çözünen molekül ya da iyonların katı yüzeyinde tutunmasına “adsorpsiyon”, adsorplayan malzemeye ise “sorbent” adı verilmektedir. Adsorpsiyon işleminde, boya/sorbent etkileşimi, sorbentin yüzey alanı, tanecik büyüklüğü, sıcaklık, pH ve temas süresi gibi pek çok fiziko-kimyasal faktör etkilidir (Bayramoğlu ve ark., 2003).

Fiziksel adsorpsiyon teknolojisi diğer metotlarla karşılaştırıldığında ekonomik olarak uygun ve oldukça kararlı boyaların uzaklaştırılmasında yüksek bir etkinliğe sahip olduğundan dolayı son yıllarda daha fazla öne çıkmıştır (Arıca ve ark., 2003). Granüler ya da toz yapıdaki aktif karbon, organik bileşiklerin adsorpsiyonu için iyi bir kapasiteye sahipse de, pahalı olması, kimyasal ve ısısız rejenerasyon işlemlerinin ayrıca maliyet gerektirmesi, geniş ölçekte uygulanmasında problemler oluşturması, adsorbent kaybı ve ilave atıksu üretimi gibi dezavantajlara sahiptir. Bu durum, çok sayıda çalışmacının, sünger doku, karbonize ağaç kabuğu, turp, toprak, ağaç, kitin, pirinç kabuğu, odun, uçan kül ve karbonize pissu çamuru gibi ucuz ve etkili alternatif materyallerin kullanımını için,

araştırma yapmasına yol açmıştır. Bununla birlikte, bu düşük maliyetli adsorbentlerin genellikle düşük adsorpsiyon kapasiteleri nedeni ile daha çok miktarda adsorbente gerek duyulduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Gong ve ark., 2005; Ho ve ark., 2005; Fu ve Viraraghavan, 2001; Juang ve ark., 1997; Karcher ve ark., 1999; Lee ve ark., 1999; Ho ve Mckay, 1999; Calace ve ark., 2002; Rao, 2002; Aksu ve Kabasakal, 2004; Sotelo ve ark., 2002).

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

Membran filtrasyonu ve anyonik ve/veya katyonik boyaların uzaklaştırılabildiği iyon değiştirici reçinelerin kullanıldığı iyon değişimi, diğer fiziksel yöntemleri oluşturmaktadır (Xu ve Lebrun, 1999; Robinson ve ark., 2001). İyon değişimi reçineleri kolayca rejenere edilebilmesine rağmen yüksek maliyeti, boya içeren atık suların arıtım uygulamalarında kullanılmasını engellemektedir.

2.3.2. Kimyasal Yöntemler

Ozonlama, fotokimyasal yöntem, sodyum hipoklorit, elektrokimyasal yöntem ve kimyasal flokleştirme ve çöktürme gibi işlemler kimyasal yöntemler arasında yer almaktadır. Ozonizasyon ve oksidasyon gibi teknolojiler reaktif boya

uzaklaştırılmasında etkili olmasına rağmen başlangıç ve işlem maliyetleri oldukça yüksektir. Fenton ayırıcı, ozon, UV+H₂O₂ veya NaCl yoluyla bazı oksidasyon işlemleri aromatik halkanın açılmasıyla sonuçlanır ve daha toksik olan ürünlerin ya da kimyasal çamurun oluşumuna neden olmaktadır. Oluşan aromatik aminlerin toksik ve kanserojenik oldukları rapor edilmiştir.

Elektrokimyasal yöntem boya gideriminde etkin olarak kullanılan bir diğer yöntemdir (Pelegri ve ark., 1999). Kimyasal flokleştirme ve çöktürme yönteminde flokleştirme ve çökeltme kimyasal maddeler yardımıyla sağlanır. Burada amaç, tanecik boyutu çok küçük olan ve bu nedenle kendiliğinden çökemeyen katı partiküllerin birbirlerine bağlanarak tanecik boyutunun büyütülmesi ile atıksudan ayrılmasıdır (Kocaer ve Alkan, 2002).

2.3.3. Biyosorpsiyon

Atıksulardan tekstil boyalarının uzaklaştırılmasında kullanılabilecek daha düşük maliyetli adsorpsiyon materyalleri için alternatif kaynaklar araştırılmaktadır. Biyolojik arıtma sistemleri, fiziksel ve kimyasal arıtma yöntemlerine göre daha az çamur üretmesi, maliyetinin düşük olması veya alıcı ortamlar için zararlı yan ürünlerin oluşmaması gibi özelliklerinden dolayı tekstil endüstrisi atıksularının arıtımı için ideal çözüm olarak kabul edilmektedir (Slokar ve Le Marechal, 1997).

Canlı veya cansız mikrobiyal biyokütlelerin kullanımıyla, sulu çözeltilerden kirlenmelerin pasif alımı ile gerçekleştirilen biyosorpsiyon işlemi önemli bir alternatif yöntem oluşturmaktadır. Biyosorpsiyon işleminde kullanılan biyokütleyle “sorbent” veya

“biyosorbent” adı verilir. "Biyosorpsiyon" terimi, anaerobik ya da aerobik metabolizmaya karşın (biyodegradasyon), oksidasyondan çok, hücre duvarında meydana gelen, birkaç metabolizmadan bağımsız işlemi (fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon, elektrostatik etkileşim, iyon değişimi, kompleksasyon, şelatlama ve mikropresipitasyon) belirtmek için kullanılmaktadır. Bu işlem için kullanılacak bakteri, maya, fungus ve alg gibi mikroorganizmaların yüzey özellikleri farklı özelliklere sahip kirleticileri adsorplamalarına olanak sağlamaktadır. Biyosorpsiyon işleminde en önemli kriter, yüksek seçicilik ve verimlilik, düşük maliyet ve yüksek performans olarak sıralanmaktadır. Ucuz fermentasyon teknikleri ile üretilen mikroorganizmalar, iyon değiştirici reçinelere alternatif bir performans göstererek, biyosorbent olarak kullanılmaktadır. Canlı ve cansız (ısı ile inaktive edilmiş, kurutulmuş, asit/baz ve/veya diğer kimyasallar ile işleme tabii tutulmuş) biyokütle, boya moleküllerini uzaklaştırmak için kullanılmaktadır. Adsorpsiyon işlemi süresince biyokütlenin canlılığını korumak oldukça zordur, çünkü sürekli besin desteği sağlamak ve mikroorganizmalar için organik toksisiteden kaçınmak gerekmektedir. Biyosorpsiyonda, genellikle cansız mikrobiyal biyokütlelerin kullanımı, atıksu arıtılması için, daha fazla avantaj sağlamaktadır, cansız organizmalar, toksik atıklardan etkilenmemekle birlikte, sürekli besin sağlamak da gerekli değildir, ayrıca rejenerasyonları da mümkündür. Yapısında hidrofobik gruplara sahip organik kirleticiler, mikrobiyal hücrelere yüksek birikme eğilimi gösterdiğinden çok düşük boya konsantrasyonlarında bile etkili bir şekilde kullanıldıkları çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir (Hu, 1992; Sumathi, ve Manju, 2000; O'Mahony ve ark., 2002; Volesky, 2001; Puranik ve Paknikar, 1997; Yetiş ve ark., 1998; Say ve ark.,

2001; Tatarko ve Bumpus, 1998; Aksu ve Dönmez, 2003;Başbüyük ve Forster, 2003;
Jianlong, 2000; Aksu ve Gönen, 2004).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyaller

3.1.1. Kimyasal Maddeler

Reaktif Orange 14 (M: 631.4 g/mol, λ_{\max} : 428 nm) ve Reaktif Blue 2 (M:774.2 g/mol, λ_{\max} : 614 nm) tekstil boyları Sigma Chem. Co. (St. Louis.MO, ABD) firmasından alındı. Kullanılan diğer tüm analitik derecede saflıktaki kimyasallar Merck AG (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edildi.

3.1.2. Cihazlar

3.1.2.1. UV-VIS Spektrofotometre

Sulu ortamlardan tekstil boylarının biyosorpsiyon yoluyla ortandan uzaklaştırılmasında, ortamda kalan boya miktarları, spektrofotometrik yöntemler kullanılarak UV-VIS spektrofotometre (Shimadzu, Tokyo, Japonya, Model 1601) ile belirlendi.

3.1.2.2. Kullanılan Diğer Cihazlar

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

sirkülatörlü ısıtıcılı soğutuculu su banyosu (Labcon CPE20, Labcon LTB12140, Güney Afrika).

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma

Basidiomycetes sınıfı içerisinde yer alan ve 420251 MAFF numarası ile anılan *Trametes trogii* , Japonya Gen Bankası'ndan (National Institute of Agrobiological Sciences (NIAS), Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, Japonya) temin edildi ve beyaz çürükçül fungus biyokütlesi boya moleküllerinin uzaklaştırılmasında biyosorbent olarak kullanıldı.

3.2.2. Fungusun Üretimi

T. trogii sporları patates dekstroz agar yatık katı besiyerinde 30 °C' de 5 gün inkübe edildi ve bu sürenin sonunda sıvı besi ortamı içeren erlenlere aktarıldı ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 3 gün süre ile inkübe edildi. Fungus kültür stokları her 15 günde bir yenilendi ve 4 °C'de muhafaza edildi.

Patates dekstroz agar yatık katı besiyerinde üretilen *T. trogii* kültürlerine 10 ml steril büyüme ortamı eklenerek süspanse hale getirildi. *T. trogii* üretiminde kullanılan besin ortamının bileşimi Çizelge 3.1'de verildi. Fungal spor süspansiyonu, hazırlanan 100 ml sıvı büyüme ortamı içeren 250 ml'lik erlen içerisine aktarıldı ve çalkalamalı su banyosunda 37 °C'de 3 gün süre ile inkübe edildi. Üretilen biyokütle daha sonra

minimal büyüme ortamına aktarıldı ve 2 gün boyunca inkübe edildi. Minimal büyüme ortamının bileşimi Çizelge 3.2' de verildi. Elde edilen fungal biyokütle, Whatman 388 kağıdı ile filtre edilerek sıvı besiyerinden uzaklaştırıldı. Fungal biyokütlenin kuru ağırlıkları 50 °C'de vakum etüvünde kurutularak belirlendi.

