

**TEKSTİL ENDÜSTRİSİ BOYAR MADDELERİNDEN LEVAFIX  
BRILLANT BLUE EB VE CIBACRON BLUE CR’NİN AKTİF VE  
İNAKTİF *Aspergillus oryzae*’YE ADSORPSİYONUNUN  
ARAŞTIRILMASI**

**HATİCE ATAÇAĞ ERKURT**

**Mersin Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü**

**Çevre Mühendisliği  
Ana Bilim Dalı**

**DOKTORA TEZİ**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Mustafa ÖZYURT**

**MERSİN  
Mayıs - 2006**

## ÖZ

Tekstil fabrikalarında yaygın olarak kullanılan Levafix Brilliant Blue EB (LB) ve Cibacron Blue CR (CB)'nin aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* hücreleri ile sıvı fazda giderim koşullarının araştırılması, adsorpsiyon izoterm modelleri kullanılarak aktif ve inaktif hücrelerle sağlanan renk giderimi bulgularının karşılaştırılması ve renk giderim mekanizmasında adsorpsiyonun etkinliğinin araştırılması hedeflenmiştir.

Aktif *A. oryzae* ile LB ve CB'nin giderimine başlangıç pH'sı, sıcaklık, boya derişimi, spor miktarı, çalkalama hızı, karbon ve azot kaynağı derişimleri ve pelet yaşının etkisi incelenmiş; optimum başlangıç pH'sı 5,00, sıcaklık 30 °C, başlangıç boyar madde derişimi yaklaşık 100 mg/L, aşılana spor miktarı  $5 \times 10^7$  adet/mL, çalkalama hızı 150 rpm, karbon ve azot kaynağı derişimleri sırasıyla 10 g/L ve 1 g/L olarak belirlenmiş; LB ve CB pelet oluşumu sırasında daha yüksek verimle giderildiğinden spor aşılanamasının pelet kullanımına göre daha uygun bir yöntem olduğu saptanmıştır. Pelet kullanımının yüksek derişimde boyar maddenin kademeli gideriminde uygun bir yöntem olduğu belirlenmiştir. İnaktif *A. oryzae* ile LB ve CB giderimine başlangıç pH'sı, sıcaklık, başlangıç boyar madde derişimi, biyosorbent derişimi ve çalkalama hızının etkisi incelenmiş; optimum başlangıç pH'sı 2,00, sıcaklık 30 °C, başlangıç boyar madde derişimi yaklaşık 80 mg/L, biyosorbent derişimi 1 g/L ve çalkalama hızı 150 rpm olarak belirlenmiştir. İnaktif *A. oryzae* ile LB ve CB gideriminde, farklı sıcaklıklarda elde edilen denge verilerine Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri uygulanmış; denge verilerinin Langmuir modeline uyum sağladığı saptanmıştır. İnaktif *A. oryzae*'nin maksimum tek tabaka LB ve CB adsorpsiyon kapasitelerinin sırası ile 65,79 mg/g ve 63,69 mg/g olduğu belirlenmiştir. Optimum koşullarda, aktif *A. oryzae*'nin LB ve CB için tek tabaka adsorpsiyon kapasitesinin sırası ile 61,35 mg/g ve 58,82 mg/g olduğu saptanmıştır. Aktif ve inaktif *A. oryzae* ile LB ve CB gideriminde adsorpsiyon tipine karar vermek ve adsorbentin rejenere edilebilirliğini belirlemek amacı ile desorpsiyon çalışmaları yapılmış; maksimum desorpsiyon yüzdesi 0,025 N NaOH ile saptanmıştır. Çalışma

bulguları, aktif ve inaktif *A. oryzae* ile renk giderimindeki temel mekanizmanın “fiziksel adsorpsiyon” olduğunu göstermiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Aktif (canlı), inaktif (ölü), *Aspergillus oryzae*, Levafix Brillant Blue EB, Cibacron Blue CR, biyosorpsiyon, izoterm, desorpsiyon.

## ABSTRACT

In this work, it was aimed to investigate uptake of Levafix Brilliant Blue EB (LB) and Cibacron Blue CR (CB) those are used widespread in textile industries, by both actively growing and inactivated *Aspergillus oryzae* cells under different incubation conditions; to compare dye uptake data of actively growing and inactive *A. oryzae* by using adsorption isotherm models and to investigate the function of adsorption in decolorization mechanism.

Effects of medium initial pH, temperature, dye concentration, spore amount, shaking rate, concentrations of carbon and nitrogen sources and pellet age on LB and CB uptake of actively growing *A. oryzae* were examined. The optimum uptake conditions were determined to be, initial pH 5.00, temperature 30 °C, initial dye concentration approximately 100 mg/L, inoculated spore amount  $5 \times 10^7$  unit/mL, shaking rate 150 rpm, concentrations of carbon and nitrogen sources 10 g/L and 1 g/L respectively; as the uptake of LB and CB was found to be higher during pellet formation, spore inoculation instead of using pellets was determined to be more appropriate technique for dye uptake studies. It was found that, pellet usage can be an appropriate technique for repeated graded uptake of high concentrations of dyes. Effects of medium initial pH, temperature, dye concentration, biosorbent concentration and shaking rate on biosorption of LB and CB by inactivated *A. oryzae*. The optimum conditions were determined to be, initial pH 2.00, temperature 30 °C, initial dye concentration approximately 80 mg/L, biosorbent concentration 1 g/L and shaking rate 150 rpm. The Langmuir and Freundlich isotherm models were applied to the experimental data found at different temperatures; equilibrium data fitted well to Langmuir model. The maximum monolayer LB and CB adsorption capacities of inactivated *A. oryzae* were found to be 65.79 mg/g ve 63.69 mg/g respectively. Under optimum conditions, maximum monolayer LB and CB adsorption capacities of actively growing *A. oryzae* were found to be 61.35 mg/g ve 58.82 mg/g respectively. In order to determine the adsorption type and for the regeneration of adsorbent, desorption studies were carried out. Maximum desorption percentage was established by 0.025 N NaOH. Findings of this study, showed that the

basic mechanism of colour removal by actively growing and inactivated *A. oryzae* is “physical adsorption”.

**Key Words:** Active (living), inactive (non-living), *Aspergillus oryzae*, Levafix Brilliant Blue EB, Cibacron Blue CR, biosorption, isotherm, desorption.

## TEŞEKKÜR

Doktora alışmam boyunca sağladıkları bilimsel katkı, titizlik, sabır ve anlayışları için tez danışmanın Sayın Do. Dr. Mustafa ÖZYURT ve ikinci tez danışmanın Sayın Prof. Dr. Ayla ÖZER'e,

Tez komitemde çalışmalarımı titizlikle inceleyen ve katkılarda bulunan Bölüm Başkanım Sayın Prof. Dr. Halil KUMBUR ve Sayın Prof. Dr. H. İbrahim EKİZ'e,

Laboratuar alışmaları ve tez yazımı sırasında yardımlarını esirgemediği ve çalışmalarım süresince her zaman özverili ve anlayışlı olduğu için sevgili eşim Sayın Arş. Gör. Emrah A. ERKURT'a,

Yardımlarını esirgemeyen Sayın Arş. Gör. Dr. M.Ali MAZMANCI'ya ve Sayın Arş. Gör. Gönül AKKAYA'ya,

Maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan aileme,

Sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Bu alışma Mersin Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir (Proje No: BAP-FBE M (HA) 2003-1DR).

## İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZ</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	iii
<b>TEŞEKKÜR</b>	v
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b>	vi
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	x
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	xii
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR</b>	xvii
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI</b>	4
2.1. BOYAR MADDELER	4
2.2. RENK GİDERİM ÇALIŞMALARI	8
2.2.1. Kimyasal Yöntemler	8
2.2.1.1. Oksidatif prosesler	8
2.2.1.2. Kimyasal flokleştirme ve çöktürme yöntemi	10
2.2.2. Fiziksel Arıtım	11
2.2.2.1. Membran filtrasyon	11
2.2.2.2. İyon değiştiriciler	11
2.2.2.3. Radyasyon	12
2.2.2.4. Adsorpsiyon	12
2.2.3. Biyolojik Arıtım	16
2.2.3.1. Biyosorpsiyon	17
2.2.3.2. Biyoakümülyasyon	21
2.2.3.3. Biyolojik parçalanma (Enzimatik renk giderimi)	22
<b>3. MATERYAL VE METOT</b>	27
3.1. MATERYAL	27
3.1.1. Mikroorganizma	27
3.1.2. Boyar Madde	30
3.2. METOT	31

3.2.1. Materyallerin Renk Giderim Çalışmalarına Hazırlanması	31
3.2.1.1. Mikroorganizmanın renk giderim çalışmalarına hazırlanması	31
3.2.1.2. Boyar maddelerin renk giderim çalışmalarına hazırlanması	33
3.2.2. LB ve CB Boyalarının Aktif <i>Aspergillus oryzae</i> ile Gideriminde Optimum Ortam Koşullarının Belirlenmesi	33
3.2.2.1. Başlangıç pH'sının etkisi	33
3.2.2.2. Sıcaklığın etkisi	34
3.2.2.3. Başlangıç boyar madde derişiminin etkisi	34
3.2.2.4. Başlangıç spor derişiminin etkisi	34
3.2.2.5. Çalkalama hızının etkisi	34
3.2.2.6. Ortam bileşenlerinin etkisi	35
3.2.2.7. Biyokütle yaşının etkisi	35
3.2.3. LB ve CB Boyalarının İnaktif <i>Aspergillus oryzae</i> ile Gideriminde Optimum Ortam Koşullarının Belirlenmesi	35
3.2.3.1. pH'nın etkisi	36
3.2.3.2. Sıcaklığın etkisi	36
3.2.3.3. Başlangıç boyar madde derişiminin etkisi	36
3.2.3.4. Çalkalama hızının etkisi	36
3.2.3.5. Biyokütle (adsorbent) derişiminin etkisi	37
3.2.4. LB ve CB Boyalarının Aktif <i>A. oryzae</i> ile Gideriminde Tekrar Kullanımının Belirlenmesi	37
3.2.5. Denge Çalışmaları	37
3.2.6. Desorpsiyon Çalışmaları	38
3.2.6.1. LB ve CB boyalarının Aktif <i>A. oryzae</i> 'den desorpsiyonunun incelenmesi	38
3.2.6.2. LB ve CB boyalarının inaktif <i>A. oryzae</i> 'den desorpsiyonunun incelenmesi	38
3.2.7. Analiz Yöntemleri	39
3.2.7.1. Boyar madde derişiminin tayini	39
3.2.7.2. Kuru misel ağırlığı (KMA) tayini	40



3.2.7.3. pH analizi	40
3.2.8. Verilerin Değerlendirilmesi	40
3.2.8.1. Optimum koşulların belirlenmesi	40
3.2.8.2. LB ve CB'nin aktif <i>A. oryzae</i> ile gideriminde tekrar kullanımının belirlenmesi	41
3.2.8.3. İzotermilerin oluşturulması	42
3.2.8.4. Serbest enerji değişiminin hesaplanması	42
3.2.8.5. Desorpsiyon verilerinin değerlendirilmesi	43
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA</b>	<b>44</b>
4.1. LEVAFIX BRILLANT BLUE EB (LB) VE CIBACRON BLUE CR (CB) BOYALARININ AKTİF <i>A. oryzae</i> İLE GİDERİMİNDE OPTİMUM ORTAM KOŞULLARININ BELİRLENMESİ	44
4.1.1. Başlangıç pH'sının Etkisi	44
4.1.2. Sıcaklığın Etkisi	51
4.1.3. Başlangıç Boyar Madde Derişiminin Etkisi	57
4.1.4. Spor Miktarının Etkisi	66
4.1.5. Çalkalama Hızının Etkisi	70
4.1.6. Glikoz Derişiminin Etkisi	77
4.1.7. Amonyum Dihidrojen Fosfat Derişiminin Etkisi	83
4.1.8. Pelet Yaşının Etkisi	89
4.2. LEVAFIX BRILLANT BLUE EB VE CIBACRON BLUE CR BOYALARININ İNAKTİF <i>A. oryzae</i> İLE GİDERİMİNDE OPTİMUM ORTAM KOŞULLARININ BELİRLENMESİ	93
4.2.1. Başlangıç pH'sının Etkisi	93
4.2.2. Sıcaklığın Etkisi	98
4.2.3. Başlangıç Boyar Madde Derişiminin Etkisi	101
4.2.4. Biyosorbent Derişiminin Etkisi	104
4.2.5. Çalkalama Hızının Etkisi	109
4.3. LEVAFIX BRILLANT BLUE EB VE CIBACRON BLUE CR BOYALARININ AKTİF <i>A. oryzae</i> İLE GİDERİMİNDE TEKRAR KULLANIMININ BELİRLENMESİ	112

4.3.1. LB'nin Aktif <i>A. oryzae</i> ile Gideriminde Tekrar Kullanımının Belirlenmesi	112
4.3.2. CB'nin Aktif <i>A. oryzae</i> ile Gideriminde Tekrar Kullanımının Belirlenmesi	114
4.4. DENGE MODELLEMESİ	117
4.4.1. LB'nin İnaktif <i>A. oryzae</i> 'ye Adsorpsiyonunda Sıcaklığa Göre Adsorpsiyon Dengesinin Modellenmesi	117
4.4.2. CB'nin İnaktif <i>A. oryzae</i> 'ye Adsorpsiyonunda Sıcaklığa Göre Adsorpsiyon Dengesinin Modellenmesi	120
4.4.3. LB ve CB'nin Aktif ve İnaktif <i>A. oryzae</i> 'ye Adsorpsiyonunda İzotermilerin Karşılaştırılması	124
4.4.4. Serbest Enerji Değişiminin Hesaplanması	131
4.5. DESORPSİYON ÇALIŞMALARI	132
4.5.1. LB ve CB Boyalarının Aktif <i>A. oryzae</i> 'den Desorpsiyonunun İncelenmesi	132
4.5.2. LB ve CB Boyalarının İnaktif <i>A. oryzae</i> 'den Desorpsiyonunun İncelenmesi	136
4.6. LB VE CB BOYALARININ AKTİF VE İNAKTİF <i>A. oryzae</i> İLE GİDERİM MEKANİZMASINDA ADSORPSİYONUN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI	138
4.6.1. LB ve CB Boyalarının Aktif <i>A. oryzae</i> ile Giderim Mekanizmasında Adsorpsiyonun Etkinliğinin Araştırılması	138
4.6.2. LB ve CB Boyalarının İnaktif <i>A. oryzae</i> ile Giderim Mekanizmasında Adsorpsiyonun Etkinliğinin Araştırılması	141
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b>	142
<b>KAYNAKLAR</b>	146
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	163

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3.1. <i>A. oryzae</i> 'nin E. Cohn (1884)'a göre filogenetik taksonomisi	28
Çizelge 3.2. Besin ortamı içeriği	32
Çizelge 4.1. İnkübasyon sıcaklıkları farklı LB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA değerleri ve renk giderim verimleri	53
Çizelge 4.2. İnkübasyon sıcaklıkları farklı CB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA değerleri ve renk giderim verimleri.	56
Çizelge 4.3. Farklı başlangıç LB ve CB derişimlerinde ( $C_0$ ), denge anındaki giderilen boyar madde derişimi ( $C_{g,den}$ ), biyokütle miktarı, birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının ( $q_d$ ), mikroorganizma spesifik üreme hızı ( $\mu$ ), renk giderim verimi (%) ve inkübasyon sonundaki KMA ( $KMA_{max}$ ) değerleri.	63
Çizelge 4.4. Başlangıç spor miktarları farklı olan LB giderim ortamlarında 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde derişimi ( $C_g$ ), Kuru Misel Ağırlığı (KMA) ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları ( $q$ ).	67
Çizelge 4.5. Başlangıç spor miktarları farklı olan CB giderim ortamlarında 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde derişimi ( $C_g$ ), Kuru Misel Ağırlığı (KMA) ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları ( $q$ ).	68
Çizelge 4.6. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen LB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA miktarı ve renk giderim verimi.	72
Çizelge 4.7. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen CB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA miktarı ve renk giderim verimi.	75

Çizelge 4.8. Farklı derişimlerde glikoz içeren renk giderim ortamlarında ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi.	82
Çizelge 4.9. Farklı derişimlerde amonyum dihidrojen fosfat içeren renk giderim ortamlarında ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi.	87
Çizelge 4.10. LB'nin inaktif <i>A. oryzae</i> 'ye adsorpsiyonunda Langmuir ve Freunlich izoterm sabitlerinin farklı sıcaklıklardaki karşılaştırması	119
Çizelge 4.11. İnaktif <i>A. oryzae</i> ile LB gideriminde farklı sıcaklıklardaki $R_L$ değerleri	120
Çizelge 4.12. CB'nin inaktif <i>A. oryzae</i> 'ye adsorpsiyonunda Langmuir ve Freunlich izoterm sabitlerinin farklı sıcaklıklardaki karşılaştırması	122
Çizelge 4.13. İnaktif <i>A. oryzae</i> ile CB gideriminde farklı sıcaklıklardaki $R_L$ değerleri	124
Çizelge 4.14. LB ve CB'nin Aktif ve İnaktif <i>Aspergillus oryzae</i> 'ye adsorpsiyonunda Langmuir ve Freunlich izoterm sabitleri	128
Çizelge 4.15. Aktif ve inaktif <i>A. oryzae</i> ile LB ve CB gideriminde 30 °C'deki $R_L$ değerleri	129
Çizelge 4.16. Literatürde yer alan, farklı aktif ve inaktif biyosorbentlerin, farklı boyar maddeler için tek tabaka boya alım kapasiteleri.	130
Çizelge 4.17. Aktif <i>A. oryzae</i> ile LB ve CB boyalarının giderimi için $K_c$ ve $\Delta G^0$ değerleri	131
Çizelge 4.18. İnaktif <i>A. oryzae</i> ile LB ve CB boyalarının giderimi için $K_c$ ve $\Delta G^0$ değerleri	132