Çizelge 3.1. GMY sıvı büyüme ortamının bileşenleri

Madde	Miktar (g/L)
Yeast extract	2.5
Malt extract	3.5
Glikoz	10.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5

Çizelge 3.2. Minimal büyüme ortamının bileşenleri

Madde	Miktar (g/L)
D-Glikoz	10.0
KH ₂ PO ₄	20.0
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.5
NH ₄ Cl	0.1
CaCl ₂ ·7H ₂ O	0.1
Tiamin	0.001
Nitilotriasetat	1.5
NaCl	1.0
MnSO ₄ ·H ₂ O	0.5
FeSO ₄ ·7H ₂ O	0.1
ZnSO ₄	0.1
CaSO ₄	0.01
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.01
H ₃ BO ₃	0.01
NaMoO ₄ ·2H ₂ O	0.01

3.2.3. Fungal Biyokütlenin Isı, Asit ve Alkol ile Modifikasyonu

Sulu ortamdan boya moleküllerinin uzaklaştırılması işleminde kimyasal modifikasyonun etkisini belirlemek için fungal biyokütle, 0.1 M hidroklorik asit ile 30 °C'de 1 saat, 15 M etanol ile oda sıcaklığında 20 dakika süresince işleme tâbi tutuldu ve bu sürenin sonunda steril fizyolojik tuz çözeltisi (% 0.85) ile yıkanarak biyosorpsiyon deneylerinde kullanıldı. Fiziksel modifikasyon ise fungal biyokütlenin 100 °C'de fizyolojik tuz çözeltisi (% 0.85) içerisinde 10 dakika süre ile teması sonucunda gerçekleştirildi. Elde edilen biyosorbentler, deneylerde kullanılmaya kadar 4 °C'de saklandı.

3.2.4. Fungal Biyokütlenin Karakterizasyonu

3.2.4.1. Fungal Biyokütlenin Denge Su İçeriği

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

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

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

3.2.4.2. Fungal Biyokütlenin Yüzey Morfolojisi

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

3.2.4.3. Fungal Biyokütlenin FT-IR Spektrumu

Boya moleküllerinin uzaklaştırılması işleminden önce ve sonra doğal ve ısıt, asit, etanol ile işlem gören fungal biyokütlenin FT-IR spektrumu FT-IR spektrofotometresi (Mattson 1000 FT-IR, İngiltere) kullanılarak elde edildi. 0.1gram kuru fungal biyokütle ve 0.1 gram KBr karıştırılarak tablet haline getirildi ve spektrumu alındı.

3.2.5. Boya Biyosorpsiyonu

Biyokütlenin sulu ortamdan uzaklaştırdığı boya miktarı, biyosorpsiyon ortamındaki boyanın başlangıç ve biyosorpsiyon sonundaki bakiye konsantrasyonları ölçülerek belirlendi. Yaş ağırlığı 0.25 gram olan fungal biyokütle (doğal formdaki ve ısıt, asit ve alkol ile işleme tâbi tutulan biyosorbent) 100 mg/L (10 ml) boya içeren ortama aktarıldı ve 6 saat süre ile 25 °C'de, 150 rpm hızda sürekli karıştırılarak kesikli sistemde inkübe edildi. Verilen biyosorpsiyon deney koşulları, başlangıç boya konsantrasyonu,

ortam pH'sı, sıcaklık gibi faktörlerin doğal ve modifiye edilmiş biyokütlenin performansı üzerine etkisinin incelenmesi deneylerinde de kullanıldı.

3.2.5.1. pH'nın Etkisi

Biyosorpsiyon ortam pH'sının, boya moleküllerini uzaklaştırma kapasitesine etkisi, pH 1.0 ile 10.0 aralığında (NaOH ve H₂SO₄ ile ayarlandı) çalışıldı. Her bir fungal biyokütle üzerine biyosorplanan boya miktarı, deney ortamındaki başlangıç ve bakiye boya miktarları, R Orange ve R Blue için sırası ile 428 ve 614 nm dalga boylarında çift ışık demetli UV-VIS spektrofotometresi kullanılarak absorbanslarının ölçülmesiyle tayin edildi. Sulu ortamdaki boya miktarının belirlenebilmesi için, başlangıç boya konsantrasyonu 25-600 mg/L aralığında değiştirilerek kalibrasyon grafiği elde edildi. Fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi (3.2) eşitliğinin kullanılması ile hesaplandı.

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

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

3.2.5.2. Biyosorpsiyona Zamanın Etkisi

Hazırlanan fungal biyokütlelerle sulu ortamdan tekstil boyalarının uzaklaştırılmasının zamana bağlılığını belirlemek için 100 mg/L başlangıç boya konsantrasyonu içeren çözeltilerden adsorplanan boya miktarlarının zamanla değişimi 6 saat süresince kesikli sistemde incelendi.

3.2.5.3. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi

Başlangıç boya konsantrasyonu 25-600 mg/L aralığında değiştirilerek, doğal biyokütle ve kimyasal ve fiziksel işleme tâbi tutulan fungal biyokütellerin biyosorpsiyon hız kapasiteleri araştırıldı. Biyosorpsiyon deneyleri, R Orange ve R Blue tekstil boya farklı başlangıç konsantrasyonlarında, 25 °C sıcaklıkta, 100 rpm karıştırma hızında gerçekleştirildi. Boya molekülü içeren sulu ortamlardan boya uzaklaştırma deneylerinin başlangıç boya konsantrasyonuna bağlılığı, ortam pH'sı 2.0'ye ayarlanarak yapıldı. Biyokütle ile boya uzaklaştırma işleminde dengeye ulaşılan sürenin sonunda biyokütle, boya çözeltilerinden uzaklaştırıldı ve uzaklaştırılan boya miktarı (3.2) eşitliği kullanılarak deneysel adsorpsiyon izotermi elde edildi.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI VE DEĞERLENDİRME

4.1 Araştırma Bulguları

Organik ve/veya inorganik bileşikler içeren atıkların zararsız hale getirilmesi, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde önemli bir sorun oluşturmaktadır. Geniş ölçekli üretim ve yaygın uygulamadan dolayı tekstil boyaları ciddi sağlık sorunlarına neden oldukları ve kullanılan binlerce farklı tekstil boyasının canlı sağlığına karşı oluşturduğu tehlikeler ile ilgili çalışmalar halen yoğun olarak devam etmektedir. Çevresel biyoteknoloji alanındaki gelişmeler, biyosorpsiyon yoluyla sulu ortamlardan boyaların geniş bir grubunun, bakteri, fungus, maya ve alglerin kullanımı sonucu uzaklaştırılabileceğini göstermektedir. Mikroorganizma biyokütlesi, basit fermantasyon teknikleri ve uygun büyüme ortamları ile ucuz bir şekilde sağlanabilmektedir.

Çeşitli azo boyaları lignin peroksidaz ve manganez bağımlı peroksidaz gibi ekstraselüler enzimlerin katalitik aktivitesiyle biyotransforme veya mineralize edebilme yeteneğine sahip *Trametes versicolor* ve *Phanerochaete chrysosporium* gibi beyaz-çürükçül funguslar ve bakteriyel kültürlerle (*Bacillus subtilis* gibi), mayalar (*Kluyveromyces marxianus* gibi), sıvı fermentasyonlarla renksizleştirme, tekstil atık sularından boyaların uzaklaştırılması için incelenmiştir. Tekstil boyaları birbirlerinden çok farklı kimyasal yapılara sahiptir ve bu nedenle mikroorganizmalarla etkileşimleri; boyanın kimyasal yapısına, mikrobiyal biyokütlenin spesifik kimyasına ve boya çözeltilisinin ya da atıksuyun özelliğine bağlı olduğu çok sayıda araştırmacı tarafından rapor

edilmiştir. Bu konularda yapılan çalışmalarda, boya ve mikroorganizma türlerine bağlı olarak, farklı bağlanma kapasitelerinin elde edildiği rapor edilmiştir (Aksu, 2005).

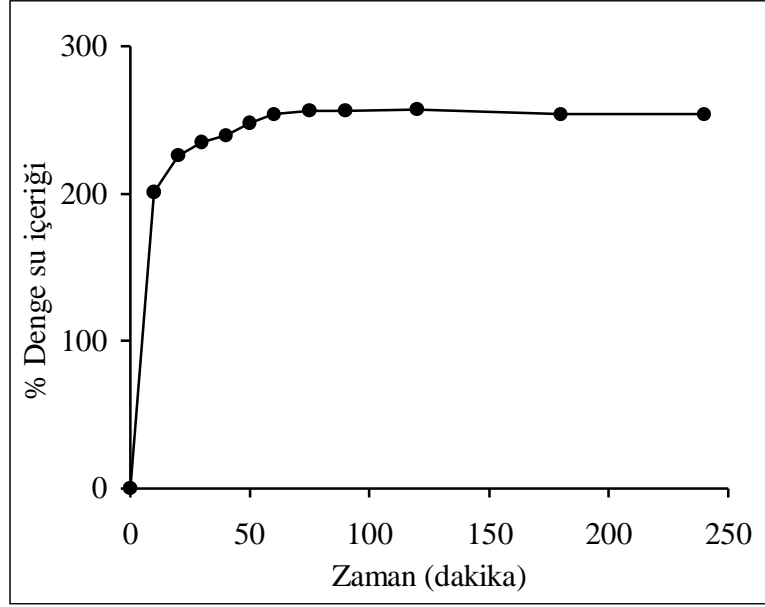
Sulu ortamdan organik kökenli boya moleküllerinin uzaklaştırılması işleminde, *T. troglia* mikroorganizması ile model olarak seçilen R Orange ve R Blue tekstil boyalarının kullanılarak, biyosorpsiyon hız ve kapasitesini etkileyen parametreler, bu araştırmada kapsamında ayrıntılı olarak incelenmiştir. Biyosorbent olarak işlem görmemiş (canlı) ya da işlem görmüş (cansız; kimyasal ya da ısı uygulanmış) mikroorganizmaların kullanımı; hızlı işlem, düşük maliyet, kolay üretilebilirlik ve kolay işlem şartları gibi avantajlar sunmaktadır. Fungal biyokütle olarak işlem görmüş mikroorganizmaların kullanımı, hiç besin gerektirmemesi ve çok seyreltik ya da konsantre kirlilik içeren atıksuların detoksifiye edilmesindeki yüksek verimliliklerinden dolayı organik kirletici içeren endüstriyel atıksu karışımlarının arıtılmasında tercih edilmektedir. Bakteriyel, fungal ve maya biyokütleleri, atıksulardan organik kirleticileri uzaklaştırma yeteneği olan, mikroorganizma türleri olarak gösterilmiştir. Fakat, literatür çalışmaları, organik kökenli kirleticilerin biyosorpsiyonu çalışmalarının, çok sınırlı olduğunu belirtmiştir ve birkaç tip bakteriyel, fungal ve maya biyokütlesi üzerine, sadece seçilen toksik organiklerin biyosorpsiyonu araştırılmıştır. Çok sayıdaki organik kirleticilerle bu tür çalışmalar yapılmamıştır, ayrıca fermantasyon sonucu atık olarak bakiye kalan, doğal çevrede bol miktarda bulunan biyokütleler veya kolayca üretilen (basit, ucuz ortamda büyüeyebilen ve yüksek üretim hızına ve yüksek biyosorpsiyon kapasitesine sahip olan) yeni biyokütlelerin bu alanda test edilmelerine ve kapasitelerinin belirlenmesine gereksinim vardır.

Son yıllarda yapılan birçok çalışmada, beyaz çürükçül fungusların endüstriyel atık sulardan biyosorpsiyon yolu ile metal iyonu ve boyar madde uzaklaştırılmasında başarı ile kullanılmalarının mümkün olduğu gösterilmiştir. *T. trogii* biyokütlesi, basit besi ortamlarında, basit inkübasyon şartlarında, kolay, hızlı ve ucuz maliyetle üretilmektedir. Bu doğrultuda, biyoteknoloji alanında *T. trogii* fungusunun farklı molekül yapısına sahip R Blue ve R Orange tekstil boyalarının uzaklaştırılmasında biyosorbent olarak kullanılmasının önemli bir avantaj sağlayacağı düşünülmüştür. Boya moleküllerinin sulu ortamlardan uzaklaştırılması işleminde biyosorpsiyon hız ve kapasitesine, adsorpsiyon ortamının pH'sı, önişlem ve başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi araştırılarak, farklı koşullarda meydana gelen arayüzey etkileşimlerinin incelenmesi, bu araştırma kapsamında çalışılması planlanmıştır.

4.1.1. Karakterizasyon Çalışmaları

4.1.1.1. Denge Su İçeriği

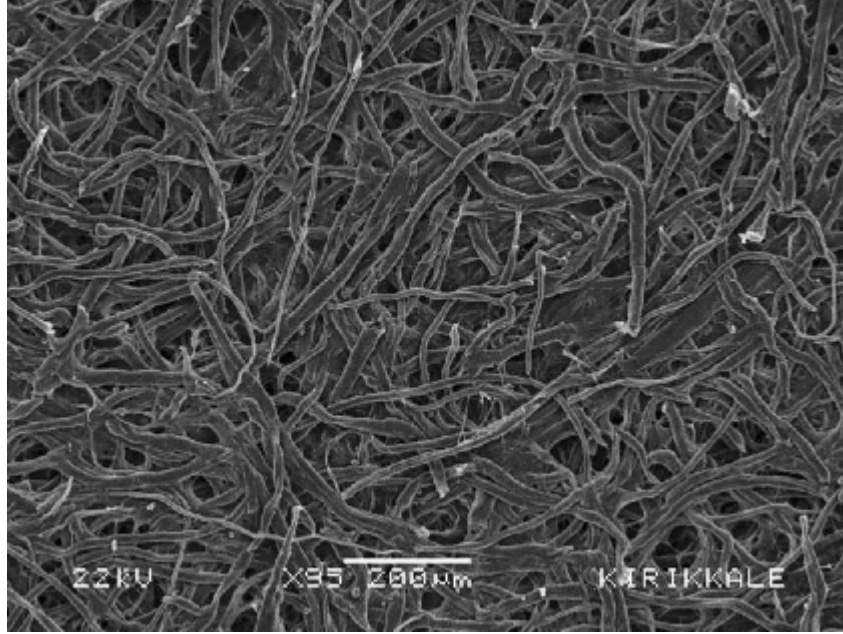
Denge su içeriği biyokütlenin boya adsorpsiyonu işlem kapasitesini arttıran önemli bir parametredir. *T. trogii*'nin denge su içeriği, %0.85'lik NaCl içeren, fizyolojik tuz çözeltisi içerisinde gravimetrik yöntem ile 3.1 eşitliği kullanılarak belirlendi. Fungal biyokütlenin denge su içeriğine 60 dakika gibi kısa bir sürede ulaşılmıştır (Şekil 4.1). Denge su içeriğinin yüksek olmasının, hidrofilik özellikteki fungus hücre duvarının yapısından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.



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

4.1.1.2. Yüzey Analizleri

Çalışmamızda kullanılan fungal biyokütlenin yüzey mikrografi, taramalı elektron mikroskopu mikrografları ile incelendi. *T. trogii* biyosorbentinin, yüzeyinde yoğun bir misel ağı yapısı olduğu gözlemlendi (Şekil 4.2.). Fungusun bu misel yapısından dolayı sağlayacağı geniş yüzey alanının, boya biyosorpsiyon kapasitesini arttıracığı düşünülmüştür.

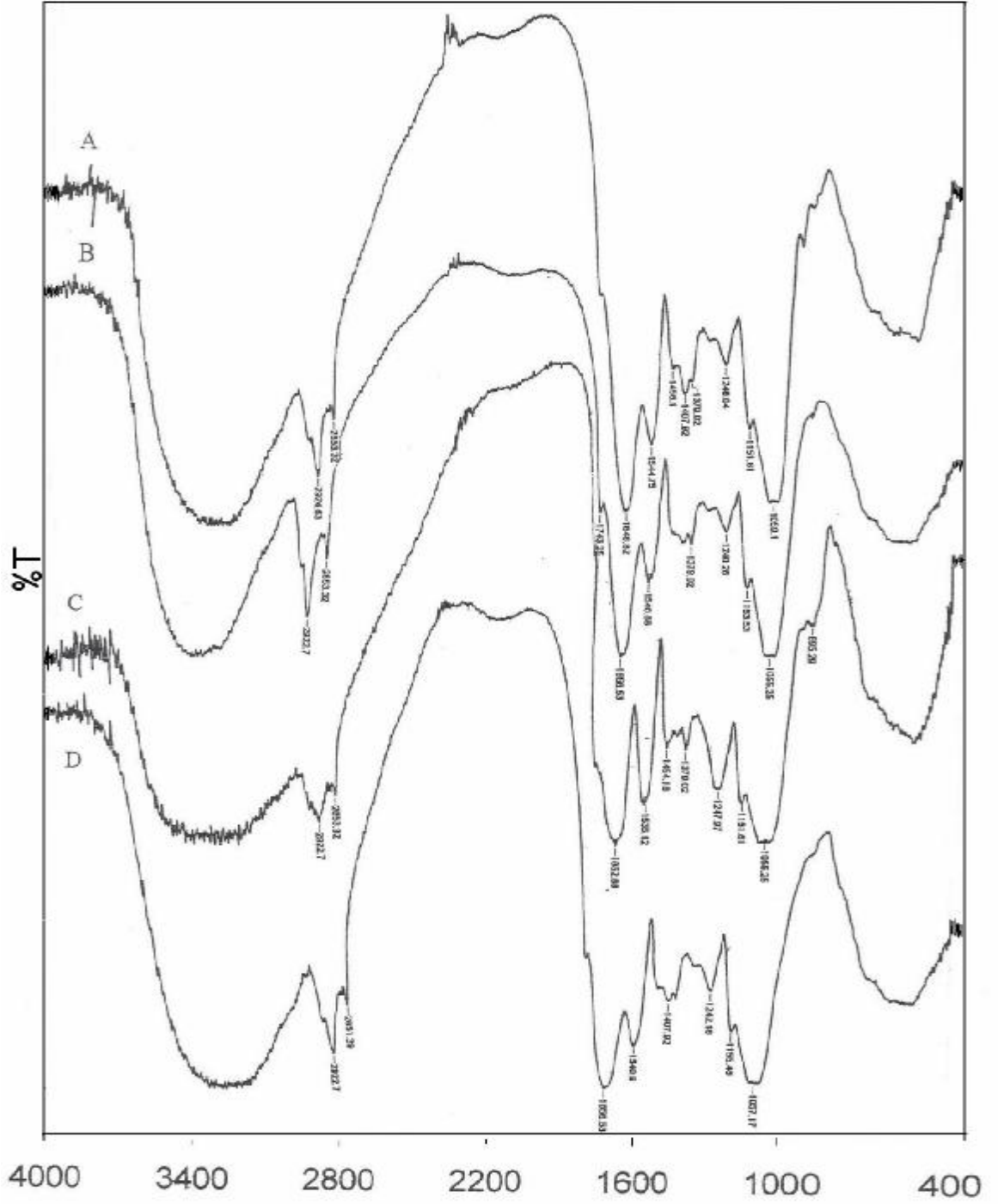


Şekil 4.2. Araştırmada kullanılan fungusun SEM fotoğrafı

4.1.1.3. Fungal Biyosorbentin FT-IR Spektrumu

T. trogii biyokütlesinin FT-IR spektrumundan elde edilen çok sayıda adsorpsiyon bandı; fungal biyokütlenin amin, karboksil, karbonil, hidroksil ve fosfonat gruplarına sahip olan kompleks bir yapıda olduğunu göstermektedir (Şekil 4.3). Fungal hücre duvarı kitin, kitosan, protein, lipid, poliuronid ve melanin içermektedir (Gad,1992). 1650 cm^{-1} civarındaki güçlü pikler fungal biyokütlenin hücre duvarında mevcut kitin ve kitosanın $-\text{NH}_2$ bağlarından kaynaklanmaktadır. $3500-3000$, 1545 ve 1380 cm^{-1} civarındaki absorpsiyon pikleri amin gruplarının varlığının bir kanıtı olarak görülmektedir. $3400-3200\text{ cm}^{-1}$ 'deki keskin gerilim bantları, $-\text{OH}$ ve $-\text{NH}$ gruplarına ait

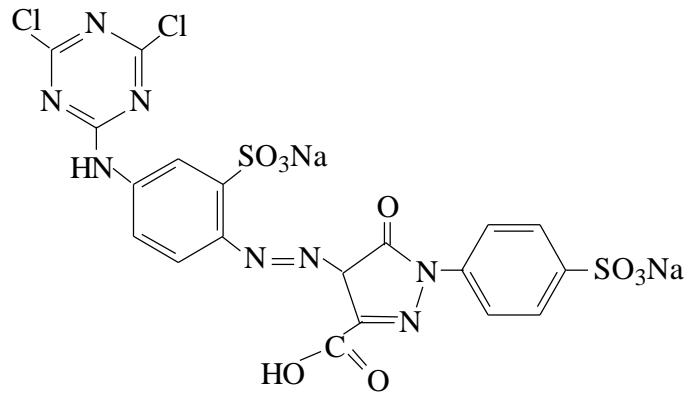
piklerdir. Karboksil gruplarından ileri gelen absorpsiyon pikleri ise 3600-3200, 1649, 1544 ve 1246 cm^{-1} aralığında gözlenmiştir. Fosfonat gruplarının absorpsiyon piki ise 1152 cm^{-1} deki P=O gerilim ve 1059-1078 cm^{-1} de P-O gerilim bandı olarak gözlenmiştir. Yaklaşık olarak 1246 cm^{-1} gözlenen pik aromatik halkanın C-O gerilim bandına karşılık gelmektedir. 530 ve 470 cm^{-1} deki C-N-C makaslama piki, polipeptit yapısının varlığını göstermiştir. Şekil 4.3'de işlem gören biyokütlenin FTIR spektrumunu göstermektedir. Fiziksel ve/veya kimyasal işlem gören biyokütlerde, lipid bileşenlerinin uzaklaştırılmasından dolayı piklerden bazılarının yoğunluğunun azaldığı veya ortadan kalktığı görülmektedir.