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Reaktif boyar maddelerin karakteristik yapısı.	7
Şekil 3.1. <i>Aspergillus</i> genusuna ait türlerin eşeysiz üreme evrelerinin genel şematik gösterimi (a) ve bu yapıların genel şematik görünümü (b).	29
Şekil 3.2. <i>Aspergillus sp.</i> hücre duvarı yapısında bulunan kitinin kimyasal yapısı.	29
Şekil 3.3. <i>Aspergillus sp.</i> hücre duvarı yapısında bulunan $\beta$ -Glukan'ın kimyasal yapısı.	30
Şekil 3.4. LB (Reactive Blue 29) Kimyasal Yapısı.	30
Şekil 3.5. CB (Reactive Blue 235) Kimyasal Yapısı.	31
Şekil 4.1. Farklı başlangıç pH değerlerinde LB derişimi, KMA, pH ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi.	46
Şekil 4.2. Farklı başlangıç pH değerlerinde CB derişimi, KMA, pH ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi.	48
Şekil 4.3. İnkübasyon sıcaklıkları farklı LB giderim ortamlarında giderilen boyar madde derişimi (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi.	52
Şekil 4.4. İnkübasyon sıcaklıkları farklı CB giderim ortamlarında giderilen boyar madde derişimi (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi (b).	55
Şekil 4.5. Farklı başlangıç LB derişimlerinde giderilen boyar madde miktarı (a) ve <i>Aspergillus oryzae</i> birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi.	59
Şekil 4.6. Farklı başlangıç CB derişimlerinde giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim <i>Aspergillus oryzae</i> kütlelerinde giderilen boya miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi.	61
Şekil 4.7. Başlangıç spor miktarına göre KMA değişimi ve LB ve CB giderim verimi.	69

- Şekil 4.8. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen LB giderim ortamlarında giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi. 71
- Şekil 4.9. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen CB giderim ortamlarında giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi. 74
- Şekil 4.10. Başlangıç glikoz derişiminin (a) adsorplanan LB derişimi (b) mikroorganizma adsorpsiyon kapasitesi üzerine etkisi. 79
- Şekil 4.11. Başlangıç glikoz derişiminin (a) adsorplanan CB derişimi (b) mikroorganizma adsorpsiyon kapasitesi üzerine etkisi. 81
- Şekil 4.12. Başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri farklı LB giderim ortamlarında zamana bağlı giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar miktarının (b). 85
- Şekil 4.13. Başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri farklı CB giderim ortamlarında zamana bağlı giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar miktarının (b). 86
- Şekil 4.14. Farklı yaşlardaki peletlerin bulunduğu ortamlara LB ilavesinden 24 saat sonra (pelet) ve LB içeren ortamlara spor aşılmasından belirli süreler sonra (spor) giderilen boyar madde derişimi ve KMA değişimi. 90
- Şekil 4.15. Farklı yaşlardaki peletlerin bulunduğu ortamlara CB ilavesinden 24 saat sonra ve CB içeren ortamlara spor aşılmasından belirli süreler sonra giderilen boyar madde derişimi ve KMA değişimi 91
- Şekil 4.16. *Aspergillus oryzae* misel yaşının birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen CB ve LB derişimi üzerine etkisi. 93
- Şekil 4.17. Ortam pH'sının inaktif mikroorganizma LB giderim kapasitesi üzerine etkisi. 94

Şekil 4.18. Ortam pH'sının inaktif mikroorganizma CB giderim kapasitesi üzerine etkisi.	95
Şekil 4.19. Farklı pH'larda 60 dakikalık biyosorpsiyon sonundaki LB ve CB için denge renk giderim kapasiteleri.	95
Şekil 4.20. Biyosorpsiyon ortam sıcaklığının inaktif mikroorganizma LB giderim kapasitesi üzerine etkisi.	98
Şekil 4.21. Biyosorpsiyon ortam sıcaklığının inaktif mikroorganizma CB giderim kapasitesi üzerine etkisi.	99
Şekil 4.22. Farklı sıcaklıklarda 60 dakikalık inkübasyon sonundaki LB ve CB için denge renk giderim kapasitesi.	100
Şekil 4.23. Başlangıç LB derişiminin inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi üzerine etkisi.	102
Şekil 4.24. Başlangıç CB derişiminin inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi üzerine etkisi.	103
Şekil 4.25. Başlangıç boyar madde derişimleri farklı ortamlarda 60 dakikalık temas süresi sonundaki LBve CB için mikroorganizma denge boya alım kapasitesi ve renk giderim verimi.	104
Şekil 4.26 Biyosorbent derişimi farklı ortamlarda LB boyar maddesi için inaktif mikroorganizmanın biyosorpsiyon kapasitesi.	105
Şekil 4.27. LB'nin <i>A. oryzae</i> 'ye adsorpsiyonuna adsorbent derişiminin etkisi.	106
Şekil 4.28. Biyosorbent derişimi farklı ortamlarda CB boyar maddesi için inaktif mikroorganizmanın biyosorpsiyon kapasitesi.	107
Şekil 4.29. CB'nin <i>A. oryzae</i> 'ye adsorpsiyonuna adsorbent derişiminin etkisi.	108
Şekil 4.30. Farklı çalkalama hızlarında LB boyar maddesi için inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi.	109
Şekil 4.31. Farklı çalkalama hızlarında CB boyar maddesi için inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi.	110
Şekil. 4.32. Farklı çalkalama hızlarında LBve CB için 60 dakikalık biyosorpsiyon sonundaki mikroorganizmanın denge biyosorpsiyon kapasitesi.	111

- Şekil 4.33. 96 saatlik *A. oryzae* peletlerinin bulunduğu ortamlara 24 saatlik periyotlarda 5 kademedeki LB ilavesi ile ortamdaki boyar madde miktarının değişimi. 113
- Şekil 4.34. 96 saatlik *A. oryzae* peletlerinin bulunduğu ortamlara 24 saatlik periyotlarda 5 kademedeki CB ilavesi ile ortamdaki boyar madde derişiminin değişimi. 115
- Şekil. 4.35. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye LB'nin biyosorpsiyonunda deneysel denge izotermi. 118
- Şekil 4.36. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye LB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi. 118
- Şekil. 4.37. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye CB'nin biyosorpsiyonunda deneysel denge izotermi. 121
- Şekil 4.38. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye CB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi. 121
- Şekil 4.39. Aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* ile 30 °C'de LB gideriminde deneysel denge izotermilerinin karşılaştırması. 125
- Şekil 4.40. Aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* ile 30 °C'de CB gideriminde deneysel denge izotermilerinin karşılaştırması. 126
- Şekil 4.41. Aktif *Aspergillus oryzae*'ye LB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi. 127
- Şekil 4.42. Aktif *Aspergillus oryzae*'ye CB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi. 127
- Şekil 4.43. *Aspergillus oryzae* aktif hücreleri ile LB ve CB boyar maddelerinin adsorpsiyonundan sonra 0.1 N HCl, farklı oranlarda hazırlanmış organik çözücüler ve Kloroform-Metanol-Su karışımı ile homojen edilmiş ve edilmemiş peletlerden sağlanan desorpsiyon yüzdeleri. 134



Şekil 4.44. *Aspergillus oryzae* aktif hücreleri ile LB ve CB boyar maddelerinin adsorpsiyonundan sonra farklı derişimlerde NaOH kullanılarak homojen edilmiş ve homojen edilmemiş peletlerden sağlanan desorpsiyon yüzdeleri. 135

Şekil 4.45. *Aspergillus oryzae* inaktif hücreleri ile LB ve CB boyar maddelerinin adsorpsiyonundan sonra 0.1 N HCl, farklı derişimlerde NaOH ve % 50'lik organik çözücüler kullanılarak sağlanan desorpsiyon verimi. 137

## SİMGELER VE KISALTMALAR

b	Biyosorbent yüzeyindeki akif merkezlerin afinitesiyle ilgili sabit (L/mg)
CB	Cibacron Blue CR (Reactive Blue 235)
C <sub>0</sub>	Başlangıç boyar madde derişimi (mg/L)
C <sub>t</sub>	Herhangi bir t anında boyar madde derişimi (mg/L)
C <sub>g</sub>	Giderilen boyar madde derişimi (mg/L)
C <sub>gd</sub>	Dengede giderilen boyar madde derişimi (mg/L)
C <sub>ad</sub>	Adsorplanan boyar madde derişimi (mg/L)
C <sub>d</sub>	Dengede çözeltide adsorplanmadan kalan boyar madde derişimi (mg/L)
C <sub>des</sub>	Desorpsiyon işleminde sonunda ortamda saptanan boyar madde derişimi (mg/L)
C <sub>dsu</sub>	Boya adsorplamış stok mikroorganizma çözeltisinden desorpsiyon ortamına gelen boya derişimi (mg/L)
Ç.H.	Çalkalama hızı (rpm)
ΔG <sup>0</sup>	Standart serbest enerji değişimi (kJ/mol)
K <sub>c</sub>	Reaksiyon denge sabiti
K <sub>F</sub>	Adsorpsiyon kapasitesi
KMA	Kuru misel ağırlığı (g/L)
KMA <sub>t</sub>	Herhangi bir t anında kuru misel ağırlığı (g/L)
LB	LB (Reactive Blue 29)
n	Adsorpsiyon şiddeti ile ilgili sabit
q	Herhangi bir t anında birim mikroorganizma kütlesinde adsorplanan boya miktarı (biyosorpsiyon kapasitesi) (mg/g)
q <sub>d</sub>	Dengede birim mikroorganizma kütlesinde adsorplanan boya miktarı (denge biyosorpsiyon kapasitesi) (mg/g)
Q <sup>0</sup>	Maksimum tek tabaka adsorpsiyon kapasitesi (mg/g)
R	Evrensel gaz sabiti (8,314 J/mol.K)
R <sup>2</sup>	Korelasyon katsayısı
R <sub>L</sub>	Boyutsuz ayırma faktörü
T	Sıcaklık (°C/K)
X <sub>0</sub>	Biyosorbent derişimi (g/L)
μ	Mikroorganizma spesifik büyüme hızı (saat <sup>-1</sup> )

## 1. GİRİŞ

Tekstil ve boyar madde üretim endüstrilerinden çıkan ve boyar madde içeren atık sular, atılması en güç atık sulardan biri olduğu belirtilmekte; bunun sebebi boyar maddelerin genellikle sentetik kaynaklı ve kompleks aromatik moleküler yapıya sahip olmaları ve bu yapıların boyar maddeleri daha kararlı ve biyolojik parçalanmaya karşı dirençli hale getirmesi olarak açıklanmaktadır [1]. Tekstil ve boyama endüstrilerinde sentetik boyaların kullanımı bu boyaların sentezinin kolay ve ucuz olması, oldukça dayanıklı ve doğal boyalarla karşılaştırıldığında renklerinin oldukça çeşitli olmaları nedeniyle giderek artmaktadır [2]. Ticari boyar maddelerin renkleri, içerdikleri kompleks kromofor sisteminden kaynaklanmaktadır. Bu boyar maddelerin, güneş ışığına ve yıkama proseslerine oldukça dayanıklı oldukları ve ayrıca mikrobiyal parçalanmaya karşı direnç gösterdikleri belirtilmektedir [3]. Her yıl dünyada 10 000 farklı boyar madde üretilmekte ve boyar madde ve matbaacılık endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu boyar maddelerin yaklaşık %10'unun endüstriyel atık sularla atıldığı belirtilmiştir [4].

Ticari boyar maddeler anyonik (direk, asid, reaktif boyar maddeler), katyonik (bazik boyar maddeler) ve non-iyonik (dispers boyar maddeler) olarak sınıflandırılmaktadır [1]. Anyonik ve non-iyonik boyar maddelerdeki kromofor yapılar genellikle azo ya da antrakınon gruplardır [1]. Antrakınon boyar maddelerin, karbonil boyar maddelerin temel yapısına sahip antrakınon türevleri oldukları belirtilmiştir [5]. Antrakınon boyar maddeleri birleşik aromatik yapılarından dolayı, parçalanmaya karşı daha dirençlidirler ve dolayısıyla atıksuda daha uzun süre renkli olarak kalabilmektedirler [6]. Reaktif boyar maddeler, taşıdıkları reaktif grupların tekstil liflerine kovalent bağ oluşturarak bağlanabildiğinden tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Reaktif gruplar boyar maddenin lif ile etkileşimini kolaylaştırdığından boyama işlemi için daha az enerji gerekeceği belirtilmektedir [7].

Atıksudaki renk, gözle görülebilir olduğundan sucul ortamlarda olumsuz bir görünüm yarattığı, suyun geçirgenliğini ve gaz çözünürlüğünü etkilediği belirtilmektedir. Alıcı ortamlarda boyar madde konsantrasyonuna bağlı olarak

nehirlerdeki rengin giderek artması nedeniyle nehirlerin ışık geçirgenliği azalmaktadır. Çünkü boyar maddeler 400–700 nm arasında görünür ışığı absorbe ederek alıcı su ortamlarındaki primer üreticilerin fotosentezini engellemekte ve primer üreticilerin yok olmasına neden olmaktadır. Bunun sonucunda nehirlerdeki ekosistem ciddi şekilde etkilenmektedir [8]. Literatürde karsinojenik ve toksik etkilerinden dolayı da canlılar üzerinde olumsuz etkilerinin olduğu vurgulanmaktadır [9–12].

Biyolojik parçalanabilirlikleri düşük olduğundan boyar madde içeren atıksuların arıtımında geleneksel biyolojik arıtım prosesleri yetersiz kalmaktadır. Boyalı atıksular genellikle fiziksel ya da kimyasal arıtım prosesleri ile arıtılabilmektedir [8]. Ancak bu yöntemlerin, küçük hacimli atıksularda etkili olabildiği belirtilmektedir [13]. Adsorpsiyon, atıksulardan renk gideriminde etkili bir işlem olarak görülmektedir. Aktif karbon ile adsorpsiyonun Amerika Çevre Koruma Ajansı (US Environmental Protection Agency) tarafından mevcut en iyi kontrol teknolojilerinden biri olarak belirtildiği rapor edilmiştir [14]. Aktif karbon ile etkin renk giderimi sağlanabilmesine rağmen oldukça pahalı olduğundan boyar madde gideriminde çeşitli düşük maliyetli adsorbentler denenmiş, ancak genellikle adsorpsiyon kapasitelerinin düşük olduğundan ve rejenerasyonları sağlanamadığından fazla miktarda boya adsorplamış adsorbentin atılması ile yeni bir atık sorununun ortaya çıkacağı vurgulanmaktadır [15]. Dolayısıyla yeni, ekonomik, kolay bulunabilen, etkili ve kolaylıkla rejener edilebilen adsorbentlerin bulunması gerekmektedir.

Tekstil fabrikalarının oldukça fazla olduğu Mersin ve çevresinde artacak görsel kirliliğin ülke turizmini olumsuz etkileyeceği ve son yıllarda ve özellikle ilkbahar ve yaz aylarında yaşanan bu atıksuların deşarj edildiği nehirlerde görülen toplu balık ölümlerinin de artacağı görülebilir. Boyar madde molekülleri farklı ve karmaşık yapıya sahip moleküllerdir. Fungal renk giderimini etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi boyar madenin yapısıdır. Boyar madde molekülünün yapısı ve fungal renk giderimi arasında ilişki kurabilmek için ileri çalışmaların yapılması gerekmektedir. Fungal renk giderimi günümüzde kullanılan arıtım proseslerinin

yerini alabilecek veya bu prosesleri destekleyecek bir alternatif olarak görülmektedir. Ancak boyar madde içeren atık sulardan fungal biyokütle ile renk giderimi araştırma aşamasındadır [1]. Boyar maddelerin aerobik koşullarda renk giderimlerinin saptanması ile iki adımlı proseslere gerek kalmayacağından boyar maddelerin remediasyonu kolaylaşacaktır.

Bu çalışmada, tekstil fabrikalarında yaygın olarak kullanılan LB (LB) ve Cibacron Blue CR (CB)'nin aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* hücreleri ile sıvı fazda giderim koşullarının araştırılması, adsorpsiyon izoterm modelleri kullanılarak aktif ve inaktif hücrelerle sağlanan renk giderimi bulgularının karşılaştırılması, renk giderim mekanizmasında adsorpsiyonun etkinliğinin ve biyosorbentin rejenere edilebilirliğinin araştırılması hedeflenmiştir.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

### 2.1. BOYAR MADDELER

Boyar maddeler 400-700 nm arasında görünür ışığı absorbe edebilme yetenekleriyle karakterize edilirler ve ışığı absorbe ederek renkli görünürler. Çok değişik yapıda olan ve değişik amaçlarla kullanılan bu bileşiklerin çeşitli sınıflandırmaları mevcuttur. Renklendiriciler iki büyük gruba ayrılırlar [16].

i- İnorganik boyar maddeler

ii- Organik boyar maddeler

Renklendiriciler ya boyar maddeler ya da pigmentlerdir. Pigmentler su ortamında çözünmemeleriyle karakterize edilirler. Diğer taraftan su ortamında tümüyle çözünebilir boyar maddeler saç, tırnak, deri ve tekstil materyalleri gibi çeşitli maddelere uygulanırlar. Boyar maddelerin pigmentlerden farkı, boyaların maddelere özgün ilgi göstermeleridir [16].