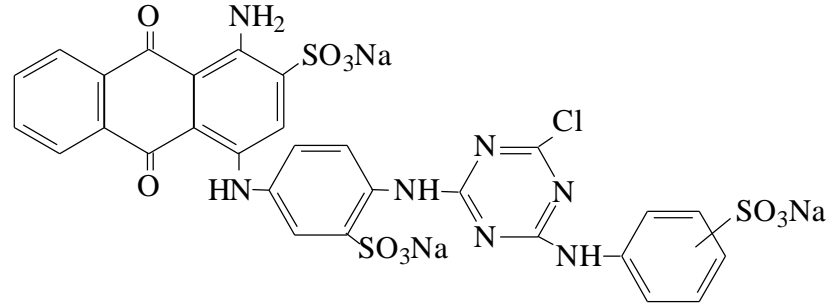
Şekil 4.3. A) Doğal, B) Isı, C) Asit, D) Alkol ile muamele edilmiş biyokütlelerin FTIR spektrumu.

4.1.2. Sulu Ortamdan Boya Uzaklaştırılması Çalışmaları

Biyosorpsiyon çalışmaları kesikli sistemde, tek çeşit boya molekülü içeren ortamda gerçekleştirildi. Biyosorpsiyon mekanizmasının temelini, mikrobiyal biyokütlelerin organik kirleticiler içeren sulu çözeltilerle temas ettirilmesi sonucu gerçekleşir. Biyokütle kullanılarak boya molekülleri içeren sulu çözeltideki biyosorpsiyon işleminin bir arayüzey olayı olması nedeni ile, hedef kirletici moleküllerin uzaklaştırılması için gerekli temas süresi sağlanarak, dengenin oluşmasına izin verilmelidir. Biyokütlenin, sulu fazdan ayrıştırılmasından sonra, kirletici içeren biyokütle ya rejenere edilir ya da çevresel atık olarak kabul edilerek güvenli bir şekilde imha edilir. Sulu ortamlardan uzaklaştırılması planlanan, R Orange ve R Blue boya moleküllerinin kimyasal yapıları Şekil 4.4 ve 4.5'te gösterilmektedir. R Orange molekülü; iki tane sülfonil, bir tane karboksil, bir tane sekonder amin grubuna; R Blue molekülü; üç sülfonil, bir tane primer, üç tane sekonder amin grubuna sahiptir.



Şekil 4.4. Reaktif Orange 14 boya molekülünün kimyasal yapısı



Şekil 4.5. Reaktif Blue 2 boya molekülünün kimyasal yapısı

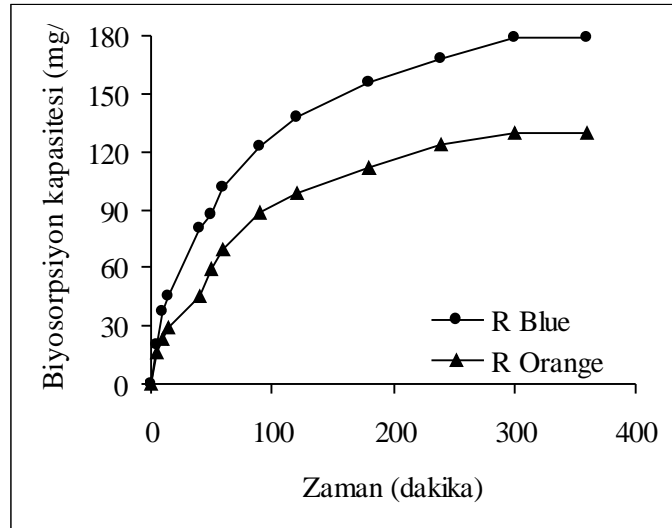
Fungal biyosorbentlerin kullanımının, sentetik sorbentlere göre, ekonomik açıdan bazı avantajlar sağlayacağı düşünülmektedir. Bunun yanında, yapılan çalışmalarda, fiziksel ve/veya kimyasal yöntemlerle (ısı uygulaması, asit, baz, alkol gibi) modifiye edilen biyokütlelerin, biyosorpsiyon kapasitelerinin arttığı ve sulu ortamdan boya molekülleri gibi kirleticilerin uzaklaştırılmasında, aktif biyokütlelere göre daha fazla avantajlar sağladığı bildirilmiştir. Bu doğrultuda, *T.trogii* fungal biyokütlesinin hem canlı (doğal), hem de işlem görmüş (ısı, asit, etanol) yapıları hazırlanarak tekstil boyalarının uzaklaştırma işleminde kullanılmıştır.

4.1.2.1. Biyosorpsiyon Zamanı

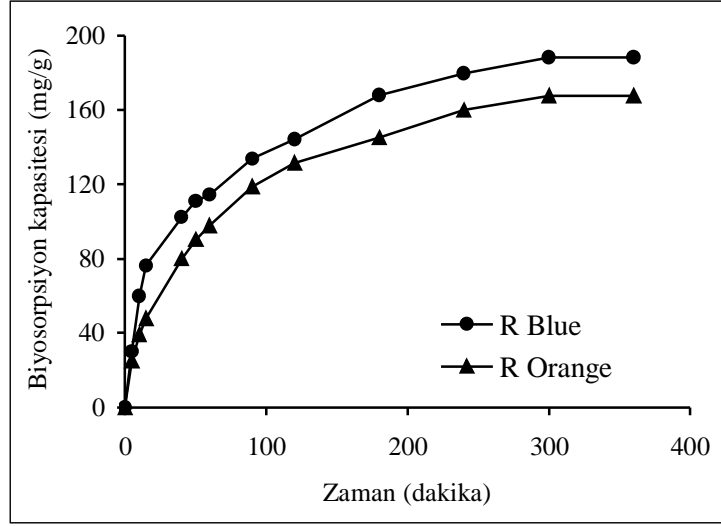
Gözenekli yapıya sahip biyosorbent ile organik kirletici molekülünün biyosorpsiyon işlemi; *i*) boya molekülünün biyosorbent ile sıvı arayüzeyindeki sınır filminden, biyosorbentin dış yüzeyine (film difüzyonu) taşınması, *ii*) moleküllerin yüzeyden, intrapartiküler aktif bölgelere transferi ve *iii*) moleküllerin biyosorbentin

aktif bölgelerince alınmasını takip eden basamaklardan oluşacaktır. Atıksulardan organiklerin uzaklaştırılmasında, biyosorpsiyon mekanizmasını ve hızını kontrol eden, potansiyel hız kontrol adımlarını araştırmak için, önerilen tasarım önemlidir. Eksternal kütle transferi, intrapartiküler difüzyon gibi kinetik incelemelerin yapılabilmesi için, biyosorpsiyon işleminin zamanla değişimi ve denge koşulları araştırılmalıdır. Bu amaçla, *T. trogii* fungal biyokütlesi ile, iki farklı tekstil boyasının, sulu çözeltilerden uzaklaştırılmasında biyosorpsiyonun zamanla değişimi araştırılmıştır.

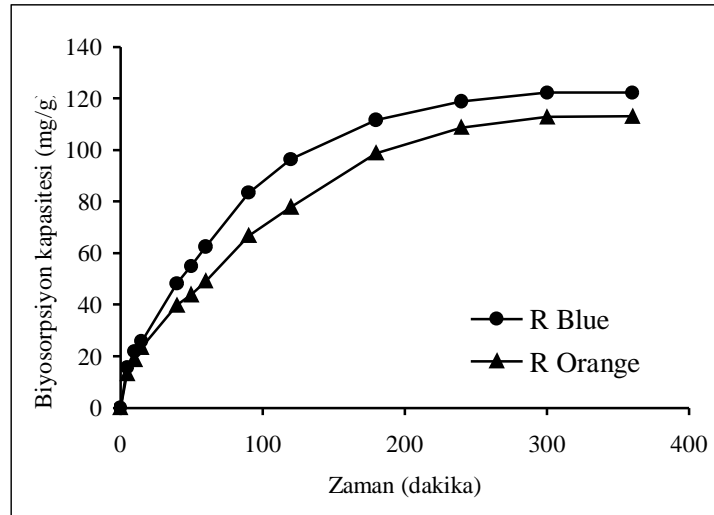
Doğal *T. trogii* biyokütlesi ve ısı, asit ve alkol ile modifiye edilerek, dört ayrı yapıda hazırlanan biyosorbentler kullanılarak R Orange ve R Blue tekstil boyalarının uzaklaştırılmasının kinetik incelemesi araştırıldı ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.6-4.9'da verildi. Doğal ve işlem görmüş biyokütleler üzerine boya biyosorpsiyonunun, 5 saatte dengeye ulaştığı ve 6 saat inkübasyon süresi sonunda adsorpsiyon dengesinde bir değişiklik olmadığı gözlemlendi.