Normalde bütün hidrokarbonlar renksizdirler. Ancak bunlara kromofor adı verilen doymamış gruplar bağlanırsa renkli görünürler. Kromofor grup bağlanmış hidrokarbonlara ise “kromojen” adı verilmektedir. Kromofor renk verici anlamındadır ve kimyasal yapılarına göre 7 gruba ayrılırlar [16];

<u>Kimyasal yapı grupları</u>	<u>İçerdikleri bağlar</u>
Nitroso grubu:.....	-NO (veya =N-OH)
Nitro grubu :.....	-NO <sub>2</sub> (veya =NO·OH)
Azo grubu :.....	-N=N-
Etilen grubu :.....	=C=C=
Karbonil grubu :.....	=C=O
Karbon-azot grubu: .....	=C=NH ve -CH=N-
Kükürt grubu :.....	=C=S ve ≡C-S-S-

Basit aromatik yapıya renk veren kromofor gruplar yer değiştirebilir ve görünür spektrumda absorpsiyon bantlarının gözlenmesini sağlarlar. Kromoforlar boyaların sınıflandırılmasında oldukça önemlidir. Kromofor gruplar redüksiyona uğrayabilirler. Eğer redüksiyona uğrarlarsa elektron rezoransının kaybolmasından ötürü renk kaybolabilir [16].

Kromojenlerin tam olarak boyar madde özelliği kazanabilmesi için “oksokrom” adı verilen ikinci seri grup moleküllerin bileşiğe bağlanması gerekmektedir. Oksokrom gruplar kromojene bağlanarak hem renk şiddeti hem de renk derinliğini arttırmaktadır. Bunlar genellikle amino (-NH<sub>2</sub>), hidroksil (-OH) gibi tuz oluşturan gruplar veya bunların türevi çözünebilir radikaller karboksil (-COOH) veya sülfon (-SO<sub>3</sub>H)’dır. Bu oksokromlar, kromoforlar, kromojenler boyaların sınıflandırılmasında rol oynarlar, fakat -OH, -NH<sub>2</sub>, -SO<sub>3</sub>H, -COOH gibi yardımcı gruplar boyaların kimyasal sınıflandırılmasından çok liflerin direk boyanmasından sorumludurlar [17]. Boyar maddeler boyama özelliklerine göre Bazik (katyonik), Asit (anyonik), Direkt, Mordan, Küpe, İnkışaf, Metal, Dispersiyon, Pigment ve Reaktif boyar maddeler olarak sınıflandırılmaktadırlar. Bazik (katyonik) boyar maddeler; organik bazların hidroklorürleri şeklinde olup, katyonik grubu renkli kısımda taşırlar. Pozitif yük taşıyıcı olarak N (azot) veya S (kükürt) atomu içerirler. Yapılarından dolayı bazik (proton alan) olduklarından anyonik grup içeren liflerle bağlanırlar. Başlıca poliakrilonitril, kısmen de yün ve pamuk elyafın boyanmasında kullanılırlar [5].

Direkt boyar maddeler (Substantif Boyar Maddeler); genellikle sülfonik, bazen de karboksilik asitlerin sodyum tuzlarıdır. Yapı bakımından direkt ve asit boyar maddeler arasında kesin bir sınır bulunmamaktadır. Mordan boyarmaddeleri asidik veya bazik fonksiyonel gruplar içerirler. Bitkisel ve hayvansal elyaf ile kararsız bileşikler oluştururlar. Mordan sözcüğü, boyar maddeyi elyafa tespit eden madde veya bileşim anlamını taşır. Birçok doğal ve sentetik boyar madde bu sınıfa girmektedirler. Küpe boyar maddeleri; karbonil grubu içeren ve suda çözünmeyen boyar maddelerdir. Bunlar indirgeme ile suda çözüner hale getirilirler ve bu halde elyafa çektilirler [5].

Elyaf üzerinde oluşturularak son şekline dönüştürülebilen bütün boyar maddeler İnkişaf boyar maddeleridir. Azoik boyar maddeler de denilen Naftol—AS boyar maddeleri ile fitalosiyanın boyar maddeleri bu sınıfa girmektedirler. Belirli gruplara sahip bazı azo boyar maddeleri ile metal iyonlarının kompleks oluşturduğu boyar maddeler, metal kompleks boyar maddeleridir. Kompleks oluşumunda azo grubu rol oynar. Metal katyonu olarak Co, Cu ve Ni iyonları kullanılmaktadır [5].

Dispersiyon boyar maddeleri suda eser miktarda çözünebilen, bu nedenle sudaki dispersiyonları halinde uygulanabilen boyar maddelerdir. Bu boyar maddeler, boyama işlemi sırasında dispersiyon ortamından hidrofob elyaf üzerine difüzyon yolu ile çekilmektedirler. Pigment boyar maddeler, bağlayıcı madde denilen sentetik reçineler ile elyaf yüzeyine bağlanan boyar maddelerdir [5].

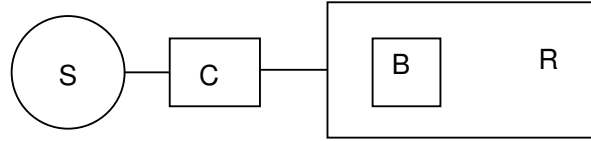
Reaktif boyar maddeler, selüloz liflerini boyamak için kullanılan renkli moleküllerdir. Boyalar ilk olarak selüloz üzerinde adsorbe olur ve daha sonra liflerle reaksiyona girerler. Reaksiyon, boya molekülü ile lif arasında dayanıklı bir kovalent bağ oluşumu ile gerçekleşir [18]. Reaktif boyaların en önemli özelliği yapılarında kovalent bağ oluşturabilen bir veya iki grup bulunmasıdır [16]. Bu boyaların reaktif sistemleri selüloz substratı üzerindeki iyonize olmuş hidroksil grupları ile ilişkilidir. Bununla birlikte alkali boyama şartlarında boya banyosunda bulunan hidroksil iyonları selüloz substratı ile birlikte lifle kolayca reaksiyona giremeyen hidrolize olmuş boyalar oluşturabilir. Böylece, başlangıç boya yükünün % 10-15'lik kısmı boya banyolarından atık sulara verilerek oldukça renkli atık suların oluşumuna yol açabilirler. Bu boyalar, kimyasal yapıları, molekül boyutu ve yapısı nedeniyle biyolojik indirgenmeye dayanıklıdır. Alıcı ortamlarda kolayca biyolojik indirgenmeye uğramayan reaktif boyalar tekstil atık sularında problem yaratan bileşikler olarak tanımlanırlar [18].

Reaktif boyar maddeler selülozik elyafın boya ve baskısına yarayan çok önemli bir boyar madde grubudur. Ayrıca yaygın olmamakla beraber yün, ipek,



nylon ve deri boyamada da kullanılmaktadırlar. Reaktif boyar maddeler geniş bir renk serisine sahiptir ve renkleri oldukça parlaktır [19].

Bütün reaktif boyar maddelerin ortak özellikleri, hepsinin kromoforu taşıyan renkli bir grup yanında, bir reaktif bir de moleküle çözünürlük sağlayan grup içermesidir. Kromoforu taşıyan moleküller çoğunlukla azo, antrakınon ve fitalosiyanın türevleridir. Boyar maddenin reaksiyon yeteneğini ve reaksiyon hızını tayin etmesi nedeniyle boyama tekniğinden sorumlu olan grup reaktif gruptur [19]. Bir reaktif boyar maddenin karakteristik yapısı şematik olarak Şekil 2.1 deki gibi gösterilebilmektedir [5].



Şekil 2.1. Reaktif boyar maddelerin karakteristik yapısı.

**S:** (Suda çözünebilen grup) Selüloz ve protein elyafı boyayabilen reaktif boyar maddelerde 1-4 adet sülfonik asid grubu bulunur. Bu özel gruplar moleküle çözünürlük sağlarlar. **C:** (Moleküle renk veren grup) Reaktif boyarmaddenin molekülünde renk verici grup olarak her türlü sınıfa (azo, antrakınon ve fitalosiyanın türevleri) rastlamak mümkün olmaktadır. **B:** (Köprü bağları) Moleküldeki renkli grup ile reaktif grubu birbirine bağlayan; -NH-, -CO-, -SO<sub>2</sub>- gibi gruplardır. **R:** (Reaktif grup) Elyaftaki fonksiyonel grup ile kovalent bağ oluşturan gruptur [5].

Günümüzde endüstriyel olarak yaklaşık 10,000 farklı boya ve pigment üretilmektedir. Dünya çapında bu boyaların yıllık üretimi  $7 \times 10^5$  tonun üzerindedir. Bu boyaların % 10-15'i boyama prosesleri sonucunda atık su ile alıcı ortama deşarj edilmektedir [5, 17-19]. Bunun yanında, dünyada boyar maddeye duyulan ihtiyaç ve kullanımı ise her geçen gün artmaktadır [4, 20-22].

Renkli organik bileşikler atık suyun organik yük bakımından genellikle az bir miktarını oluşturmalarına rağmen ortama renk vermeleri bunları estetik olarak kabul edilmez kılmaktadır. Tekstil ve boyar madde üretim endüstrilerinden atık su arıtım tesislerine ve alıcı ortama deşarj edilen atık sular önemli sağlık ve çevre kirliliği problemlerine sebep olmaktadır. Bu nedenle renk giderimi son yıllarda önemli bir bilimsel ilgi alanı oluşturmuştur [8].

## 2.2. RENK GİDERİM ÇALIşMALAR

### 2.2.1. Kimyasal Yöntemler

#### 2.2.1.1. Oksidatif prosesler

Bu işlem, kimyasal maddeler kullanılarak renk gideriminin sağlandığı bir metottur. Kullanımın kolaylığından dolayı çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu işlemde kullanılan temel oksitleyici ajan hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ )'dir. Bu ajanın aktive olabilmesi için bazı şartlar gereklidir. Kimyasal renk gideriminde kullanılan birçok metot  $H_2O_2$ 'nin aktive olmasına bağlıdır [23]. Kimyasal oksidasyon, boya molekülünün aromatik halka kırılmasıyla sonuçlanan oksidasyonu boya madde içeren atık sularda boyayı gidermektedir.

*Fenton ayıracı ( $H_2O_2/Fe(II)$  tuzları):* Fenton ayıracı biyolojik arıtıma dirençli veya canlıya zararlı olan atık suların arıtımında kullanılmaktadır [23]. Bu işlemde atık suda bulunan, suda çözünebilen veya çözünmeyen boya maddeleri birbirine bağlar ve çökmesine neden olur [24]. Bu yöntemin temel dezavantajlarından birisi, sistemde oluşan çamurdur. Konsantre kimyasal ve boya madde içeren bu çamurun gideriminde de yeni işlemler gerekmektedir. Bunun yanında sistemin performansı flok oluşumuna ve çökelebilen kalitesine bağlıdır. Asit, direkt, vat, mordan ve reaktif boya madde içeren atık sulara uygulandıklarında boya maddeler çökebilmektedir, ancak oluşan floklar zayıftır ve iyi bir çökme sağlanamamaktadır

[25]. Fe(II)/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uygulamasında U.V. kullanıldığında boyar madde giderim verimi artmaktadır [26].

Bu metodun kullanıldığı boyar madde giderim çalışmasında optimum pH 3,00; sıcaklık 50 °C, FeSO<sub>4</sub> konsantrasyonu 100 mg/L ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> konsantrasyonunun 400 mg/L olduğu belirlenmiş ve yünlü, pamuklu, polyester kumaş boyama işlemleri sonrası oluşan atık sudan bu işlemlerle % 80'den fazla KOİ ve % 90'dan fazla renk giderimi sağlanabildiği rapor edilmiştir [27]. Hidrojen peroksit ile birlikte kobalt (II) ve askorbik asidin kullanıldığı sistemde azo, akridin, antrakinon, tiazin, trifenilmetan boyar maddelerinin (Acridine Orange, Azure B, Cibachrom Blue, Crystal violet, Reaktif Black 5) renginin % 90'nın üzerinde giderildiği rapor edilmiştir [28]. Aynı çalışmada yüksek aktivite saptanmasına rağmen reaksiyon sonucu ortamda kalan kobalt miktarının yüksek olduğu ve bunun giderimi için iyon değiştiricilerin veya metal bağlayıcı komplekslerin kullanılması gerektiği bildirilmiştir [28].

*Ozonlama:* Ozonlama aromatik hidrokarbonlar, pestisitler, fenoller ve klorlu hidrokarbonların yıkımında [29, 30], boyar madde ve KOİ gideriminde kullanılmaktadır [30]. Boyar madde içeren atık suya uygulanacak olan ozon dozajı toplam renge ve KOİ'ye bağlıdır. Bu uygulamada çamur oluşumu gözlenmemektedir [31] ve toksik metabolitler oluşmamaktadır [32]. Bu metod özellikle çift bağlı boyar madde gideriminde etkilidir [23]. Boyar maddedeki kromofor gruplar genellikle konjuge çift bağlı organik bileşiklerdir. Bunların kırılmasıyla daha küçük moleküller oluşur ve boyar madde renksiz hale gelmektedir [33]. Temel dezavantajı gaz halde uygulanması ve uygulamada atık suyun hacminin arttırılamamasıdır. Ayrıca yarılanma ömrünün kısa olması (20 dakika), ortamın pH'sından, sıcaklığından, tuz konsantrasyonundan etkilenmesi ve maliyetinin yüksek olması diğer dezavantajlarıdır [30]. Alkali ortamlarda ozon hızla parçalandığından, ortam pH'sının sürekli izlenmesi gerekmektedir [23]. Bu uygulamada en iyi sonuç, ozonun radyasyonla [34] veya membran filtrasyon tekniğiyle birlikte uygulanmasından elde edilmektedir [35]. Boyama işlemleri esnasında kullanılan

iyon tutuculardan dolayı ozonlama işleminin renk giderimi üzerindeki etkisinin azaldığı belirlenmiştir [36].

*Fotokimyasal işlemler:* Bu metotla boyar madde  $H_2O_2$  varlığında U.V. ile birlikte karbondioksit ve suya parçalanmaktadır [33, 37]. Parçalanma sonucu yüksek konsantrasyonda hidroksil radikalleri üretilmektedir. U.V.  $H_2O_2$  gibi aktif molekülleri kullanır ve boyar madde giderim hızı U.V. ışınının yoğunluğuna, ortamın pH'sına ve boyar maddenin yapısına bağlıdır [23]. Renk giderimi işleminin süresi ortamda bulunan metallere, inorganik asitlere, organik aldehitlere ve organik asitlere bağlıdır [37].

*Sodyum hipoklorit ( $NaOCl$ ):* Bu metotta; kullanılan kimyasaldaki klor boyar maddedeki amino gruplarına saldırmaktadır. Reaksiyon başladığında azo bağlarının kırılması hızlanmaktadır. Bu metot dispers boyar maddeler için uygun değildir. Renk giderimindeki artış ortamdaki klor konsantrasyonuna bağlıdır. Yöntemde klorun kullanılmasından ve fazla klorun atık suda kalmasından dolayı çok sık kullanılan bir yöntem değildir [23]. Ayrıca reaksiyon sonucu karsinojenik ve toksik aromatik aminlerin oluşumu, yöntemin kullanımını sınırlamaktadır.

*Elektrokimyasal işlemler:* Boyar madde gideriminde alternatif bir yöntem olarak gelişmektedir. Yapılan çalışmalar, kimyasal maddenin çok az yada hiç harcanmadığını ve çamurun oluşmadığını göstermektedir. Parçalanma sonrasında herhangi bir toksik madde oluşmamaktadır. Bu metodun kullanılması ile ekonomik olarak boyar madde giderimi yanında rekalsitran kirleticilerin parçalanabildiği bildirilmiştir [38, 39].

#### 2.2.1.2 Kimyasal flokleştirme ve çöktürme yöntemi

Bu yöntemde flokleştirme ve çökelme, kimyasal maddeler yardımıyla sağlanır. Atıksuya katılan kimyasal maddeler yardımıyla meydana gelen flokleştirme ile çözülmüş maddeler ve kolloidler giderilirler. En çok kullanılan kimyasallar arasında,  $Al_2(SO_4)_3$ ,  $FeCl_3$ ,  $FeSO_4$  ve kireç sayılabilir. Tünay ve ark. [40] tarafından yapılan

çalışmada asit boya içeren bir atıksuda kimyasal çöktürme, kimyasal oksidasyon ve adsorpsiyon yöntemleri denenmiş ve yöntemler renk giderim verimlilikleri açısından incelenmiştir. Kimyasal çöktürme deneylerinde makul kimyasal dozlarıyla orta dereceden yüksek dereceye kadar renk giderimi sağlandığı ve kullanılan kimyasallar içinde alumun nispeten daha etkili olduğu görülmüştür. Kimyasal çöktürme yönteminde inşaat masraflarından ziyade işletme masrafları önem taşımaktadır. Özellikle floklaşma maddeleri ve meydana gelen çamurun bertaraf edilmesi, giderlerin önemli bir kısmını teşkil etmektedir [40].