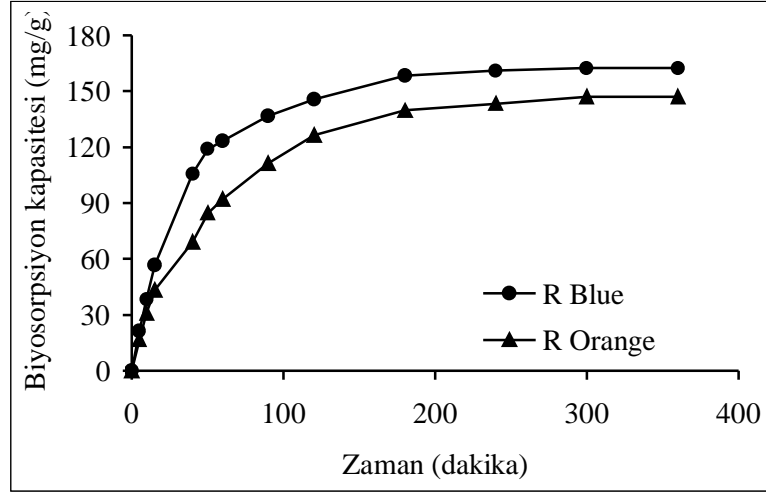
Şekil 4.6. Doğal biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı
(başlangıç boya konsantrasyonu, 100mg/L)



Şekil 4.7. Isı ile işlem gören biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı (başlangıç boya konsantrasyonu, 100mg/L)



Şekil 4.8. Asit ile işlem gören biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı (başlangıç boya konsantrasyonu, 100mg/L)



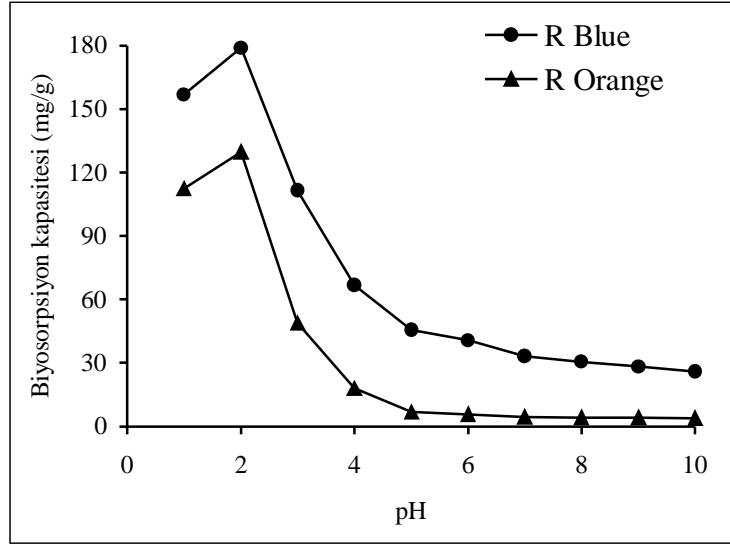
Şekil 4.9. Etanol ile işlem gören biyokütle ile R Blue ve R Orange biyosorpsiyonunun zamana bağlılığı (başlangıç boya konsantrasyonu, 100mg/L)

4.1.2.2. pH Etkisi

Toksisitesi yüksek kirlenmeler arasında yer alan reaktif boyaların uzaklaştırılması, doğal ve/veya modifiye edilmiş fungal biyokütlenin adsorptif bölgeleri ile boya moleküllerinin sahip olduğu fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşime bağlıdır. Ortam pH'sı sadece biyosorpsiyon kapasitesini değil aynı zamanda, boya çözeltisinin rengini ve boyaların çözünürlüğünü de etkileyen, en önemli parametrelerden biridir. Doğal yapıdaki ve ısı, asit ve etanol ile işlem gören *T. troglia* biyokütlesi ile sulu ortamdan boya molekülünün biyosorpsiyon ile uzaklaştırılması işlemine ortam pH'sının etkisi, pH 1.0-10.0 aralığında araştırıldı. Dört ayrı yapıdaki biyokütlenin R Blue ve R Orange boya molekülü uzaklaştırılmasında optimum pH'nın 2.0 olduğu görüldü. Bunun yanında, pH 5.0-10.0 aralığında fungal biyokütle örneklerinin adsorpsiyon kapasitelerinin oldukça

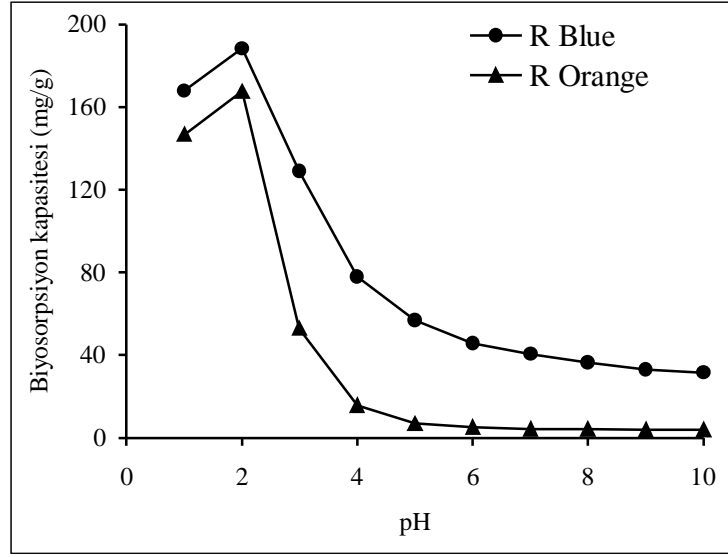
düşük düzeylerde olduğu belirlendi (Şekil 4.10-4.13). Genel olarak, fungal biyokütlenin boya molekülleri ile etkileşen yüzey gruplarının, hücre duvarı yapısında bulunan kitin ve kitosan olduğu düşünülmektedir. Kullanılan, R Blue ve R Orange boya molekülleri, farklı iyonik ve hidrofobik gruplar içeren azo bileşikleridir. Endüstriyel atık suların ve/veya sulu çözeltilerinin pH'sının 2.0'den 11.0'e çıkarılması ile, mikroorganizmaların boya uzaklaştırma etkinliğinin azaldığı diğer araştırmacılar tarafından da gösterilmiştir (Mishra, ve Tripathy, 1993; Seshadri ve ark., 1994). Düşük pH'lardaki maksimum etkinlik, asidik pH'da pozitif yüklü bakteriyel hücre yüzeyinin çözelti ortamındaki iyonize olmuş boya moleküllerinin anyonları ile, etkileşimleri sonucunda meydana gelmektedir. R Blue ve R Orange boya moleküllerinde bulunan ve pKa değeri 0.8 olan sülfonil grubu kolaylıkla dissosiyasyon olarak sulu ortamda negatif yüklü halde bulunurlar. Asidik pH'da, biyokütlerdeki negatif yüzey yükünü sağlayan karboksil ve fosfonat grupları boya moleküllerinin etkileşemeyeceği alanları oluştururken, biyokütlerdeki $-NH_2$ grupları bulunduran kitin, kitosan ve protein moleküllerinin protonlanması ile $-NH_3^+$ pozitif yüklü bağlanma bölgelerini oluşturacaktır. Biyolojik moleküllerdeki amin gruplarının pKa değeri 6.0-11 aralığında olduğu bilinmektedir ve pH'nın 6.0'dan küçük değerlerinde tamamen protone oldukları çok sayıda araştırmacı tarafından rapor edilmiştir. Biyokütle yüzeyindeki pozitif yüklü gruplar ile negatif yüklü boya molekülleri arasında elektrostatik etkileşim sonucunda, düşük pH değerlerinde biyosorpsiyon kapasitesinin arttığı düşünülmektedir. Ancak R Orange boya molekülünün biyosorpsiyon kapasitesi, pH 5.0-7.0 aralığında negatif yüklü boya molekülleri ile mikroorganizma yüzeyinde baskın olarak bulunan negatif karboksil ve fosfonat gruplarının arasındaki itme kuvvetlerinden dolayı ihmal edilebilecek düzeydedir (Şekil 4.10-4.13). Bu pH aralığında R Blue'nun

biyosorpsiyon kapasitesinin R Orange'a göre daha fazla olması, sahip olduğu bir tane primer ve üç tane sekonder amin grubunun protone olarak pozitif yüklenmesinin bir sonucudur. R Orange yapısında, R Blue'dan farklı olarak pH 7.0'de negatif yüke sahip, pKa değeri yaklaşık 4.0 olan bir tane karboksil grubu bulunmaktadır. Ortam pH'sının daha da arttırılması ile, biyokütle yüzeyindeki fosfonat grubu ($pK_a = 6.1-6.8$) da iyonize olarak negatif yüke sahip olarak yüzeydeki eksi yük yoğunluğunun artması ile negatif yüklü gruplara sahip boya molekülleri arasındaki itme kuvvetlerinden dolayı herhangi bir etkileşim gözlenmemiştir.

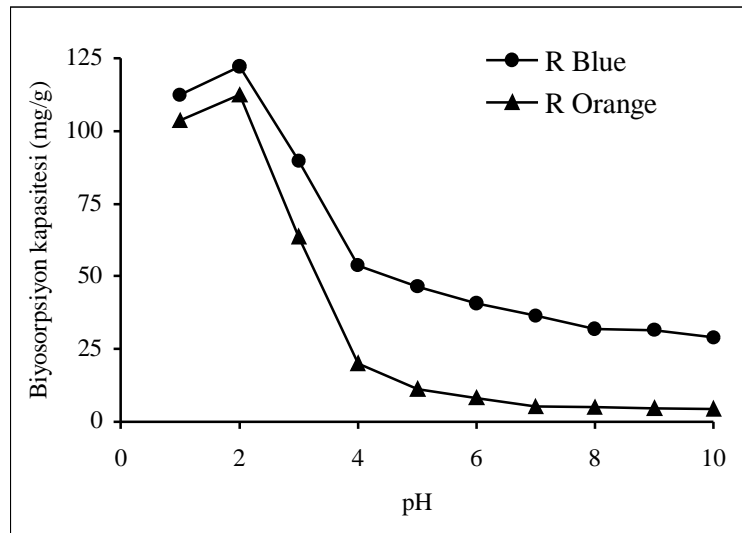


Şekil 4.10. Doğal biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi

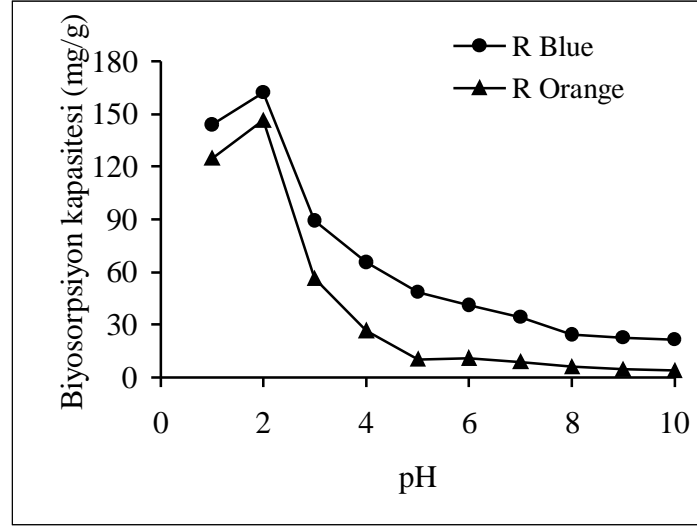
(başlangıç boya konsantrasyonu, 100 mg/L)