### 2.2.2. Fiziksel Arıtım

#### 2.2.2.1. Membran filtrasyon

Bu metot atıkların arıtımında, konsantre edilmesinde, en önemlisi sürekli şekilde boyar maddeleri atık sudan ayırabilmesi ile karakterizedir [30, 41]. En büyük dezavantajı oldukça yüksek yatırım maliyetinin olmasıdır. Sistemde atık suyun membrandan dışarı çıkabilmesi için kimyasal potansiyel, basınç, elektrik gibi zorlayıcı kuvvetler uygulanmaktadır [42]. Ayrıca sistemin atıksudan KOİ gideriminde de etkili olduğu rapor edilmiştir [43].

#### 2.2.2.2. İyon değıştiriciler

Boyar madde içeren atık suların arıtımında, boyar maddelerin çok farklı kimyasal yapıya sahip olmalarından dolayı bu teknik yaygın olarak kullanılamamaktadır [23]. Hem katyonik hem de anyonik boyar maddeleri içeren atıksularda kullanılmaktadır. Bu yöntemin avantajı rejenerasyon ve geri kazanımda adsorban kaybının olmamasıdır. Temel dezavantajı ise maliyetidir. Rejenerasyonda kullanılan organik soventlerin pahalı oluşu ve dispers boyar maddelerin gideriminde etkisiz oluşu bu metodun kullanımını sınırlamaktadır [41].

### 2.2.2.3. Radyasyon

Radyasyonla etkili bir şekilde organik maddelerin giderilebilmesi için uygun miktarda çözünmüş oksijen gereklidir. İşlem esnasında çözünmüş oksijen hızla tüketilir ve ortama yeniden oksijen sağlanması gereklidir. Bazı boyar maddelerin ve fenolik bileşiklerin oksitlenebilmesini sağlayan bu yöntem yalnızca laboratuvar ölçeğinde etkili olabilmektedir [44].

### 2.2.2.4. Adsorpsiyon

Literatür bilgilerine göre, uygun tasarlanmış adsorpsiyon prosesi yüksek kalitede arıtım sağladığından, sıvı faz adsorpsiyonu atıksulardan kirletici gideriminde en yaygın kullanılan yöntemlerden biri olduğu; özellikle adsorbent maliyeti düşükse ve ön işlem uygulamaya gerek olmadığı zaman atıksu arıtımında kullanılabilir önemli bir alternatif olduğu belirtilmektedir. [14]. Adsorpsiyon, iyi bilinen bir denge ayırma prosesi olup, atıklardan kirleticilerin uzaklaştırılmasında etkin bir yöntem olarak tanımlanmaktadır [45]. Maliyeti düşük, tasarımı ve uygulaması kolay olduğundan, toksik kirleticilere duyarlı olmadığından ve zararlı maddelerin meydana gelmesine yol açan bir proses olmadığından diğer arıtım tekniklerinden daha üstün olduğu belirtilmektedir [14]. Özellikle geleneksel biyolojik arıtım proseslerine karşı dirençli kimyasal kirleticilerin sulardan uzaklaştırılmasında katı adsorbentlerin kullanıldığı adsorpsiyon tekniklerinin yaygın olarak uygulandığı belirtilmektedir [14]. Odun çipsi, asit boyar maddelerin gideriminde oldukça etkili olmasına rağmen kullanımındaki güçlükler ve uzun bekleme sürelerine ihtiyaç duyulması adsorbent dezavantajı olarak belirtilmektedir [46, 47]. İşlemden sonra boyar madde içeren odun çipsleri yakılarak enerji eldesinde kullanılabilirlikleri belirtilmektedir [13]. Uçucu kül ile sağlanan adsorpsiyon hızı, uçucu kül konsantrasyonunun dolayısıyla adsorpsiyon için uygun olan yüzey alanının artması ile ya da kömür ile birlikte kullanıldığında adsorpsiyon hızının arttığı bilinmektedir [48]. Aktif karbonun atıksulardan kimyasal kirleticilerin uzaklaştırılmasında en yaygın kullanılan adsorbent olduğu belirtilmektedir [49, 50]. Ticari aktif karbon farklı yapılarıdaki boyar maddelerin giderimini sağladığından, diğer pahalı arıtım tekniklerine ideal bir

alternatif olarak görülmektedir [50]. Aktif karbon, yapısal karakterleri ve porlu tekstüründen dolayı geniş yüzey alanına sahip olduğundan ve kimyasal ön işlemlerle kolaylıkla modifiye edilerek özellikleri artırılabilirdiğinden, boyar madde adsorpsiyonunda en etkili adsorbent olduğu belirtilmektedir. Boyar maddenin yapısına bağlı olarak verimin değişmesi, dispers ve vat boyaların gideriminde etkisiz olması, çok pahalı bir adsorbent olması, rejenerasyonunun da çok pahalı olması ve rejenerasyon sırasında adsorbent kaybı olması, literatürde aktif karbonun önemli dezavantajları olarak vurgulanmaktadır [49]. Aktif karbonun çok pahalı olması nedeniyle araştırmacılar, daha ekonomik adsorbent arayışına girmişlerdir. Ortam sıcaklığı, pH, adsorplayıcının özellikleri, adsorplanan madde, çözücü özellikleri ve polarite, adsorpsiyonu etkileyen faktörler olarak belirtilmektedir [51].

*Adsorpsiyon türleri:* Adsorplanacak maddenin çözücünden katı yüzeye adsorpsiyonu, genellikle katı yüzeye olan yüksek afinitesinden ileri gelir. Afinite fiziksel, kimyasal ve iyonik kuvvetlere bağlıdır. Bu nedenle, çözülmüş parçacıklar ile adsorplayan yüzey arasındaki çekim kuvvetlerinin türüne bağlı olarak üç tip adsorpsiyon tanımlanmaktadır [51]:

1. Fiziksel adsorpsiyon: Adsorplanan boyar madde ve katı molekülleri arasında moleküller arası çekim kuvvetlerinin sonucu kendiliğinden oluşan bir olaydır. Fiziksel adsorpsiyonun oluşabilmesi için düşük sıcaklık aralığı yeterlidir. Adsorpsiyon sonucu, yoğunlaşma enerjisinden biraz fazla ısı açığa çıkar ve aktivasyon enerjisi düşüktür. Etkin kuvvetler Van der Waals kuvvetleri olduğu için bağlar zayıf ve tersinirdir. Adsorplanan madde katının kristal örgüsü içine girmez ve çözünmez, fakat yüzeyi tamamen kaplar. Fiziksel adsorpsiyondan sonra adsorbentin rejenerasyonu kolaydır.
2. Kimyasal adsorpsiyon (Kemisorpsiyon): Adsorplanan madde ile katı arasındaki kimyasal etkileşimin sonucudur. Kimyasal adsorpsiyondaki adesif kuvvet fiziksel adsorpsiyondakinden daha büyüktür. Adsorpsiyon sırasında açığa çıkan ısı, kimyasal reaksiyon ısısı derecesindedir.

Adsorpsiyon tek tabakalı ve tersinmezdir. Kemisorpsiyonun tek tabakadan sonra etkisini yitirmesi, molekülleri yüzeyde tutan değerlik kuvvetlerinin uzaklıkla azalmasından kaynaklandığı belirtilmektedir [52].

3. İyonik adsorpsiyon: Seçmeli olarak bir iyonun katı yüzeyinde tutunmasında elektrostatik çekim kuvvetlerinin etken olması ile açıklanır. Belirli katılar ve elektrolit bir çözelti arasındaki iyonların tersinir değişimine iyon değişimi adı verilir. Adsorpsiyon ile iyon değişimi arasındaki temel fark şudur; adsorpsiyonun tersine iyon değişimi stokiometrik bir işlemdir. Çözeltiden uzaklaşan her iyon aynı işaretli diğer iyonik türlerin eşdeğer miktarıyla yer değiştirir. Adsorpsiyonda ise elektrolit veya elektrolit olmayan çözünen diğer iyon türleri ile yer değiştirmeksizin tutulur.

*Adsorpsiyon dengesi ve adsorpsiyon izotermi:* Adsorpsiyon verileri genellikle adsorbent üzerine adsorplanmış denge çözünen miktarı  $q_d$  (çözünenin katı faz derişimi) ile sıvı fazda kalan denge çözünen miktarı  $C_d$  (çözünenin sıvı fazdaki denge derişimi) arasındaki bir denge izotermi ile ifade edilir. Denge anında, iki farklı fazdaki çözünen derişimi arasında dinamik bir denge kurulmaktadır. Denge izotermi, boya giderimi için adsorpsiyon sistemlerinin tasarım ve optimizasyonunda temel alınmaktadır. Literatürde çeşitli izoterm modelleri yer almakta [51, 53, 54]; Langmuir ve Freundlich izotermilerinin en sık kullanılan modeller olduğu belirtilmektedir [15].

Langmuir izoterm modeli, adsorbent yüzeyinde homojen olarak dağılmış, çok sayıda bağlanma bölgesinin bulunduğu ve bu bağlanma bölgelerinin tek bir moleküler tabakanın adsorpsiyonu için aynı afiniteye sahip olduğu ve adsorplanan moleküller arasında bir etkileşim olmadığı varsayımına dayanır. Tüm adsorpsiyon işlemi aynı mekanizmaya göre oluşur ve her bir adsorplanmış kompleks aynı yapıya sahiptir. Adsorpsiyon büyüklüğü, yüzeyin tamamen tek tabaka halinde kaplanmasından daha azdır. Ho ve ark. [55]'nin belirttiğine göre Langmuir (1916)'da teorik Langmuir izoterm modeli aşağıdaki eşitlik ile ifade edilmektedir.



$$q_d = \frac{Q^0 b C_d}{1 + b C_d} \quad (2.1)$$

$Q^0$ , adsorbentin maksimum tek tabaka boya alım kapasitesi (mg/g)

$q_d$ , dengede birim adsorplayıcı ağırlığında adsorplanan madde miktarı (mg/g)

$C_d$ , dengede çözültide adsorplanmadan kalan madde derişimi (mg/L)

$b$ , Adsorpsiyon enerjisi ya da net entalpisi ile ilgili olan Langmuir izoterm sabiti (L/mg)

$Q^0$  ve  $b$  Langmuir izoterm sabitleri eşitlik 2.1'in doğrusal formunun oluşturulması ile saptanabilmektedir. Eşitlik 2.1'in doğrusal formu, eşitlik 2.2 ile ifade edilmektedir. Sabit sıcaklıkta  $1/C_d$  verilerine karşı  $1/q_d$  verilerinin yerleştirilmesi ile oluşturulan grafiğin eğim ve kayma değerleri kullanılarak  $Q^0$  ve  $b$  değerleri elde edilmektedir.

$$\frac{1}{q_d} = \frac{1}{Q^0} + \left( \frac{1}{bQ^0} \right) \left( \frac{1}{C_d} \right) \quad (2.2)$$

Freundlich denklemleri üslü bir ifade içermektedir ve adsorplanan derişimindeki artışla adsorbent yüzeyinde adsorplanmış madde derişiminin de arttığı varsayımına dayanır. Teorik olarak bu ifade kullanılırsa sonsuz miktarda adsorpsiyona ulaşılabilir. Freundlich izoterm modeli, heterojen yüzey enerji sistemlerini içeren ideal olmayan sorpsiyon için kullanılmakta; Ho ve ark. [55]'nin belirttiğine göre Freundlich (1906)'da eşitlik 2.3 ile ifade edilmektedir.

$$q_d = K_f (C_d)^{1/n} \quad (2.3)$$

$q_d$ , dengede birim adsorplayıcı ağırlığında adsorplanan madde miktarı (mg/g)

$C_d$ , dengede çözültide adsorplanmadan kalan madde derişimi (mg/L)

$K_f$ , Freundlich izoterm sabiti olup adsorpsiyon kapasitesi indikatörüdür.

$1/n$ , heterojenlik faktörü olarak adlandırılır.

$K_f$  ve  $n$  Freundlich izoterm sabitlerinin hesaplanabilmesi için Freundlich izoterm denkleminin doğrusal formu oluşturulmalıdır. Eşitlik 2.3'ün doğrusal formu eşitlik 2.4 ile ifade edilmektedir. Sabit sıcaklıkta  $\ln C_d$  verilerine karşı  $\ln q_d$  verilerinin yerleştirilmesi ile oluşturulan grafiğin eğim ve kayma değerleri kullanılarak, Freundlich izoterm sabitleri olan  $K_f$  ve  $n$  değerleri elde edilebilmektedir.

$$\ln q_d = \ln K_f + \left( \frac{1}{n} \right) \ln C_d \quad (2.4)$$

### 2.2.3. Biyolojik Arıtım

Renk giderimi, canlı ya da ölü biyolojik materyallerle sağlanabilmektedir. Biyolojik renk gideriminde bitkiler [56-60] ve mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Mikrobiyal iyileştirmenin, sistem tasarımlarının kolay ve maliyetinin düşük olması nedeniyle, geleneksel iyileştirme sistemlerinden daha avantajlı oldukları belirtilmektedir [9].

Son yıllarda atık sularadaki boyar maddeleri biyolojik parçalanma veya biyosorpsiyon yoluyla giderebilen bazı mikroorganizmalar üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır. Çeşitli boyar maddeleri renksizleştirebilen bir çok bakteri [61, 62], alg [8, 63-66] ve fungus türü [67-68] bilinmektedir. Ayrıca boyar madde gideriminde aktif çamurun kullanılabilceği literatürde belirtilmektedir [69-71]. Boyar maddelerin mikrobiyolojik arıtımlarının temeli ve anahtarı her bir boyar maddeyi etkili bir şekilde renksizleştirecek uygun mikroorganizma suşunu saptamak olduğu vurgulanmaktadır [72].

Renk giderimini sağlamak amacı ile canlı ya da ölü mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Canlı hücrelerle renk gideriminin, mikrobiyal hücrelere adsorpsiyon ya da biyolojik parçalanma yolu ile gerçekleştiği belirtilmiştir [73-75]. Ayrıca, literatürde hücre içerisine akümülyasyonla renk gideriminin de gerçekleştiği belirtilmektedir [76]. Ölü ya da inaktif hücrelerle renk giderimi ise biyosorpsiyon yolu ile gerçekleşmektedir [1].

### 2.2.3.1. Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon, metal, boya ve koku sorunu yaratan maddelerin canlı ya da ölü biyokütle ya da biyokütle türevleri ile giderilmesi olarak tanımlanmakta; biyokütlenin bakteri, fungus, alg, atıksu arıtım tesislerinden sağlanan çamur ya da fermentasyon endüstrilerinin yan ürünleri olabileceği belirtilmektedir [15]. Bazı araştırmacılar [77], biyosorpsiyon terimini, kirleticilerin büyümeyen (çoğalmayan) ya da canlı olmayan mikrobiyal kütle tarafından pasif alımı olarak açıklamasına rağmen, bazı araştırmacılar büyüme sırasında boyar maddenin fungal hücreler tarafından alınımı da biyosorpsiyon olarak tanımlamaktadır [78, 79]. Biyosorpsiyon terimi, aerobik ya da anaerobik metabolizma ile oksidasyon (biyodegradasyon) yerine hücre duvarında meydana gelen çeşitli metabolizmaya bağımlı olmayan prosesler (fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon, elektrostatik etkileşim, iyon değişimi, kompleks oluşturma, şelat oluşturma ve mikropresipitasyon) için kullanılmaktadır. Biyosorpsiyonda, adsorbent olarak biyolojik materyaller kullanıldığı ve giderim mekanizmasının “sorpsiyon” olduğu belirtilmektedir [15].

Biyosorpsiyon teknolojisinin en önemli avantajının ucuz biyosorbentler kullanılarak boya derişiminin düşük seviyelere kadar azaltılabilmesi olduğu belirtilmektedir [14]. Presipitasyon, iyon değişimi, ters ozmoz ve adsorpsiyon tekniklerine göre maliyetinin ucuz olmasının yanı sıra, düşük maliyetle rejenere edilebilirliği, proses ekipmanlarının kolaylıkla sağlanabilmesi, çamur oluşmaması ve çözünenin geri kazanılabilmesi, biyosorpsiyonun diğer avantajları olarak gösterilmektedir [80]. Fungal biyokütlenin basit fermentasyon teknikleri ve ucuz büyüme ortamları kullanılarak düşük maliyetle üretilebileceği belirtilmektedir [81, 82]. Geleneksel adsorpsiyon proseslerinde karşılaşılan adsorbent seçiciliğine biyosorpsiyonda rastlanmadığı rapor edilmiştir [14]. Boyar maddelerin renklerinin gideriminde çeşitli biyolojik mekanizmalar arasında biyoadsorpsiyon ve biyolojik geri kazanımın endüstriyel uygulamalar için daha büyük bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir [83]. Boyar maddelerin biyokütleyle adsorpsiyonunun fungal biyokütledeki gruplara (karboksil, amino, fosfat), lipit fraksiyonuna ve boyar maddenin kimyasal yapısına bağlı olduğu rapor edilmiştir [84].

Biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesinin çeşitli faktörlerle etkilendiği belirtilmektedir [15]. Biyokütle tipi (cins ve yaş), çözünen türü, ortamda çözünen ile rekabet edebilecek iyonların varlığı, biyokütle hazırlama tekniği (canlı biyokütle için kültür koşulları) ve ortam sıcaklığı, pH'sı, iyon derişimi gibi fizikokimyasal faktörlerin biyosorpsiyon kapasitesini etkilediği rapor edilmiştir [15]. Fungus, boya ya da boyalı atıksuyun bulunduğu ortamda ürediği zaman, karbon ve azot kaynağı türü ve miktarının [72, 85, 86], nütrient derişimi ve inkübasyon süresinin [87] ve oksijen sağlanmasının [88] boyar madde gideriminde önem kazandığı belirtilmektedir. Fungal renk gideriminde kullanılacak fungusun gelişebilmesi için gerekli optimum şartların sağlanmasıyla fungustan maksimum verim alınabileceği belirtilmektedir [89].

Literatürde, farklı fungus türlerinin aktif ve inaktif formlarıyla, farklı boyar maddelerin renklerinin giderilebildiği rapor edilmektedir. Asma ve ark. [90], farklı yapılardaki tekstil boyar maddelerinin gideriminde, *Phanerochaete chrysosporium* inaktif hücrelerinin *Funalia trogii* inaktif hücrelerinden daha etkili olduğunu; 100 mg/L Astrazon Blue içeren 50 mL'lik biyosorpsiyon ortamındaki biyosorbent derişiminin 0,1 g/L'den 1,0 g/L'ye artırılması ile *P. chrysosporium* ile renk giderim veriminin % 25'den % 80'e yükseldiğini rapor etmişlerdir. Termotolerant bir maya türü olan *Kluyveromyces marxianus* inaktif hücreleri ile Remazol Black B, Remazol Turquoise Blue ve Remazol Red gideriminin Langmuir Adsorpsiyon modeline uygun olduğu, mikroorganizmanın maksimum biyosorpsiyon kapasitesinin boyar maddeler için sırası ile 37 mg/g, 98 mg/g ve 68 mg/g olduğu rapor edilmiştir [91]. İnaktif *Aspergillus niger*'in polisülfon matriksine tutuklanması ile oluşturulan adsorbent in Acid Blue 29, Basic Blue 9, Congo Red ve Disperse Red 1 için adsorpsiyon kapasitesinin sırası ile 64,7 mg/g, 8,3 mg/g, 1,1 mg/g, 0,1 mg/g olduğu belirtilmiştir [92]. *Aspergillus niger* biyokütlesinin fonksiyonel grupları (karboksil, amino, fosfat ve lipit fraksiyonları) ayrı ayrı kimyasal olarak modifiye edilerek, bu grupların Acid Blue 29, Basic Blue 9, Congo Red ve Disperse Red 1 boyar maddelerinin fungal biyokütleyle adsorpsiyonundaki etkisi araştırılmış; Basic Blue 9'un biyosorpsiyonunda karboksil ve amino gruplarının; Acid Blue 29'un biyosorpsiyonunda amino gruplarının; Congo Red biyosorpsiyonunda amino,

karboksilik asit, fosfat gruplarının; Disperse Red 1 biyosorpsiyonunda ise amino gruplarının ve lipid fraksiyonunun önemli rol oynağı ve Disperse Red 1 biyosorpsiyon mekanizmasının diğer 3 boyar maddenin (iyonik karakterli) biyosorpsiyon mekanizmasından farklı olduğu belirtilmiştir [84]. Fungal büyüme ve boyar madde içeren atık suyun özellikleri gibi çeşitli faktörlerin, fungal renk giderimini etkilediği ve bazı ön işlem metotlarıyla (otoklavlama, organik veya inorganik kimyasallarla temas) fungal biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesinin arttırılabileceği rapor edilmiştir [1].

Assadi ve ark. [93], bir tekstil fabrikası çıkış suyunda bulunan tüm boyar maddelerin (asidik, bazik, direk, reaktif ve dispers) biyolojik yıkım enzimleri üretilmeden *Aspergillus niger* hücrelerinin yüzeylerine adsorblanarak 20 saatte ortamdan uzaklaştırıldığını rapor etmişlerdir. Drimaren (azo reaktif) boyar maddelerinin *Aspergillus foetidus* ile 48 saatte, % 95 üzerinde renk gideriminin sağlandığı; boyar madde gideriminde belirgin bir biyolojik dönüşüm meydana gelmediği; boyar maddenin büyüyen ve hızla çökelen fungal biyokütle yumaklarına adsorblandığı rapor edilmiştir [83]. Bu fungus ile boyar madde karışımının (Drimarene Red ve Drimarene Blue) renginin % 85'inin 72 saate giderildiği ve başlangıç boyar madde derişiminin artmasıyla renk gideriminin azaldığı; büyüme fazının sonunda ortama boyar madde ilave edildiği zaman, inkübasyon periyodunun uzatılmasına rağmen % 10'dan daha düşük renk giderim verimi sağlanmasının, renk gideriminde genç hücrelerin aktif olduğunu gösterdiği rapor edilmiştir [83]. Toksikite testi (Ames Testi) ile toksik olduğu saptanan Direct Brown ve Polar red boyar maddelerinin farklı *Aspergillus* türleri ile sıvı ortamda renk giderimleri sağlandıktan sonra, boyar maddelerin toksisitelerinin fungal biyokütleyle absorplanarak giderildiği; çalkalamalı koşullarda, 300 mg/L boyar madde içeren ortamlarda, farklı fungus tür ve suşlarının renk giderim verimlerinin % 80–95 arasında değiştiği rapor edilmiştir [79]. Bazı türlerin inkübasyonun 6. gününden sonra adsorbladıkları boyar maddenin bir kısmını sıvı ortama bıraktıkları; renk gideriminin fungal büyümeye bağlı olduğunu, ancak farklı *Aspergillus* türleri için kuru misel ağırlığı ve renk giderimi arasında bir ilişki saptanamadığını belirtmişlerdir [79]. *Penicillium geastrivorus* sporları aşılansarak, 100 mg/L Reaktif Black 5 boyar maddesinin 48 saat içerisinde

biyosorpsiyon ile tamamının giderildiği, ancak inkübasyon süresinin uzatılması ile boyar maddenin ortama geri bırakıldığı rapor edilmiştir [78]. Boyama proseslerinde fazla miktarlarda tuz kullanıldığı; tekstil fabrikası atık sularındaki tuz yoğunluğu yüksek olduğundan biyosorpsiyon kapasitesini etkileyen bir faktör olacağı belirtilmektedir [77]. *Penicillium oxalicum* peletleri ile 20 °C ve pH 2’de maksimum renk giderimi sağlandığı; inkübasyon süresince absorpsiyon spektrumunda yeni pik oluşumu saptanmadığı ve adsorpsiyon kapasitesinin ortam tuzluluğunun artışı ile arttığı rapor edilmiştir [94]. Ortamdaki iyonik şiddetin artması ile adsorbent ve çözünenin elektriksel tabakaları inceleyeceğinden yakınlaşacakları; Van der Waals çekim kuvveti artışı ile biyosorpsiyonun artacağı belirtilmektedir [77]. *Aspergillus niger* peletleri ile tekstil atıksuyu arıtımından sonra parçalanmış hücrelerden yüksek desorpsiyon verimi sağlanmasının boyanın membran bileşenlerine ve hücre içi bileşenlerine adsorplanarak giderildiğini gösterdiği rapor edilmiştir [93].

Bir çok endüstrinin (ilaç, yağ, benzin, kağıt, tekstil, odun) atık sularında bulunan fenolik maddelerin % 66 oranında *Aspergillus niger* biyokütlesine adsorplanarak giderildiği rapor edilmiştir [95]. Wunch ve ark. [68], 17 farklı fungus türü ile polimerik R-478 boyar maddesinin renk giderimini çalışmışlar; *Aspergillus* türlerinin ölü ve canlı hücreleri ile biyoadsorpsiyona dayalı renk giderimi gözlemlendiği ancak biyolojik parçalanmanın saptanamadığı belirtilmiştir. Toprakta izole edilen *Cunninghamella polymorpha*’nın 500 mg/L Disperse Blue 60 boyar maddesini % 90 verim ile giderebildiğini ve mikroskopik gözlemlerin renk gideriminin fungus büyümesi sırasında biyokütleyle adsorpsiyon yolu ile gerçekleştiğini gösterdiği belirtilmiştir [96]. Boyar maddelerin birçoğu suda çözünebilir yapıda olduğundan, atık sudan uzaklaştırılması oldukça güç olduğu; katyonik yumaklaştırıcıların boyar madde gideriminde etkin olduğu ve boyar madde molekülündeki anyonik sülfonik gruplarla katyonik yumaklaştırıcı molekülleri arasındaki yük nötralizasyonu flokülasyon prosesinde önemli rol oynadığı rapor edilmiştir [97]. *Aspergillus parasiticus* tarafından üretilen bir biyolojik yumaklaştırıcının bazı asit, reaktif ve direkt boyar maddelerin gideriminde etkin olduğu belirtilmiştir [97].

*Aktif ve inaktif hücrelerle renk gideriminin karşılaştırılması:* Literatürde, aktif ve inaktif hücrelerin renk giderim verimleri karşılaştırılarak renk gideriminde fungal biyokütleyle adsorpsiyonun rolünün araştırıldığı görülmektedir. 4 °C, 60 °C veya pH 2 gibi ekstrem koşullarda, sadece yoğun inokulum kullanıldığı zaman ve belirgin bir mikroorganizma büyümesi sağlanamayacak kadar kısa bir sürede hızlı renk giderimi sağlanmasının, renk gideriminde enzimatik aktivitenin rolünün olmadığı renk gideriminin boyar maddenin biyokütleyle fiziksel adsorpsiyonu ile gerçekleştiğini gösterdiği belirtilmiştir [98]. Wang ve Yu [99], farklı yapılarıdaki (azo, antrakınon, indigo) boyar maddelerin canlı ve ölü *Trametes versicolor* hücreleri ile gideriminde maksimum adsorpsiyon kapasitesi ve adsorpsiyon afinitelerinin Langmuir modeline göre saptandığını belirtmişlerdir. Antrakınon yapıları boyar madde için canlı ve ölü *Trametes versicolor*'un maksimum adsorpsiyon kapasitelerinin sırası ile 104,2 mg/g ve 90,9 mg/g olduğu belirtilmiştir [99]. Azo ve indigo yapıları boyar maddeler için fungusun adsorpsiyon kapasitelerinin daha düşük olduğu, azo yapıları boyar madde için canlı ve ölü fungusun adsorpsiyon kapasitelerinin sırası ile 53,5 mg/g ve 54,6 mg/g ; indigo yapıları boyar madde için de sırası ile 51,0 mg/g ve 49,5 mg/g olduğu rapor edilmiştir [99]. Yeşilada ve ark. [100], tekstil sanayiinde kullanılan Astrazon Red FBL boyar maddesinin gideriminde ısıyla öldürülmüş peletler kullanıldığı zaman renk giderim yüzdesinin canlı hücrelerle karşılaştırıldığında çok azaldığını belirtmişlerdir. Başlangıç Astrazone Blue derişimi 264 mg/L olan ortamda, aktif *Funalia trogii* hücreleri ile 24 saatte % 92 renk giderim verim sağlandığı, ikici boyar madde ilavesinden sonra da renk giderim veriminde belirgin bir değişiklik meydana gelmediği; ısı ile öldürülmüş peletlerin ise ilk boyar madde ilavesinden ( $C_0=264$  mg/L) 24 saat sonra % 71 renk giderim verimi sağladığı ancak peletlere ikinci defa boyar madde ilave edilmesi ile renk giderim veriminin % 41'e düştüğü rapor edilmiştir [101]. Bu gözlemlerin peletlerle renk giderim prosesinin mikrobiyal metabolizmaya bağlı olduğunu gösterdiği belirtilmiştir [101].

#### 2.2.3.2. Biyoakümülyasyon

Biyoakümülyasyon, kirleticilerin aktif olarak büyüyen hücreler tarafından, metabolizmaya ve sıcaklığa bağımlı olmayan ve metabolizmaya bağımlı mekanizma

adımları ile akümülyasyonudur. Literatürde birinci adımda çözünenin hızla yüzeye bağlandığı; ikinci adımda, birinci adımdan daha fazla miktarda çözünenin çok yavaş akümüle olduğu belirtilmektedir [76]. Beyaz çürükçül fungus *Schizophyllum commune*'nin pH 2'de başlangıç derişimleri 100 mg/L olan Acid Orange 7, Acid Red 18, Reactive Black 5 boyar maddelerin akümülyasyona bağlı gideriminde spesifik boya alım kapasitesinin sırası ile 44,23 mg/g, 127,53 mg/g ve 180,17 mg/g olduğu; boyar madde derişiminin 10 mg/L'den 100 mg/L'ye artırılması ile mikroorganizma spesifik üreme hızının boyar madde toksistesinden dolayı azaldığı rapor edilmiştir [102]. *Saccharomyces cerevisiae*'nin Remazole Black B, Remazole Blue ve Remazole Red RB için maksimum biyoakümülyasyon kapasitesinin pH 3'de sırası ile 88,5 mg/g, 84,6 mg/g ve 48,8 mg/g olduğu; boyar madde derişimi artışı ile mikroorganizma spesifik üreme hızının azaldığı rapor edilmiştir [103]. Dönmez [104], 3 farklı reaktif tekstil boyar maddesinin, *Candida tropicalis* ile başlangıç pH ve boyar madde derişimlerine bağlı biyoakümülyasyonunu çalışmıştır. Her 3 boyar madde için de optimum pH'nın 3 olduğu saptanmıştır. Boyar maddelerin düşük derişimlerinde daha yüksek biyoakümülyasyon meydana geldiği ve yüksek boyar madde derişimlerinin maya büyümesini inhibe ettiği ve uyum evresinin uzamasına yol açtığı rapor edilmiştir [104]. Biyosorpsiyondan sonra hücre yüzeyindeki iyonların desorpsiyon ile geri alınabileceği ancak biyoakümülyasyondan sonra geri alınamayacağı rapor edilmiştir [105].

#### 2.2.3.3. Biyolojik parçalanma (Enzimatik renk giderimi)

Enzimatik renk giderim hızının enzim kaynağına ve boyar maddenin kimyasal yapısına bağlı olduğu rapor edilmiştir [106]. Lignin peroksidaz (LiP), Mangan Peroksidaz (MnP) ve Lakkaz, beyaz çürükçül funguslar tarafından sentezlenen ve lignin parçalanmasını sağlayan en önemli enzimlerdir. Bu enzimler, poliaromatik hidrokarbonların (PAH) ve boyar maddelerin parçalanmasında rol oynadığı belirtilmektedir [13]. Peroksidazlarla azo boyar maddelerinin yıkımında, boyar maddenin fenolik grubu oksitlenerek azo bağını taşıyan karbon atomunda radikal oluşumuna yol açtığı, daha sonra su molekülleri ile bu fenolik karbonun girişim yapması sonucu fenildiazen oluştuğu; fenildiazenin bir elektron reaksiyonu



ile oksitlenmesi ile N<sub>2</sub> oluştuğu rapor edilmiştir [20]. Fenolik azo boyar maddelerin lakkaz ile oksidasyonu için de benzer bir mekanizma ileri sũrũlmũřtir [107].

Renk giderimi için hũcre bũyũmesi sırasında sentezlenen metabolik ũrũnlerin kullanımının sũz konusu olduğu durumlarda, ya da boyar madenin yapısını değiştiren enzimlerin miselyuma bağlı olması durumunda, biyokũtle ũretiminin renk giderimi için ȃnemli olduğu belirtilmektedir [108]. *Coriolus versicolor*'un ũrettiđi hũcre dışı oksijenaz enziminin antrokinon yapılı bir boyar madde olan Pigment Violet 12 boyar maddesinin yapısında bulunan karbon-oksijen bağının açılmasına yol açarak renk gideriminin sağlandığı rapor edilmiştir [109]. Unyayar ve ark. [110], geliştirdikleri bir yȃntem ile, Drimarene Blue X3LR boyar maddesinin, *Funalia trogi*i tarafından katı faz fermentasyon koşullarında ũretilen lakkaz enzimi ile giderildiğini saptamışlardır. Shin ve ark. [67], Remazol Brilliant Blue R boyar maddesinin *Pleurotus ostreatus* kũltũr ȃzũtũnde bulunan peroksidaz enzimi ile renk gideriminin sağlandığını rapor etmişleridir. Schliephake ve ark. [111], *Pycnoporus cinnabarinus* beyaz ũrũkũl fungusundan izole edip saflaştırdıkları lakkaz enzimi ile bir diazo boyar maddesi olan Chicago Sky Blue boyar maddesinin parçalandığını rapor etmişleridir. Farklı sentetik kũltũr ortamlarında ve doğal bũyũme ortamlarında *Coriolus versicolor* ve *Funalia trogi*i beyaz ũrũkũl funguslarının lakkaz enzimlerinin ũretiminin değiştiği belirtilmiştir [112]. Sekonder metabolizma enzimleri ile renk gideriminde, mikroorganizmanın sekonder metabolizmaya girme sũresinin ȃnemi de vurgulanmaktadır. *Funalia trogi*i'nin 0 ve 3 gũnlũk misellerin bulunduğu ortamda saptanan enzim aktivitesi ve renk giderim veriminin, 6 gũnlũk misellerin bulunduğu ortamda saptanandan daha dũřũk olduğu rapor edilmiştir [113].