Şekil 4.11. Isı ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 100 mg/L)



Şekil 4.12. Asit ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 100 mg/L)



Şekil 4.13. Etanol ile işlem gören biyokütlenin boya uzaklaştırma işleminde ortam pH'sının etkisi (başlangıç boya konsantrasyonu, 100 mg/L)

Boya uzaklaştırılması ve renk giderilmesi işleminde sistem parametrelerinin etkisi üzerine araştırmacıların yaptığı çalışmalar sonucunda pH'nın oldukça etkili olduğu belirtilmiştir. Fu ve Viraraghavan boya çözeltisinin başlangıç pH'sının her boya molekülünün ve mantar biyokütlesinin kimyasını etkilediğini rapor etmişlerdir (Fu ve Viraraghavan, 1999,2000). De Angelis ve Rodrigues Candida sp. ile boya uzaklaştırılmasında optimum pH değerini 1.5 bulmuşlar ve artan pH ile adsorpsiyon kapasitesinin azaldığını gözlemlemişlerdir (De Angelis ve Rodrigues, 1987).Hu, *Aeromonas* sp. hücreleri tarafından onbir ayrı reaktif boyanın biyosorpsiyonu için optimum pH'nın, asidik aralıkta olduğunu, pH'nın 3.0'den 11.0'e artmasıyla birlikte boya uzaklaştırmasının azaldığını belirtmiştir (Hu, 1992). Fu ve Viraraghavan, NaHCO₃

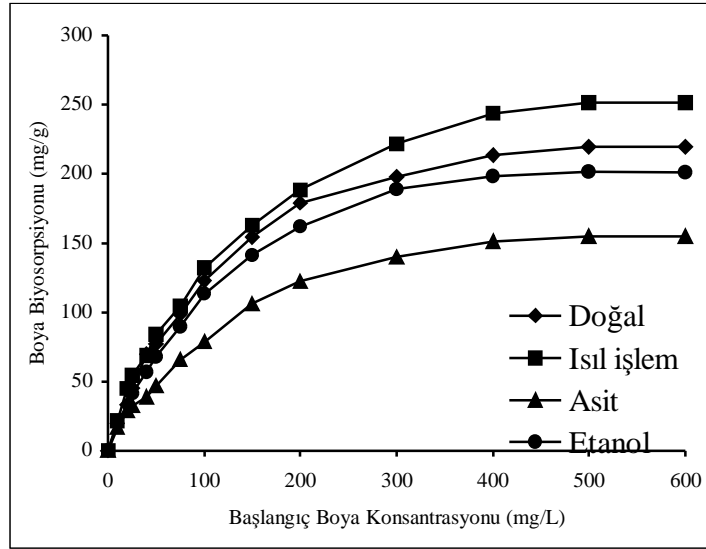
ile önişlem görmüş *A.niger* biyokütlesi ile sulu çözeltiden Congo Red'in biyosorpsiyonu üzerine pH'nın etkisini incelemişler ve NaHCO₃ ile önişlem görmüş *A.niger* biyokütle yüzeyinin negatif yüklü adsorpsiyon bölgelerine sahip olması ve düşük pH'da yüksek proton konsantrasyonundan dolayı bu bölgelerin nötralize olması sonucunda adsorpsiyon gözlenemediğini belirtmişlerdir (Fu ve Viraraghavan, 2001).

4.1.2.3. Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi

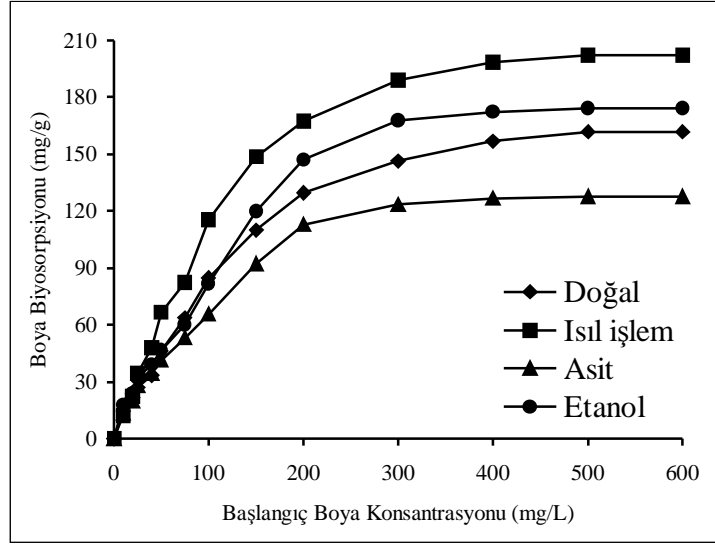
Boya konsantrasyonu, renk gideriminin verimliliğini etkileyen önemli faktörlerden birisini oluşturmaktadır. Başlangıç boya konsantrasyonu, sıvı ve katı faz arasındaki boyanın kütle transfer direncini yenmek için, önemli bir itici kuvvet sağlar. Daha yüksek boya başlangıç konsantrasyonu, adsorpsiyon işlemini daha etkin hale getirmektedir. Bu nedenle, adsorpsiyon izotermi olarak bilinen, denge verileri, organik kirleticilerin uzaklaştırılmasında, biyosorpsiyon sistemlerinin tasarımı için temel gereklilikleri oluşturmaktadır.

Fungal biyokütle hücre duvarı, polisakkarit, protein ve lipitlerden oluşmaktadır. Bu doğal polimerler, karboksil, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino grupları gibi çok sayıda fonksiyonel, boya ile etkileşebilecek gruplara sahiptir. Deneysel biyosorpsiyon izotermi, sabit tutulan pH ve sıcaklık gibi sistem parametrelerinin yanında kuru gram biyokütle başına farklı boya konsantrasyonunda arayüzey ilişkisi incelenerek de belirlenmiştir. İncelenen dört farklı yapıdaki biyokütle ile biyosorpsiyonu incelenen iki farklı boya molekülünün sulu ortamlardan uzaklaştırılması işleminde, maksimum biyosorpsiyon kapasitesinin boya konsantrasyonunun artmasıyla birlikte arttığı ve 500 mg/L başlangıç

boya konsantrasyonunda sabit bir değere ulaştığı gözlenmiştir (Şekil 4.14-4.15). İşlem görmemiş fungus ile ısı, asit ve alkol ile işlem gören fungal biyokütleler ile sulu ortamlardan R Blue tekstil boyasının uzaklaştırılması işleminde maksimum biyosorpsiyon kapasitesi sırasıyla 219.6, 251.2, 154.6 ve 201.2 mg/g biyosorbent olarak bulunmuştur (Şekil 4.14). R Orange için maksimum biyosorpsiyon kapasitesi aynı biyokütleler için sırası ile 161.8, 202.2, 127.8 ve 174.3 mg/g olarak belirlenmiştir (Şekil 4.15). R Blue için her biyokütle yapısında daha yüksek kapasitenin belirlenmiş olmasının boya moleküllerinin farklı kimyasal yapılarından kaynaklandığı düşünülmektedir.



Şekil 4.14. Biyokütlelerin sulu ortamdan R Blue biyosorpsiyonunda başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi



Şekil 4.15. Biyokütlelerin sulu ortamdan R Orange biyosorpsiyonunda başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi

Bustard ve arkadaşları, *K. marxianus* IMB3 ile Remazol Golden Yellow boyasının uzaklaştırılması işleminde yüksek boya konsantrasyonlarında biyosorptif kapasitenin önemli derecede arttığını gözlemlədiler (Burstard ve ark., 1998). Aynı biyokütle ile Cibacron Orange için biyosorptif kapasitenin, 8.5 mg/g olduğunu rapor etmişlerdir. Chu ve Chen, kurutulmuş aktif çamur biyokütlesi kullanarak, Basic Yellow 24'ün adsorpsiyonunda boya konsantrasyonunun etkisini araştırmışlardır. Boya konsantrasyonunun 50'den 300 mg/L'ye artmasıyla, boya uzaklaştırılmasının 18mg/g dan 90 mg/g'a arttığını bildirmişlerdir (Chu ve Chen, 2002). Dönmez ve Aksu, boya sorpsiyon kapasitesine başlangıç Remazol Blue konsantrasyonunun etkisini pH değeri 2.0'de araştırmışlar ve boyaların kimyasal yapılarına ve başlangıç boya konsantrasyonlarına bağlı olarak, farklı bağlanma kapasiteleri ve verimliliklerine ulaşılırken, bütün maya türlerinin 100 mg l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda,

renklendirici materyalin %90'ından fazlasını uzaklaştırma yeteneğine sahip olduğunu ifade etmişlerdir (Dönmez ve Aksu, 2003). Bustard ve arkadaşları, *Kluyveromyces waltii* ile Remazol Black B ve Remazol Red boyalarının sırası ile 37 ve 68 mg/g etkinlikle uzaklaştırıldıklarını rapor etmişlerdir. Hu, çalışmasında *Aeromonas sp.* mikroorganizmasını kullanarak Reactive Yellow 2 boya molekülünün maksimum uzaklaştırma kapasitesinin 124.3 mg/g olduğunu bildirmiştir (Hu, 1992).

Pradnya ve Seema tarafından atıksuyun boya endüstrisi ürünleri Metil Violet, Rhodamine B, Nigrosine ve Chrysoidi'nin etkili şekilde arıtımı için mikrobiyal bir işlem geliştirilmiştir. Bu şekilde sığır gübresinden izole edilen *Pseudomonas alcaligenes*'in bir kültürünü kullanarak, kirliliklerin uzaklaştırılabildiğini belirlemiştir (Pradnya ve Seema, 1995). Gallagher ve arkadaşları, *Laminaria digitata*, *Rhizopus oryzae* ve *Aspergillus niger*'i içeren üç fungus tipini reaktif boya uzaklaştırması için incelemiştir (Gallagher ve arkadaşları, 1997). Polman ve Breckenridge, 6 fungus türünün sülfür ve reaktif boyalarını uzaklaştırdığını ortaya koymuşlardır (Polman ve Breckenridge, 1996).