*Dichomitus squalens* ile 0,5 g/L Orange G ya da RBBR için % 0,1 glikoz içeren Kirk ortamındaki renk giderim veriminin % 1 glikoz içeren ortamdaki renk giderim veriminden daha yũksek olduğu, malt extract ortamındaki renk giderim veriminin glikoz derişimi ile değişmediği; RBBR gideriminde her iki ortam için de glikoz derişiminin renk giderim verimini fazla etkilemediği belirtilmiştir. [114]. Mazmancı ve ark. [115], beyaz ũrũkũl fungus *Coriolus versicolor* ile Metilen mavisi boyar maddesinin renk gideriminde glikoz ve NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> derişimlerinin

etkisini araştırmışlar ve ortamdaki C/N oranı 2:1 olduğu zaman en iyi renk gideriminin sağlandığını rapor etmişlerdir [115]. Crystal violet boyar maddesinin, ligninolitik koşullarda *Phanerochaete chrysosporium* tarafından sentezlenen hücre dışı lignin peroksidaz enzimi ile giderilebildiği belirtilirken [116], ligninolitik bir fungus olmayan *Cunninghamella elegans* ile aynı boyar maddenin renk gideriminden hücre içi Sitokrom P450 enzim(ler)'inin rol oynadığı rapor edilmiştir [117]. Canlı hücre enzimleri ile sağlanan renk gideriminde, boyar madde derişimi artışı ile renk giderim hızının artması renk gideriminin Michealis-Menten tipi kinetik modele uygunluğunu gösterdiği [118]; yüksek boyar madde derişimlerinde renk giderim hızının dūřmesinin substrat inhibisyonuna bağlı olduğu rapor edilmiştir [21].

Nigam ve ark. [46], 3 farklı zirai atığın boyar maddeleri adsorplama kapasitesini araştırmışlar, buğday sapı ile mısır koğanının 500 mg/L boyar madde öztelisinde oda sıcaklığında % 70–75 renk giderimi sağlandığını belirtmişlerdir. Adsorpsiyon alışması sonucunda meydana gelen boyar madde adsorplanmış kalıntının *Phanerochaete chrysosporium* ve *Coriolus versicolor* için uygun katı faz fermentasyon substratları oldukları; bu ortamlarda her iki türün de inhibe olmadan üredikleri ve KFF ortamında önemli bir protein artışına yol açtıkları rapor edilmiştir [46]. *Funalia trogii* metanol ekstraktlarının spektrofotometrik incelenmesi, peletlerin 24 saat inkübasyondan sonra peletlerin % 2,6 boyar madde tuttuğunu, bunun da Astrazon Blue boyar maddesinin gideriminin büyük oranda mikrobiyal metabolizmaya bağlı olduğunu gösterdiği rapor edilmiştir [101].

Literatürde, beyaz çürükçül funguslar tarafından sentezlendiği ve boyar madde parçalanmasında görev aldığı belirtilen ligninolitik enzim sistemlerinin (LiP, Lakkaz ve MnP) [110, 119], bazı küf mantarı türleri tarafından da sentezlendiği ve renk gideriminden sorumlu oldukları belirtilirken [120], genellikle bu enzim gruplarının küf mantarlarında rastlanmadığı [68, 78] ya da çok düşük seviyede saptandığı [78, 121] belirtilmektedir. Farklı substratların katı faz fermentasyonu ile *Aspergillus* sp. ve *Penicillium* sp. gibi küf mantarlarının lakkaz, LiP, MnP, katalaz ve fenol oksidaz enzimlerinin üretimini sağlandığını rapor edilmiştir [122]. Soares ve ark. [123], saf *Aspergillus niger* lakkaz enziminin sentezlenen dört farklı boyar

maddeden sadece suda çözünebilir yapıda olan bir tanesini tamamen renksizleştirebildiğini saptamışlardır.

*Aspergillus fumigatus* ve *Aspergillus flavus*'un kağıt ve kağıt hamuru fabrikası çıkış suyunun renk gideriminde, fungal biyokütle yüzeyinde adsorplanmış kromoforlara rastlanmadığı; 0,1 N NaOH ile desorpsiyon işlemi uygulanması sonucunda ortamda çıkış suyunun renkli bileşenlerinin saptanmamasının çıkış suyu renkli bileşenlerinin biyokimyasal olarak parçalandığını gösterdiği belirtilmiştir [120]. Renk giderimi sırasında kültür ortamında MnP, lakkaz ve ksilanaz enzimlerine rastlandığı; ksilanaz enziminin mikrobiyal enerji sağlanmasında, fenoloksidazların da lignin yıkımında görev aldığı rapor edilmiştir [120]. Son zamanlarda elde edilen fizyolojik ve kinetik veriler, canlı maya hücreleri ile azo boyaların parçalanmasında aerobik bir azo redüktaz enzimin rol alabileceğini gösterdiği rapor edilmiştir [124]. Lucas ve ark. [125], hücre dışı oksidatif enzimlerin bulunmadığı ve büyümeye bağlı renk gideriminin sağlandığı kesikli kültürlerdeki renk gideriminde, azo bağının açılmasının azoredüktaz enzimi ile katalizlendiği belirtilmiştir. *Candida zeylanoides* [126] ve *Issatchenkia occidentalis* [124] ile renk gideriminde, sorumlu enzim azoredüktaz olarak kabul edilmiştir.

*Adsorpsiyon ve biyolojik parçalanmanın bir arada gözlemlendiği renk giderimi:* Farklı maya türlerinin Reactive Brilliant Red K-2BP boyar maddesinin giderimi sırasında önce kırmızı görüldükleri inkübasyon süresinin uzatılması ile renksizleştiği; renk gideriminin adsorpsiyonu takip eden biyolojik parçalanma ile sağlandığı rapor edilmiştir [127]. Dong ve ark. [72], Direct Black 22 boyar maddesinin *Aspergillus ficuum* fungusu ile renk giderimini araştırmışlar; fungusun pelet şeklinde misel oluşturduğu zaman renk giderim yüzdesinin arttığı; 50 mg/L boyar madde içeren ortamda 24 saatte % 98,05 renk gideriminin sağlandığını rapor etmişlerdir. UV-Visible spektrofotometrik ölçümler ve makroskobik gözlemler sonucunda Direct Black 22 boyar maddesinin miselyum peletleri ile renk gideriminde biyoadsorpsiyon ve biyolojik parçalanmanın rol oynadığı sonucuna varılmıştır [72]. Sıvı ortamda Poly R-478 ve Poly S-119 boyar maddelerini renksizleştiren bir *Penicillium* suşu izole edildiği; sıvı ortam olarak Schenk and

Hildebrandt-K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (SHK), Potato Dextrose Broth (PDB) ve Half Murashige-Skoog ortamı (HMS) kullanılan bu çalışmada, fungusun R-478 boyar maddesini SHK ortamında adsorpsiyonla; HMS ve PDB ortamlarında ise önce miselyuma adsorbılarak daha sonra miselyuma adsorulanmış boyar maddenin parçalanmasıyla ortamdan giderildiği, Poly S-119 boyar maddesinin ise her üç ortamda da miselyuma adsorpsiyonu takip eden biyolojik parçalanma ile ortamdan uzaklaştırıldığı ve renk gideriminin ortam içeriği ile ilgili olabileceği rapor edilmiştir [128]. Başlangıç Astrazon Red derişimi 50 mg/L olan Stok bazal ortama *Funalia trogii* sporları aşlandıktan 24 saat sonra belirgin bir renk giderimi saptanamadığı, ancak 5. günün sonunda boyar maddenin tamamen giderildiği; boyar madde derişiminin 150 ve 250 mg/L'ye artırılması ile büyümenin ve renk gideriminin inhiye olduğu; 4 günlük *Funalia trogii* peletleri kullanıldığında ise 264 mg/L boyar maddenin 24 saatte % 98 verimle giderilebildiği rapor edilmiştir [129]. Araştırmacılar, başlangıçta peletlere adsorplanan boyar maddenin daha sonra parçalandığını belirtmişlerdir [129]. *Debaryomyces polymorphus*, *Candida tropicalis* maya türleri ve *Umbelopsis isabellina* küf mantarı ile Reaktif Black 5 boyar maddesinin giderimi sırasında hücrelerin önce koyu mavi, daha sonra pembe ve en sonunda tamamen renksiz oldukları gözlenmiş, Reaktif Black 5'in maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyunun 596 nm'den 527 nm'ye kaymasının renk gideriminde biyosorpsiyon ve biyotransformasyon mekanizmalarının yer aldığını gösterdiği rapor edilmiştir [78]. Adsorpsiyona bağlı renk gideriminde, boyar madde spektrumunda tüm piklerin birbirine orantılı olarak azaldığı; biyolojik parçalanmaya bağlı renk gideriminde ise boyar maddenin yapısındaki bozulmaya bağlı olarak ya boyar maddenin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyundaki pikin tamamen kaybolduğu ya da yeni bir pik oluşumu gözlendiği rapor edilmiştir [72].

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. MATERYAL

##### 3.1.1. Mikroorganizma

Çalışmada kullanılan *Aspergillus oryzae* saf kültürleri (liyofilize) Mersin Üni. Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünden (TÜBİTAK MAM Kültür Koleksiyonu) sağlanmıştır. Sabouraud Dextrose Agar (SDA) besiyerlerine ekim yapıp inkübatörde (Membert, BE-400), 30°C’de inkübe edilerek kültürler hazırlanmıştır. Kültürlerin devamlılığı, SDA besiyerlerine periyodik pasajlarla sağlanmıştır.

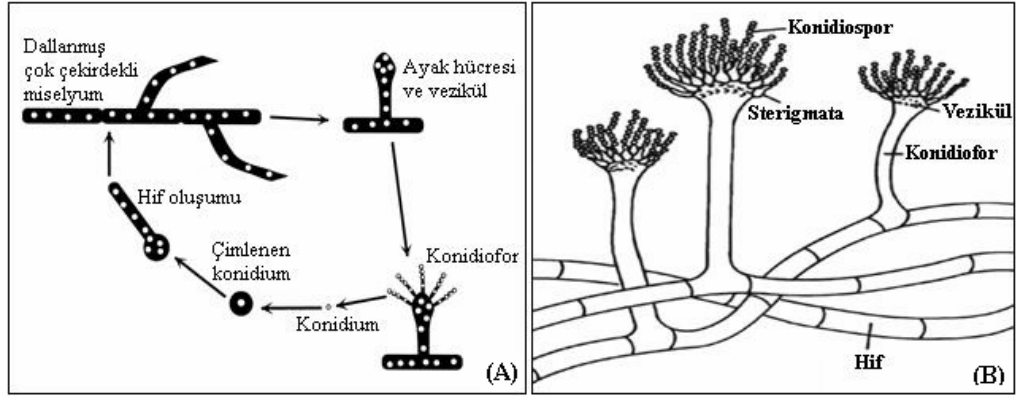
*Aspergillus* genusu türleri dünyada çok geniş bir yayılım sahasına sahiptir. Sporları havada ve toprakta bol miktarda bulunmaktadır. *Aspergillus* genusunun hem eşeyli hem eşeysiz üreme yapısına sahip türleri mevcuttur. Eşeyli üreme yapısı saptanan türleri *Ascomycota* filumunda “*Eurotium*” genusu altında incelenmektedir. Eşeyli üreme yapısı saptanamayan türler ise *Deuteromycota* filumunda “*Aspergillus*” form genusu altında incelenmektedir. Ancak *Aspergillus* adı çok yaygın olduğundan *Ascomycota* filumunda incelenen örnekler için de aynı ad kullanılmaktadır. Gıda endüstrisinde, soya sosu, sake ve miso gibi fermentasyon ürünlerinin üretiminde “koji küfü” olarak bilinmektedir. *A. oryzae*’nin amilaz, proteaz,  $\beta$ -galaktosidaz, lipaz, ve selüloz enzimleri fermentasyonu sağlamaktadır. *A. oryzae* ile *A. flavus*’un benzer türler olduğu düşünülmesine rağmen *A. flavus*, ürettiği aflotoksinlerden dolayı günümüzde gıda endüstrisinde kullanılamamaktadır. Kurtzman ve ark. [131] *A. oryzae*’nin, yapay koji fermentasyon ortamına adaptasyonu sonucu *A. flavus*’un alt türü olarak meydana geldiğini rapor etmiştir. *Aspergillus oryzae*’nin filogenetik taksonomisi Çizelge 3.1’de verilmektedir.

Çizelge. 3.1. *A. oryzae*'nin E. Cohn [132]'a göre filogenetik taksonomisi

Alem	Fungi
Filum	Ascomycota
Alt Filum	Pezizomycotina
Sınıf	Eurotiomycetes
Takım	Eurotiales
Familya	Trichocomacea
Cins	<i>Aspergillus</i>
Tür	<i>oryzae</i>
Sinonim	<i>Eurotium oryzae</i>

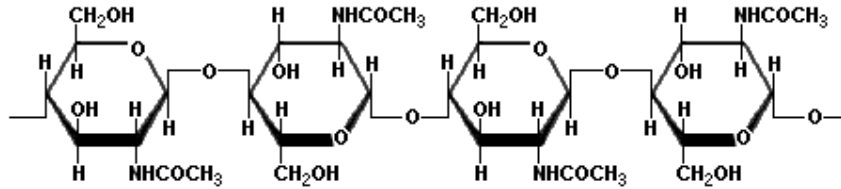
*Aspergillus* türleri ışık mikroskopunda incelendiği zaman iplik şeklinde yapılardan oluştuğu görülür. Birkaç hücreden oluşan küçük iplikkiklerden her birine hif (hyphae) adı verilmektedir. Bir türe ait bir yerde bulunan hiflerin tümüne birden misel (mycelium) adı verilmektedir. Hücreler septum adı verilen bölmelerle birbirlerinden ayrılırlar (Şekil 3.1.b). Spor, fungus büyümesinin başlangıcı ve sonu olarak tanımlanmaktadır. Fungal sporun, uygun çevre koşullarında, çimlendiği belirtilmektedir. Çimlenen hücre büyüyerek ipliksi yapıdaki hifi meydana getirmektedir. Hifler belirli büyüklüğe ulaştıktan sonra genellikle dallanmaktadır. Katı ortamda miselyum belirli olgunluğa ulaştığı zaman miselyum üzerinde konidioforlar meydana gelerek konidiosporları üretmektedir (Şekil 3.1.a). Sıvı ortamda, fungal büyüme, filamentli büyüme ya da pelet oluşumu şeklinde gözlenebilmektedir. Hücre büyümesi ve şekli, ortama aşılana spor miktarı ve tipi, çalkalama hızı, ortam bileşenleri ve ortam pH'sı ile değişiklik gösterebilmektedir [132].

*A. oryzae* konidiosporları yeşil renkli olup boyar madde içermeyen ortamda meydana gelen peletlerin "krem renginde" olduğu gözlenmiştir.

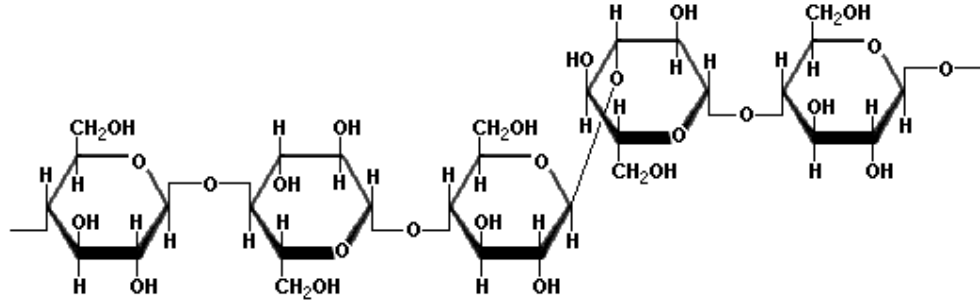


Şekil 3.1. *Aspergillus* genusuna ait türlerin eşeysiz üreme evrelerinin genel şematik gösterimi (A) ve bu yapıların genel şematik görünümü (B).

Fungal hücre duvarının temel yapı taşının *N*-astil glikozamin polimeri olan kitin olduğu [133]; fungal hücre duvarı kuru ağırlığının yaklaşık % 80-90'ının polisakkaritlerden meydana geldiği, geri kalan kısmın büyük çoğunluğunu protein ve lipidlerin meydana getirdiği belirtilmektedir. Kitin ve  $\beta$ -glukan'ın *Aspergillus* cinslerinde hücre duvarı polisakkarit içeriğini oluşturduğu belirtilmektedir [134]. Kitin ve  $\beta$ -Glukan'ın kimyasal yapıları sırası ile Şekil 3.2 ve 3.3'de gösterilmektedir.