4.1.2.4. Fiziksel ve Kimyasal Önişlemin Etkisi

Fiziksel ya da kimyasal önişlem uygulamalarının, uzaklaştırılacak boya molekülünün kimyasal yapısına bağlı olarak, biyokütlenin adsorpsiyon kapasitesini değiştirebildiği çok sayıda araştırmacı tarafından bildirilmiştir. Bu önişlem metodları; kurutma, otoklavlama gibi fiziksel uygulamaları veya formaldehit gibi organik

kimyasallarla, ya da NaOH, H₂SO₄, NaHCO₃, ve CaCl₂ gibi inorganik kimyasallarla temas ettirmeyi içermektedir.

Bu doğrultuda, çalışmamızda kullanılan fungus biyokütlesinin boya moleküllerini uzaklaştırma kapasitesini daha etkin bir şekilde artırmak için yüzey grupları çeşitli işlemlerle modifiye edilmiştir. Çalışmamızda R Blue için, ısı ile işlem görmüş biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi, doğal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesinden 1.14 kat daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.14). R Orange boya molekülünün biyosorpsiyon kapasitesindeki bu değişim ise 1.25 kat olarak bulunmuştur (Şekil 4.15). Biyosorpsiyon işleminde, cansız mikrobiyal hücrelerin (ısı ile veya kurutulularak) boya moleküllerini uzaklaştırmak için kullanımı, doğal (canlı) yapısına kıyasla daha fazla avantaj sağladığı bilinmektedir. Cansız organizmaların toksik atıklardan etkilenmemesi, canlılıklarını devam ettirebilmeleri için sürekli besin gerekmemesi, oda sıcaklığında bozulmadan depolanabilmesi, rejenerasyonlarının kolay olması ve tekrar kullanılabilirliği gibi özellikler cansız mikrobiyal biyokütlelerin avantajları arasında sayılabilir.

Isıl işleme tâbi tutulmuş biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesindeki bu artışın, ön işlem sonucunda oluşturulan fungal hücre duvarının biyosorptif karakteristiklerindeki değişimlerinden kaynaklanabileceği bir çok araştırmacı tarafından ifade edilmiştir. Gallagher ve arkadaşları, ısı işlemin biyokütlenin parçalanması ile sonuçlandığını ve böylece gizli bölgelerin açığa çıkarak boya adsorpsiyonunun artmasına sebep olduğunu ileri sürmüşlerdir (Gallagher ve ark., 1997). Fu ve Viraraghavan, ısı işlemin fungal

biyokütlerde gözeneklilik artışıyla sonuçlanan bir dağılıma yol açtığını ve böylece Congo Red'in biyosorpsiyon kapasitesinin artmasına neden olduğunu rapor etmişlerdir (Fu ve Viraraghavan, 2002). Tatarko ve Bumpus, Congo Red'in renk giderimi için *P.chrysosporium*'un canlı ve otoklavlanmış kültürlerini kullanmışlar ve otoklavlanarak inaktif hale getirilmiş hücrelerin, canlı hücrelere kıyasla daha yüksek renk giderimi sağladığını rapor etmişlerdir (Tatarko ve Bumpus, 1998).

Asit ile işlem görmüş fungal biyokütlenin, R Blue ve R Orange boya moleküllerinin biyosorpsiyonunda kullanıldığında, boya uzaklaştırma etkinliğinin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.14-4.15). Doğal biyokütle, HCl ile işleme tâbi tutulması sonucunda, hücre duvarı yapısında bulunan proteinlerin hidrolize olarak, karboksil gruplarının ortaya çıkmasına neden olduğu düşünülmektedir. Bu gruplar, pKa değerlerinin üstündeki pH'larda negatif yüklü olacağından, asidik pH'da negatif yüzey yüküne sahip biyokütle ile negatif yüklü boya molekülleri birbirlerini iterek biyosorpsiyon kapasitesinin azalmasına neden olduğu da düşünülmektedir.

Etanol ile işlem görmüş fungal biyokütlenin kullanılması, biyosorpsiyon kapasitesinin doğal yapısına göre R Blue için %8.3 oranında bir azalmaya ve R Orange için ise 8.0% oranında bir artışa neden olmuştur (Şekil 4.14-4.15). Fungal biyokütle yüzeyindeki lipit tabakası, etanol ile etkileştirildikten sonra çözünerek uzaklaştırıldığı için hidrofobik etkin bağlanma bölgelerinde bir azalma olacağı ve bunun sonucunda R Blue boyasının adsorpsiyon kapasitesinde de bir azalma gözleendiği, bunun yanında R Orange boya molekülünün biyosorpsiyon kapasitesindeki artışın hidrofobik etkileşimlerin azalması sonucu meydana geldiği düşünülmektedir.

Tatarka ve Bumpus, canlı ve otoklavlanmış *P. chrysosporium* kültürleri ile Congo Red renksizleştirilmesi çalışmışlardır (Tatarka ve Bumpus, 1998). Mou ve arkadaşları, bazı azo boyaları renksizleştirmek için *Myrothecium verrucaria*'nın otoklavlanmış hücrelerini kullanmışlardır (Mou ve arkadaşları, 1991). Zhou ve Banks, formaldehit ve otoklavlama önışleminin gizli bağlanma bölgelerinin ortaya çıkmasına neden olduğunu ve NaOH önışleminin hücre duvarından protein ve glukanları uzaklaştırdığını, böylece tüm hücre fraksiyonundaki kitin/kitosan yüzdesinin arttığını ileri sürmüşlerdir (Zhou ve Banks, 1993). Polman ve Breckenridge, bakteri, mantar ve mayaların dahil olduğu 28 mikroorganizma türünden %64'ünün önışlem görmüş formlarının Rektif Black 5 boyasını adsorplama kapasitesinin yüksek olduğunu bildirmişlerdir (Polman ve Breckenridge, 1996). Bu verilen yöntemlerin dışında, vakumla kurutma ya da NaOH, HCl, H₂SO₄, NaHCO₃ ve CaCl₂ gibi inorganik kimyasallarla biyokütleler muamele edilerek boya biyosorpsiyonunda kullanılmıştır ve bazı yöntemlerin adsorpsiyon kapasitesini arttırdığı bazı yöntemlerin ise adsorpsiyon kapasitesini azalttığı yönünde raporlar bulunmaktadır (Fu ve Viraraghavan, 2002; Tatarko ve Bumpus, 1998; Lu and Wilkins, 1996).

4.2. Değerlendirme

Tekstil boyalarının ve endüstriyel atıkların çevreye arıtılmadan bırakılması sonucunda, toprak ve su kirliliklerine yol açmaktadır. Bu atıklar, su kütlelerinde meydana gelen kalıcı renklenmeye neden olmaları yanında, sucul canlılar yolu ile besin zincirine girerek, daha üst düzey canlılarda birikmeye başlamaktadır. Önemli kirleticiler arasında yer alan tekstil boyaları, insan sağlığı için de ciddi problemlere neden olmaktadır. Tekstil boyaları, özellikle kanserojenik etkileri nedeniyle, su kaynaklarından arıtılması zorunlu olan temel kirleticilerin başında gelmektedir. Tekstil boyalarını atık sulardan uzaklaştırma çalışmaları, son yıllarda yoğunlaşmış ve bu amaçla çok çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Uygulanan tekniklerin, çevreye yeni atıklar oluşturmaması ve maliyetlerinin düşük olması için yoğun çalışmaların yapılması gereklidir. Bu amaçla kullanılacak sorbentlerin; düşük maliyet, kolay erişilebilirlik, hızlı ve kolay işlem şartları, oldukça seyreltik ya da konsantre atıksuları detoksifiye etmedeki yüksek verimliliği ve adsorpsiyon kapasitesi yüksek olması gerektiği çok sayıda araştırmacı tarafından işaret edilmiştir. Bakteriyel, fungal ve maya gibi, atıksulardan organikleri uzaklaştırma yeteneğine sahip olan mikroorganizmaların bu alanda kullanılmalarının avantajlar sağladığı çok sayıda yapılan araştırma sonucu görülmüştür. Fakat, literatür araştırmalarımız sonucunda, organik kirleticilerin biyosorpsiyon çalışmalarının, çok sınırlı kaldığı görülmüştür ve bir kaç tip bakteriyel, fungal ve maya biyokütlesi üzerine, sadece seçilen toksik boya moleküllerinin uzaklaştırılması araştırılmıştır. Konunun aydınlatılması ve geliştirilmesi açısından diğer kirleticilerle araştırmaya geksinim vardır ve kolaylıkla sağlanabilen ya da basit, ucuz

ortamda büyüeyebilen ve yüksek üretim hızına ve biyosorpsiyon kapasitesine sahip olan yeni mikrobiyal biyokütellerin bu alanda test edilmesine gereksinim vardır.

Bu doğrultuda, beyaz çürükçül bir fungus olan *T. trogii* biyokütlesi iki farklı boya molekülünün biyosorpsiyonunda kullanılmıştır. Sulu ortamlardan, hedeflenen boyaların uzaklaştırılması için, *Trametes trogii* mikroorganizmasının biyosorpsiyon hız ve kapasitelerini etkileyen parametreler, tez kapsamında ayrıntılı olarak incelenmiştir. Ayrıca, bu biyosorbentin çeşitli önışlemlere maruz bırakılmasıyla, biyosorpsiyon kapasitesindeki değişimleri de araştırılmıştır. İşlem görmüş (kimyasal ya da ısı uygulanmış) mikroorganizmalar yukarıda sıralanan avantajların yanısıra besin ihtiyacına gereksinim duymaması, kirletici ajan olarak boya molekülünü içeren endüstriyel atık suların arıtımında bu biyolojik biyosorbentlerin ucuz bir sorbent olarak kullanımını da kolaylaştırmaktadır.

Dört ayrı özelliğe sahip fungal biyokütellerin iki farklı tekstil boyasını uzaklaştırma kapasiteleri sırası ile, R Blue ve R Orange için, ısı > doğal > alkol > asit ve ısı > alkol > doğal > asit yapısındaki sıra ile değişmektedir. Her iki boya için en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi ısı işleme maruz bırakılan fungal biyokütle ile elde edilmiştir. Biyosorpsiyon işleminde, cansız mikrobiyal hücrelerin kullanımı, daha fazla avantaj sağlamaktadır. Cansız mikorganizma kütleleri, toksik atıklardan etkilenmez, besine gereksinim duymaz ve kolay rejenere edilmektedirler. Çok sayıda adsorpsiyon ve desorpsiyon işleminde tekrar tekrar kullanılmaktadırlar. Ayrıca, cansız biyoküteller kuru halde oda sıcaklığında depolanabilmektedir ve bu yollarda geniş zaman aralığında kullanım avantajını sağlamaktadırlar. Ayrıca, cansız hücreler, canlı ya da hareketli

hücrelere oranla daha fazla adsorpsiyon kapasitesine sahiptirler. Biyokütlelere boya adsorpsiyon mekanizmasında, boya molekülünün kimyasal yapısı (tür, boyut, iyonik yük), biyokütlenin yüzey özellikleri, biyokütlenin hazırlanma şartları ve çevresel şartlar (pH, sıcaklık, iyonik şiddet, çözeltilerde yarışan organik ya da inorganik ligandların bulunması) etkin rol oynamaktadır.

Fungal biyokütlenin R Blue ve R Orange uzaklaştırma hız ve kapasitelerine pH'nın etkisi 1.0-10.0 aralığında araştırıldı. pH 2.0 değerinde, doğal yapıdaki ve ısı, asit ve etanol ile işlem gören fungal biyokütle ile her iki boya için de maksimum adsorpsiyon kapasitesine ulaşılmıştır. Ortam pH'sının artırılması sonucunda boya uzaklaştırma kapasitesinde azalma gözlenmiştir. Boya molekülleri sulu ortamlarda kolaylıkla dissosiyeye olurken ortam pH'sına göre yapısındaki gruplar iyonize hale geçmektedir. Bu yüklü boya gruplarının, biyokütle yüzeyine adsorpsiyonu, öncelikle çözeltilenin pH'sı tarafından etkilenecek şekilde değişen yüzey yüküne göre gerçekleşmektedir. pH'nın azalmasıyla, biyokütlerde zayıf baz grupları, protone olarak net bir pozitif yük kazanmaktadır. Pozitif yüklü bu bölgeler, reaktif boyanın üzerindeki anyonik grupların elektrostatik bağlanması için bölgeler oluşturmaktadır (Aksu ve Dönmez, 2003). Boya molekülü ile biyokütle arayüzeyinde iyonik etkileşimin yanısıra, hidrofobik etkileşimlerin varlığı da biyosorpsiyon kapasitesinin artmasına neden olmaktadır.

T. troglia biyokütlesinin boya uzaklaştırma kapasitesinin, biyokütleye uygulanan ön işlem ve boya molekülünün kimyasal yapısı gibi özelliklerin yanında ortam pH'sı, biyokütle miktarı, adsorpsiyon dengesine ulaşma zamanı ve başlangıç boya konsantrasyonu gibi çevresel şartların bileşimine de bağlı olduğu görülmüştür. Elde

edilen sonuçlar, biyoteknoloji alanında, biyosorpsiyonla atıksulardan boya bileşiklerinin uzaklaştırılması işleminde *T. trogii* kullanımının olumlu sonuçlar verdiğini göstermiştir. Boya biyosorpsiyonu için beyaz çürükçül fungusların kullanımı, düşük üretim maliyeti, kısa sürede oldukça büyük miktarlarda biyokütlenin üretilebilmesi, yüksek adsorpsiyon kapasitesi ve atık madde oluşturmaması gibi üstünlükleriyle, umut verici görülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Aksu, Z. ve Yener, J., Waste Manage **21** 695 (2001).
2. Aksu, Z. ve Dönmez, G., Chemosphere **50** 1075 (2003).
3. Aksu, Z. ve Gönen, F., Process Biochem. **39** 599 (2004).
4. Aksu, Z. ve Kabasakal, E., Sep. Purif. Technol. **35** 223 (2004).
5. Aksu, Z., Proc. Biochem. **40**, 997(2005).
6. Arıca, M.Y., Arpa, Ç., Kaya, B., Bektaş, S., Denizli, A., Genç, Ö., Biores. Technol. **89**, 145(2003).
7. Arıca, M.Y., Bayramoğlu, G., Colloidsand Surfaces A: Physicochem Eng. Aspects **253**, 203 (2005).
8. Banat, I.M., Nigam, P., Singh D. ve Marchant, R., Bioresour. Technol. **58**, 217 (1996).
9. Basibuyuk M. ve Forster C.F., Process Biochem. **38**, 1311 (2003).
10. Bayramoğlu, G., Çelik, G., Yalçın, E., Yılmaz, M., Arıca, M.Y., Journal of Hazardous Materials B, **119**, 219 (2005).
11. Bayramoğlu, G., Yılmaz, M. and Arıca, M.Y., Biochem. Engineering J. **13**, 35(2003).
12. Bustard M., McMullan G. ve McHale A.P., Bioprocess Eng. **19**, 427(1998).
13. Calace N., Nardi E., Petronio B.M. ve Pietroletti M., Environ. Pollut. **118**, 315 (2002).
14. Ciardelli, G., Corsi, L., Marucci, M., Resour. Conserv. Recycl. **31**, 189(2000).
15. Chu, H.C. ve Chen, K.M., Process Biochem. **37**, 595 (2002).

16. Clarke EA, Anliker R. Organic dyes and pigments. In: Handbook of environmental chemistry, anthropogenic compounds, vol. 3, part A. New York: Springer-Verlag, 1980. p. 181–215.
17. Forgacs, E., Cserhati, T., Oros, G., Environ. Inter. **30**, 953(2004).
18. Fu, Y. and Viraraghavan, T., Water Quality Res. J. Can. **35**, 95(2000).
19. Fu, Y. ve Viraraghavan, T., Bioresour. Technol. **79** 251 (2001).
20. Fu, Y. ve Viraraghavan, T., Advances Environ. Res. **7** 239 (2002).
21. Gadd, G.M., New Phytol. **124**, 25(1993)
22. Gallagher, K.A., Healy, M.G., Allen, S.J., In: Wise DL. (Ed.). Global Environmental Biotechnology. UK: Elsevier; 27,(1997).Lee, C.K., Low, K.S. ve Gan, P.Y., Process Biochem. **34**, 451 (1999).
23. Gong, R., Ding, Y., Li, M., Yang, C., Liu, H., Sun, Y., Dyes and Pigments **64**, 187(2005).
24. Gupta, G.S., Prasad, G. ve Singh, V.H., Water Res. **24**, 45 (1990).Mishra, G. ve Tripathy, M., Colourage **40**, 35 (1993).
25. Ho, Y.S. ve McKay, G., J. Environ. Sci. Health **A34** 1179 (1999).
26. Ho, Y.S., Chiang, T.Z., Hsueh Y.M., Proc. Biochem. **40**, 119(2005).
27. Hu, T.L., Water Sci. Technol. **26** (1992), pp. 357–366
28. Jianlong, W., Yi, Q., Horan, N. ve Stentiford, E., Bioresour. Technol. **75** (2000), pp. 157–161
29. Juang R.-S., Tseng R.-L., Wu F.-C. ve Lee S.-H., J. Chem. Technol. Biotechnol. **70** (1997), pp. 391–399

30. Kapdan, I.K., Kargi F., McMullan G. ve Marchant, R., *Enzyme Microbial Technol.* **26**, 381 (2000).
31. Karcher S., Kornmuller A. ve Jekel M., *Water Sci. Technol.* **40** (1999), pp. 425–433.
32. Kargı, F., Özmihci, S., *Enzyme and Microb. Technol.* **35**, 267(2004).
33. Kocaer, F.O., Alkan, U., *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi* **7**, 47(2002).
34. Lu, Y., Wilkins, E., *J. of Hazardous Materials* **49**, 165(1996).
35. Malik, P.K., Saha, S.K., *Sep. Purif. Technol.* **31**, 241(2003).
36. Mittal, A.K. ve Gupta, S.K., *Water Sci. Technol.* **34** 157 (1996).
37. Mou, D.G., Lim, K.K. ve Shen, H.P., *Biotechnol. Adv.* **9**, 613 (1991).
38. O'Mahony T., Guibal E. ve Tobin J.M., *Enzyme Microbial. Technol.* **31** (2002), pp. 456–463
39. Otero M., Rozada F., Calvo L.F., Garcia A.I. ve Moran A., *Biochem. Eng. J.* **15**, 59 (2003).
40. Patterson JW. *Wastewater treatment technology.* USA: Ann Arbor Science Pub. Inc.; 1977.
41. Pelegrini, R., Peralto-Zamora, P., de Andrade, A.R., Reyers, J. and Duran, N., *App. Catal B-Environ.* **22**, 83(1999).
42. Polman J.K. ve Breckenridge, C.R., *Text. Chem. Colour.* **28**, 31 (1996).
43. Pradnya, K. and Seema, S., *Environment Sci and Eng and Toxic and Hazardous Subs Contr,* **30**, 1817(1995).
44. Puranik P.R. ve Paknikar K.M., *J. Biotechnol.* **55**, 113(1997).

45. Rao J.R. ve Viraraghavan T., *Bioresour. Technol.* **85**, 165 (2002).
46. Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. ve Nigam, P., *Bioresour. Technol.* **77** (2001), pp. 247–255.
47. Robles, A., Lucas, R., Cienfuegos, G.A. and Galvez, A., *Enzyme and Microb. Technol.* **26**, 484(2000).
48. Sağlam, N., Say, R., Denizli, A., Patır, S., Arica, M.Y., *Proc. Biochem.* **34**, 725(1999).
49. Say R., Denizli A. ve Arica M.Y., *Bioresour. Technol.* **76** (2001), pp. 67–70
50. Seshadri, S., Bishop, P.L. and Agha, A.M., *Waste Manag.* **14**, 127(1994).
51. Slokar, Y.M. ve Le, A.M., *Dyes Pigments* **37** 335 (1997).
52. Sotelo J.L., Ovejero G., Delgado J.A. ve Martínez I., *Chem. Eng. J.* **87**, 111 (2002).
53. Sumathi S. ve Manju B.S., *Enzyme Microbial. Technol.* **27**, 347 (2000).
54. Tatarko M. ve Bumpus J.A., *Water Res.* **32**, 1713 (1998).
55. Volesky, B., *Hydrometallurgy* **59**, 203 (2001).
56. Xu, Y. and Lebrun, R.E., *Separ. Sci. Technol.* **34**, 2501(1999).
57. Zhou J.L. ve Banks C.J., *Chemosphere* **27**, 607 (1993).
58. Zollinger H. *Azo dyes and pigments. Colour chemistry-synthesis, properties and applications of organic dyes and pigments.* New York: VCH, 92(1987).