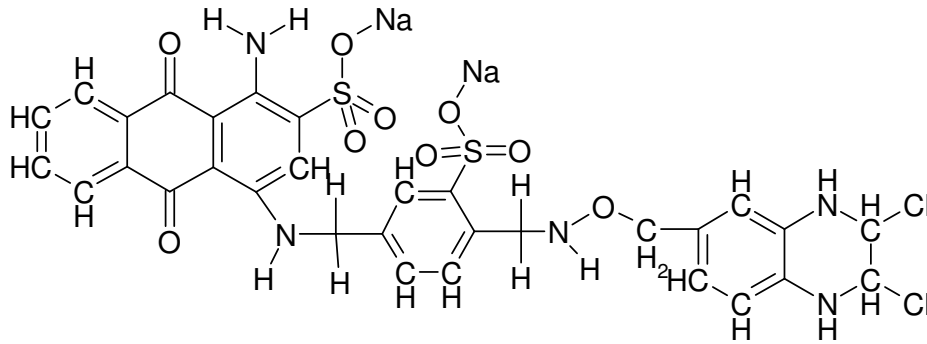
Şekil 3.2. *Aspergillus sp.* hücre duvarı yapısında bulunan kitinin kimyasal yapısı.



Şekil 3.3. *Aspergillus sp.* hücre duvarı yapısında bulunan  $\beta$ -Glukan'ın kimyasal yapısı.

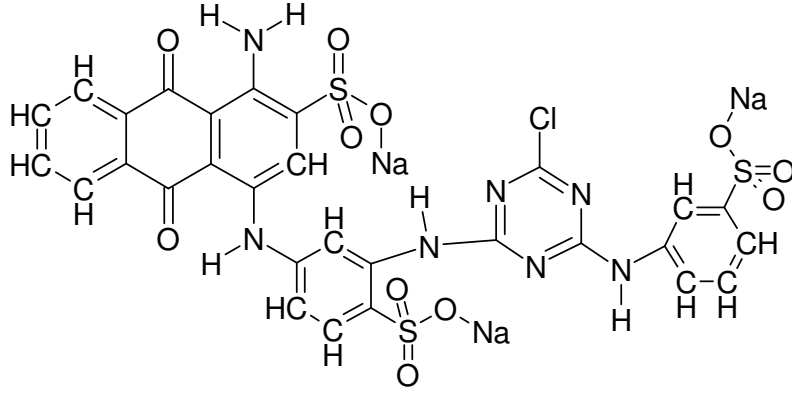
### 3.1.2. Boyar Madde

Çalışmada kullanılan LB ve CB Çukurova tekstil fabrikasından sağlanmıştır. Şekil 3.4'de ve Şekil 3.5'de gösterildiği gibi LB ve CB antrakinon yapılu boyar maddelerdir. Taşıdıkları  $\text{SO}_3^-$  ve  $\text{Cl}^-$  grupları boyar maddelere "reaktif" olma özelliği kazandırmaktadır.



Şekil 3.4. LB (Reactive Blue 29) (Moleküler Ağırlığı = 792,59 g/mol ; Moleküler Formülü =  $\text{C}_{31}\text{H}_{25}\text{O}_9\text{N}_5\text{S}_2\text{Na}_2\text{Cl}_2$  ; Moleküler Kompozisyonu = % 46,98 C; % 3,18 H; % 8,95 Cl; % 8,84 N; % 5,80 Na; % 18,17 O; % 8,09 S)





Şekil 3.5. CB (Reactive Blue 235) (Moleküler Ağırlığı = 840,11 g/mol; Moleküler Formülü =  $C_{29}H_{17}O_{11}N_7S_3Na_3Cl$  ; Moleküler Kompozisyonu = % 41,46 C; % 2,04 H; % 4,22 Cl; % 11,67 N; % 8,21 Na; %20,95 O; % 11,45 S)

## 3.2. METOT

### 3.2.1. Materyallerin Renk Giderim Çalışmalarına Hazırlanması

#### 3.2.1.1. Mikroorganizmanın renk giderim çalışmalarına hazırlanması

*Spor süspansiyonunun hazırlanması:* 50 mL % 0,9'luk NaCl (Fizyolojik Tuz Solüsyonu) çözeltisi ve % 1'lik tween 80 çözeltisi (1 mL tween 80 + 99 mL distile su) hazırlanıp ayrı ayrı steril edilmiştir. Normal tuz çözeltisi (50 mL) üzerine % 1 tween 80 çözeltisi (1 mL) ilave edildi. *A. oryzae*'nin 5 günlük yatık agar kültürü üzerine 6 mL normal saline - tween 80 karışımı ilave edilip karıştırıldıktan sonra steril cam pamuğundan süzülerek miseller uzaklaştırılarak stok spor süspansiyonu hazırlanmıştır [135]. Stok spor süspansiyonu renk giderim çalışmalarında, peletlerin hazırlanmasında ve inaktif mikroorganizma stok çözeltisinin hazırlanmasında kullanılmıştır.

Spor süspansiyonunun homojen olup olmadığını saptamak ve mL'deki spor sayısını belirlemek için hazırlanan farklı seyreltmelerdeki spor süspansiyonlarında Thoma Lamı ile spor sayımı yapılmıştır. Spor sayımı için seyreltilmiş spor

süspansiyonlarının 650 nm'deki absorbanları saptanmıştır [93]. Absorbans ve spor sayısı arasındaki ilişkiyi gösteren standart eğri hazırlanmıştır.

*Miselyum peletlerinin hazırlanması: A. oryzae* büyümesi için besin ortamı hazırlanıp otoklavda 121°C, 1,2 atm. basınçta 15 dakika steril edilmiştir. Besin ortamı içeriği Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Besin ortamı içeriği

Maddenin Adı	Miktarı (g/L)
Glikoz (C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>6</sub> )	10,0
Amonyum dihidrojen fosfat (NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	1,0
Potasyum didihidrojen fosfat (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )	0,5
Magnezyum sülfat (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	0,5
Kalsiyum klorür (CaCl <sub>2</sub> )	0,1

Besin ortamı pH'sı 1 M NaOH ve derişik HCl kullanılarak ayarlanmıştır. Hazırlanan stok spor süspansiyonundan besin ortamına 5x10<sup>7</sup> adet spor aşlanıp çalkalamalı inkübatörde (L.H.E. Engineering) inkübe edilerek miselyum peletlerinin gelişimi sağlanmıştır.

*İnaktif hücrelerin hazırlanması:* Çalkalamalı inkübatörde oluşturulan miselyum peletleri (4 günlük) büyüme ortamının filtrelenmesiyle ortamdan ayrılarak saf su ile yıkanmıştır. 105 °C'de 24 saat kurutma işlemi ile hücreler inaktive edilmiştir. İnaktif mikroorganizmanın stok çözeltisini hazırlamak için 10 g inaktif hücre tartılıp 1000 mL saf suda 24 saat bekletilerek hücrelerin şişmesi sağlanmıştır. Daha sonra blenderde parçalanarak homojen stok inaktif mikroorganizma çözeltisi (10 g/L) hazırlanmıştır. Biyosorpsiyon çalışmalarında farklı biyosorbent derişimleri elde etmek için stok inaktif mikroorganizma çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılmıştır.

### 3.2.1.2. Boyar maddelerin renk giderim çalışmalarına hazırlanması

Aktif hücrelerle renk giderim çalışmaları için toz haldeki LB ve CB'nin 2 g/L derişimi sağlayacak miktarları saf suda çözülmüştür. Hazırlanan stok boyar madde çözeltisi 121 °C, 1,2 atm'de 15 dk. otoklavlanarak steril edilmiştir. İnaktif hücrelerle renk giderim çalışmaları için toz haldeki LB ve CB'nin 1 g/L derişimi sağlayacak miktarları distile suda çözümlenerek stok boyar madde çözeltileri hazırlanmıştır.

### 3.2.2. LB ve CB Boyalarının Aktif *Aspergillus oryzae* ile Gideriminde Optimum Ortam Koşullarının Belirlenmesi

Steril edilmiş besin ortamına steril koşullarda istenilen derişimi sağlayacak miktarda stok boyar madde çözeltisi ilave edilerek 250 mL'lik erlenlerde 80 mL boyalı ortamlar hazırlanmıştır. Ortamlara fungal spor aşılama ve erlenler sabit sıcaklık ve çalkalama hızında çalışabilen 25 erlen kapasiteli çalkalayıcıda çalkalanmıştır. Pelet oluşumunun gözlemlendiği inkübasyonun 24. saatinden sonra belirli aralıklarla örnek alınarak santrifüj işlemi ile (6000 rpm, 15 dk.) katı kısım sıvı kısımdan ayrılmış; sıvı kısımda ortamda adsorplanmadan kalan boya derişimi ve pH tayin edilerek, boyar madde giderimi ve ortam pH'sının değışimi; katı kısımda KMA tayin edilerek mikroorganizma gelişimi takip edilmiştir. Çalışmalarda boyar madde ilave edilmeyen ya da spor aşılama ortamları kontrol olarak kullanılmıştır.

#### 3.2.2.1. Başlangıç pH'sının etkisi

Başlangıç pH'ları 3,00; 4,00; 5,00 ve 6,00'ya ayarlanmış besin ortamı içeren erlenler stok boya çözeltilerinden  $50 \pm 3$  mg/L derişimi sağlayacak miktarda boya ilavesinden ve  $5 \times 10^7$  adet fungal spor aşılama sonrasında 30 °C'de, 150 rpm çalkalama hızında 96 saat çalkalanmıştır.

### 3.2.2.2. Sıcaklığın etkisi

Başlangıç pH'sı 5'e ayarlanmış besin ortamı içeren erlenler, stok boya çözeltilerinden  $50\pm 3$  mg/L derişimi sağlayacak miktarda boya ilavesinden ve  $5\times 10^7$  adet fungal spor aşılmasından sonra farklı sıcaklıklarda (25°C, 30 °C, 35 °C ve 40 °C) ve 150 rpm çalkalama hızında 96 saat çalkalanmıştır.

### 3.2.2.3. Başlangıç boyar madde derişiminin etkisi

pH'sı 5'e ayarlanmış besin ortamına steril stok boyar madde çözeltilerinden 25–200 mg/L arasında değişen farklı derişimleri sağlayacak miktarda ilave edildikten sonra  $5\times 10^7$  adet fungal spor aşılarak başlangıç boyar madde derişiminin mikroorganizma büyümesi ve renk giderimi üzerine etkisi saptanmıştır. Ortamlar, 30 °C'de ve 150 rpm çalkalama hızında 120 saat çalkalanmıştır.

### 3.2.2.4. Başlangıç spor derişiminin etkisi

Başlangıç pH'sı 5'e ayarlanmış besin ortamına  $50\pm 3$  mg/L başlangıç derişimini sağlayacak boyar madde ilave edilmiştir. Farklı derişimlerde ( $1,0\times 10^7$ ;  $2,5\times 10^7$ ;  $5,0\times 10^7$ ;  $1,25\times 10^8$ ;  $2,5\times 10^8$  adet/mL) fungal spor aşılana ortamlar 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızında 48 saat inkübe edilerek başlangıç spor derişiminin renk giderimi üzerine etkisi saptanmıştır.

### 3.2.2.5. Çalkalama hızının etkisi

Başlangıç pH'sı 5'e ayarlanmış besin ortamına  $50\pm 3$  mg/L başlangıç derişimini sağlayacak boyar madde ilave edilmiştir.  $5\times 10^7$  adet fungal spor aşılana boyalı ortamlar 30 °C'de ve farklı çalkalama hızlarında (100 rpm, 125 rpm, 150 rpm, 175 rpm) inkübe edilerek çalkalama hızının renk giderimi üzerine etkisi belirlenmiştir.

### 3.2.2.6. Ortam bileşenlerinin etkisi

1 g/L ve 15 g/L arasında değişen farklı miktarlarda glikoz ve  $50 \pm 4$  mg/L boyar madde içeren ortamlara  $5 \times 10^7$  adet fungal spor aşılansarak 30 °C ve 150 rpm çalkalama hızında 72 saat inkübe edilerek glikoz miktarının renk giderimi üzerine etkisi belirlenmiştir. 10 g/L glikoz ve 0,1–2,0 g/L arasında değişen farklı miktarlarda amonyum dihidrojen fosfat ve  $50 \pm 5$  mg/L boyar madde içeren ortamlara  $5 \times 10^7$  adet fungal spor aşılansarak 30 °C’de ve 150 rpm çalkalama hızında 72 saat inkübe edilerek amonyum dihidrojen fosfat miktarının renk giderimi üzerine etkisi belirlenmiştir.

### 3.2.2.7. Biyokütle yaşının etkisi

Başlangıç pH’ı 5’e ayarlanmış besin ortamına  $5 \times 10^7$  adet spor aşılansarak 30 °C’de çalkalamalı koşullarda (150 rpm) 24, 36, 48, 60, 72, 84, 96 saatlik peletler elde edilmiştir. Peletlerin büyüdüğü ortamlara steril edilmiş stok boyar madde çözeltilerinden  $50 \pm 3$  mg/L derişimi sağlayacak miktarlarda ilave edilerek 30 °C’de 150 rpm çalkalama hızında 24 saat inkübe edilmiştir.

### 3.2.3. LB ve CB Boyalarının İnaktif *Aspergillus oryzae* ile Gideriminde Optimum Ortam Koşullarının Belirlenmesi

Biyosorpsiyon çalışmaları sabit sıcaklık ve çalkalama hızında çalışabilen çalkalayıcıda gerçekleştirilmiş, bunun için 100 mL çalışma hacimli 250 mL’lik erlenler kullanılmıştır. Çalışmanın başlangıcında istenen derişimde boya çözeltisi ile istenen derişimde mikroorganizma çözeltisi hazırlansarak her bir çözeltilinin başlangıç pH’sı derişik ve seyreltik  $H_2SO_4$  ve NaOH ile istenilen değere ayrı ayrı ayarlanmıştır. Daha sonra  $t=0$  anında mikroorganizma çözeltisi boya içeren erlenlere aktarılansarak sabit hız ve sıcaklıkta çalışan çalkalayıcıda çalkalanmıştır. 2 saatlik deney süresinde belirli zaman aralıklarında (0,5; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 30,0; 45,0; 60,0; 90,0 ve 120,0 dakikalarda) örnekler alınansarak; santrifüj işlemi (6000 rpm, 5 dk.) ile katı kısım sıvı kısımdan ayrılmış; sıvı kısım adsorplanmadan kalan boya derişimi tayin edilmiştir.

Çalışmalarda inaktif mikroorganizma aşılammış ortamlar kontrol olarak kullanılmıştır. LB ve CB'nin inaktif hücreler ile biyosorpsiyonu karşılaştırmalı incelenmiştir.

#### 3.2.3.1. pH'nın etkisi

Başlangıç pH'ları 2,00 ve 5,00 arasında değişen, 100±5 mg/L boya çözeltilerine, pH'sı ilave edileceği boya çözeltisi ile aynı olan stok mikroorganizma çözeltilisinden 10 mL ilave edilmiştir. Erlenler 30 °C ve 150 rpm çalkalama hızında 2 saat çalkalanmıştır.

#### 3.2.3.2. Sıcaklığın etkisi

Boya çözeltisi (100±5 mg/L) ve 10 mL (1 g/L) stok mikroorganizma çözeltilerinin pH'ları 2'ye ayarlanarak bir araya getirilmiş; 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C ve 45 °C sıcaklıklarda ve 150 rpm çalkalama hızında çalkalanmıştır.

#### 3.2.3.3. Başlangıç boyar madde derişiminin etkisi

pH'ları 2'ye ayarlanmış 25–210 mg/L arasında değişen farklı derişimlerde boyar madde çözeltilerine, pH'ı 2'ye ayarlanmış stok mikroorganizma çözeltilisinden 10'ar mL ilave edilmiştir. Erlenler 30 °C'de 150 rpm çalkalama hızında çalkalanmıştır.

#### 3.2.3.4. Çalkalama hızının etkisi

Boya çözeltisi (100±5 mg/L) ve 10 mL (1 g/L) stok mikroorganizma çözeltilerinin pH'ları 2'ye ayarlanarak bir araya getirilmiş; 30 °C'de, 100 rpm, 125 rpm 150 rpm, 175 rpm ve 200 rpm çalkalama hızlarında çalkalanmıştır.

### 3.2.3.5. Biyokütle (adsorbent) derişiminin etkisi

pH'ları 2'ye ayarlanmış 100±5 mg/L boya çözeltilerine pH'ları 2'ye ayarlanmış olan stok inaktif mikroorganizma çözeltilisinden 5–30 mL arasında değişen miktarlarda (0,5–3,0 g/L) ilave edilmiştir. Erlenler 30 °C ve 150 rpm çalkalama hızlarında inkübe edilmiştir.

### 3.2.4. LB ve CB Boyalarının Aktif *A. oryzae* ile Gideriminde Tekrar Kullanımının Belirlenmesi

pH'sı 5'e ayarlanmış besin ortamına  $5 \times 10^7$  adet spor aşılıp 30 °C ve 150 rpm çalkalama hızında inkübe edilerek 96 saatlik peletler elde edilmiştir. Peletlerin büyüdüğü ortama 24 saatlik periyotlarla 5 kademede, steril edilmiş stok boyar madde çözeltilerinden, 50±4 mg/L derişimi sağlayacak miktarda ilave edilmiştir. Her boya ilavesinden 24 saat sonra ortamdan örnek alınarak ortamda kalan boya derişimi saptanmıştır. Örnek alındıktan hemen sonra aynı ortama boya ilavesi yapıp yeniden örnek alınmış ve ortamlardaki boyar madde derişimi saptanmıştır. Ortamda hacim değişiminin önlenmesi amacıyla, her kademede ortamdan alınan toplam örnek hacmi ile ortama ilave edilen boya çözeltilisi hacimlerinin eşit olmasına dikkat edilmiştir.

### 3.2.5. Denge Çalışmaları

İnaktif *A. oryzae* ile farklı sıcaklıklarda (20 °C, 25 °C, 30 °C ve 40 °C), 25–210 mg/L başlangıç boya derişimlerinde deneyler tekrarlanarak; dengede adsorplanmış boya miktarı ile ortamda kalan boya derişimi belirlenmiştir. Ayrıca, aktif *A. oryzae* ile 30 °C ve 25–200 mg/L başlangıç boya derişimlerinde dengede adsorplanmış boya miktarı ile ortamda kalan boya derişimleri belirlenmiştir.

### 3.2.6. Desorpsiyon Çalışmaları

#### 3.2.6.1. LB ve CB boyalarının aktif *A. oryzae*'den desorpsiyonunun incelenmesi

Maksimum renk gideriminin sağlandığı optimum koşullarda renk giderimi sağlandıktan ve peletler saf su ile yıkandıktan sonra desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Farklı oranlarda (% 25, % 50, % 100) farklı çözücüler (aseton, metanol, etanol, kloroform) ve 1:1:1 (v/v) oranında metanol:kloroform:su karışımı desorpsiyon çalışmalarında kullanılmıştır. Organik çözücülerin yanı sıra 0,1 N HCl ve farklı derişimlerde NaOH (0,025 N; 0,05 N; 0,1 N ve 0,5 N) boyar madde desorpsiyonu için denenmiştir. Boyar madde adsorplanmış peletler steril koşullarda steril boş erlenlere alınarak yukarıda belirtilen maddeler ilave edilmiştir. Çözücü ilave edildikten sonra erlenlerin bir kısmı çalkalamalı inkübatöre yerleştirilerek desorpsiyon işlemi başlatılmış bir kısmı ise homojenize edildikten sonra çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiştir. Desorpsiyon işlemine 150 rpm'de 48 saat süreyle devam edilmiştir. Bu süre sonunda erlenler çalkalamalı inkübatörden çıkarılarak ortam hacimleri ölçülmüş ve saf su ile 80 mL'ye tamamlanmıştır. Erlenlerden alınan örnekler santrifüjlenerek renk analizi yapılmıştır.

#### 3.2.6.2. LB ve CB boyalarının inaktif *A. oryzae*'den desorpsiyonunun incelenmesi

Maksimum renk gideriminin sağlandığı optimum biyosorpsiyon sağlandıktan sonra, biyosorpsiyon ortamı santrifüjlenerek LB ve CB adsorplanmış inaktif mikroorganizma ayrılmıştır. Biyosorbente bağlanmadan kalan boyanın uzaklaştırılması amacı ile ortama 3 defa saf su ilave edilip santrifüj işlemi tekrarlanarak yıkama işlemi tamamlanmıştır. Boyar madde adsorplanmış inaktif mikroorganizma yıkama işleminden sonra teflon tavalara alınarak 65 °C'de 12 saat etüvde kurutulmuştur. LB ve CB adsorplanmış kuru mikroorganizmalardan 5'er gram tartılıp 500 mL saf suda 1 gece bekletildikten sonra blenderde parçalanarak boya adsorplanmış stok mikroorganizma çözeltisi hazırlanmıştır. 45 mL desorpsiyon için



kullanılan madde içeren erlenlere 5 mL boya adsorplamış stok mikroorganizma çözeltilisinden ilave edilerek desorpsiyon işlemi başlatılmıştır. % 50 aseton, % 50 metanol, % 50 etanol, % 50 kloroform, 0,10 N HCl ve 0,05 N; 0,10 N; 0,50 N; 1,00 N NaOH boyar madde desorpsiyonu için denenmiştir. Erlenler çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiş ve 150 rpm çalkalama hızında 1 saat boyuca desorpsiyon işlemine devam edilmiştir. 1 saat sonunda erlenler çalkalamalı inkübatörden çıkarılıp santrifüjlenmiştir. Organik çözücülerin bulunduğu ortamlar deney tüplerinde toplanmıştır (5'er mL olacak şekilde). Boyar madde çözücü karışımı 65 °C'de 3 saat bekletilerek çözücü ortamdan uzaklaştırılmıştır. Geriye kalan hacim saf su ile 5 mL'ye tamamlanıp ortamdaki boyar madde konsantrasyonu ( $C_{des}$ ) spektrofotometrik olarak saptanmıştır. NaOH ve HCl içeren ortamlarda santrifüj işleminden sonra ortamdaki boyar madde konsantrasyonu belirlenmiştir ( $C_{des}$ ). Ayrıca, boyar madde adsorplamış stok mikroorganizma çözeltisi hazırlanırken suya geçen boyar madde derişimini hesaplamak amacı ile stok çözeltiden 5 mL alınıp üzerine 45 mL saf su ilave edilip santrifüj işlemi uygulandıktan sonra boyar madde derişimi saptanmıştır ( $C_{dsu}$ ).

### 3.2.7. Analiz Yöntemleri

#### 3.2.7.1. Boyar madde derişiminin tayini

LB ve CB'nin maksimum absorbans gösterdiği dalga boyu 200–800 nm aralığında alınan absorpsiyon spektrumuyla spektrofotometrik (U.V. Visible 160A, Shimadzu) olarak tespit edilmiştir. LB ve CB çözeltileri kullanılarak farklı boyar madde derişimlerini sağlayacak seyreltmeler yapılmış ve derişimleri bilinen boyar madde çözeltilerinin, boyar maddenin maksimum absorpsiyon verdiği dalga boyundaki (sırası ile 598 nm ve 609 nm) absorbansları spektrofotometrik olarak tespit edilerek absorbansa karşı derişimin gösterildiği standart eğriler hazırlanmıştır. Farklı pH değerlerinde hazırlanan boyar madde çözeltileri için farklı standart eğriler hazırlanmıştır. Boyar madde derişimi, spektrofotometrik yöntemle LB ve CB'nin maksimum absorbans gösterdiği dalga boylarındaki (sırası ile 598 nm ve 609 nm) absorbans belirlenip standart eğriye göre derişim hesabı yapılarak saptanmıştır.

### 3.2.7.2. Kuru misel ağırlığı (KMA) tayini

Renk giderim ortamından filtre kağıdından süzülerek ayrılan miseller sabit ağırlığa gelinceye kadar 65 °C’de kurutulup tartılmıştır [100].

### 3.2.7.3. pH analizi

pH analizleri, Hana 8521 marka pH metre kullanılarak yapılmıştır.

### 3.2.8. Verilerin Değerlendirilmesi

#### 3.2.8.1. Optimum koşulların belirlenmesi

Aktif hücrelerle LB ve CB giderimi için farklı başlangıç pH’sı, sıcaklık, başlangıç boya derişimi, başlangıç spor miktarı, glikoz ve amonyum dihidrojen fosfat derişimleri, karıştırma hızları ve biyokütle yaşlarında elde edilen veriler değerlendirilerek aktif *A. oryzae* ile giderilen boya miktarları, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları ve giderim yüzdeleri aşağıdaki formüller kullanılarak belirlenmiş, biyosorpsiyon için en uygun ortam koşulları saptanmıştır.

*Aktif A. oryzae ile giderilen boyar madde miktarının ( $C_g$ ) hesaplanması*

$$C_g = C_0 - C_t \quad (3.1)$$

*Birim aktif A. oryzae kütlelerinde giderilen boya miktarının ( $q$ ) hesaplanması*

$$q = \frac{C_0 - C_t}{(KMA)_t} \quad (3.2)$$

*Aktif A. oryzae ile renk giderim veriminin hesaplanması*

$$\text{Renk giderim verimi (\%)} = \frac{C_0 - C_t}{C_0} \times 100 \quad (3.3)$$

Aktif hücrelerle renk gideriminde, farklı başlangıç boyar madde, glikoz ve amonyum dihidrojen fosfat derişimlerinin *A. oryzae* büyüme hızı üzerine etkisini saptamak amacı ile, eşitlik 3.4'e uygun olarak, zamana karşı ln X grafiğı oluşturulup, grafiğın eğiminden spesifik büyüme hızı ( $\mu$ ) belirlenmiştir.

$$\mu = \frac{1}{X} \times \frac{dX}{dt} \quad (3.4)$$

İnaktif hücrelerle LB ve CB giderimi için farklı başlangıç pH'sı, sıcaklık, başlangıç boya derişimi, başlangıç biyosorbent derişimi ve karıştırma hızlarında elde edilen veriler değerlendirilerek inaktif *A. oryzae*'nin biyosorpsiyon kapasiteleri aşağıdaki formüle göre ve renk giderim yüzdeleri eşitlik 3.3'e göre belirlenmiş, boyar madde giderimi için en uygun ortam koşulları saptanmıştır.

*İnaktif A. oryzae'nin biyosorpsiyon kapasitesinin hesaplanması*

$$q = \frac{C_0 - C_t}{X_0} \quad (3.5)$$

3.2.8.2. LB ve CB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde tekrar kullanımının belirlenmesi

Peletlerin büyüdüğü ortama 24 saatlik periyotlarda boyar madde ilave edildikten sonra ve boya ilavesinden 24 saat sonra elde edilen veriler kullanılarak,

her kademedeki giderim verimleri eşitlik 3.3'e göre belirlenmiştir. Ayrıca, her boyar madde ilavesinden sonra, ortama ilave edilen boya miktarı ile önceki kademelerde ilave edilen boya miktarlarının toplamı belirlenip toplam renk giderim verimi eşitlik 3.6'ya göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam renk giderim verimi (\%)} = \frac{\sum C_0 - C_t}{\sum C_0} \times 100 \quad (3.6)$$

#### 3.2.8.3. İzotermlerin oluşturulması

Farklı başlangıç sıcaklık değerlerinde Langmuir ve Freundlich izotermleri oluşturularak, LB ve CB boyasının inaktif *A. oryzae*'ye biyosorpsiyonunun adsorpsiyon izotermlerine uygunluğu belirlenmiştir. LB ve CB için izotermlerin doğrusal formları kullanılarak farklı sıcaklıklardaki Langmuir izoterm sabitleri ( $Q^0$  ve  $b$ ) ve Freundlich izoterm sabitleri ( $K_f$  ve  $n$ ) belirlenmiştir. Ayrıca, 30 °C'de Langmuir ve Freundlich izotermleri oluşturularak, LB ve CB boyasının aktif *A. oryzae*'ye biyosorpsiyonunun adsorpsiyon izotermlerine uygunluğu belirlenmiştir. LB ve CB için izotermlerin doğrusal formları kullanılarak 30 °C'deki Langmuir izoterm sabitleri ( $Q^0$  ve  $b$ ) ve Freundlich izoterm sabitleri ( $K_f$  ve  $n$ ) belirlenmiş; aktif ve inaktif *A. oryzae* için 30 °C'deki veriler karşılaştırılmıştır.

#### 3.2.8.4. Serbest enerji değişiminin hesaplanması

LB ve CB boyalarının *A. oryzae*'ye biyosorpsiyonunda farklı sıcaklıklarda elde edilen denge verileri değerlendirilerek prosese ait serbest enerji değişimi hesaplanmıştır.

### 3.2.8.5. Desorpsiyon verilerinin değerlendirilmesi

Optimum koşullarda aktif *A. oryzae*'ye boya adsorpsiyonundan sonra ortamda kalan boyar madde miktarı belirlenmiş ve eşitlik 3.1 kullanılarak giderilen boyar madde miktarı ( $C_g$ ) saptanmıştır. 48 Saatlik desorpsiyon uygulamasından sonra elde edilen veriler de kullanılarak desorpsiyon verimi eşitlik 3.7'ye göre hesaplanmıştır.

$$\text{Desorpsiyon verimi (\%)} = \frac{C_{des}}{C_g} \times 100 \quad (3.7)$$

Optimum koşullarda inaktif *A. oryzae*'ye boya adsorpsiyonundan sonra ortamda kalan boyar madde miktarı belirlenmiş ve eşitlik 3.1 kullanılarak adsorplanan boyar madde miktarı ( $C_{ad}$ ) saptanmıştır. Desorpsiyon uygulamasından sonra elde edilen veriler de kullanılarak toplam desorpsiyon verimi eşitlik 3.8'e göre hesaplanmıştır.

$$\text{Toplam desorpsiyon verimi (\%)} = \frac{C_{des} + C_{dsu}}{C_{ad}} \times 100 \quad (3.8)$$

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. LEVAFIX BRILLANT BLUE EB (LB) VE CIBACRON BLUE CR (CB) BOYALARININ AKTİF *A. oryzae* İLE GİDERİMİNDE OPTİMUM ORTAM KOŞULLARININ BELİRLENMESİ

#### 4.1.1. Başlangıç pH'sının Etkisi

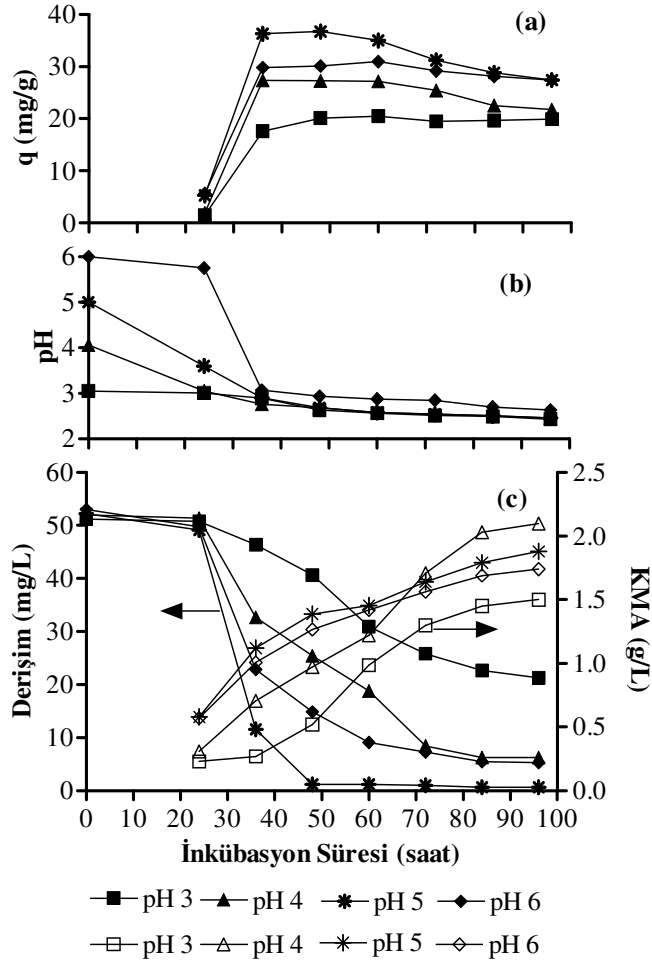
LB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde pH'nın etkisini araştırmak amacı ile  $50\pm 3$  mg/L başlangıç boyar madde derişiminde farklı başlangıç pH değerlerinde bir seri deney yapılmış; ortamda kalan boyar madde derişimleri, kuru misel ağırlığı (KMA), pH ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.1'de sunulmuştur.

Şekil 4.1'den görüldüğü gibi başlangıç boyar madde derişimleri  $50\pm 3$  mg/L olan ortamlarda, 3,05; 4,06; 5,00; 6,00 başlangıç pH değerlerinde, 96 saatlik inkübasyon süresince KMA miktarlarının arttığı, ortamda kalan boya derişiminin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.1.c.). Başlangıç pH'sı 5,00'e ayarlanmış renk giderim ortamında 48 saat sonunda ortamdaki boyar maddenin % 97,61'i giderilmesine rağmen, başlangıç pH'ları 3,05, 4,06 ve 6,00'ya ayarlanmış renk giderim ortamlarında 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda sırası ile % 20,45, % 51,01 ve % 71,90 renk giderimi sağlanmıştır. Sonuç olarak en iyi giderim yüzdesi pH 5,00 değerinde elde edilmiştir.

Başlangıç pH değeri 3,05 olan LB giderim ortamında, 96 saatlik inkübasyon periyodunda belirgin bir değişim gözlenmemiş, inkübasyonun 96. saatinde ortam pH'sının 2,43 olduğu saptanmıştır. Başlangıç pH'sı 4,06 ve 5,00'e ayarlanmış renk giderim ortamlarında, inkübasyonun başlangıcından 36. saatine kadar ortam pH'larının hızla azaldığı ve inkübasyonun 36. saatinde, sırası ile 2,76 ve 2,90 olduğu saptanmıştır. Ortam pH'sında 36. saatten sonra belirgin bir değişim saptanmamıştır. Başlangıç pH'sı 6,00'ya ayarlanmış ortamda, ilk 24 saat içerisinde belirgin bir pH azalması gözlenmemiş, 24. saatten 36. saate kadar hızla azalarak ortam pH'sı 3,07

olmuştur. pH azalması 36. saatten sonra yavaşlayarak inkübasyonun 96. saatinde 2,63 olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.1.b). Fungus büyümesi sırasında ortamda meydana gelen organik asitlerin ortam pH'sının azalmasına yol açtığı düşünülmüştür.

LB gideriminde, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları pH 5,00 > pH 6,00 > pH 4,06 > pH 3,05 şeklinde sıralanabilmektedir. Başlangıç pH'sı 5,00 olan ortamda, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 48. saatinde maksimuma ulaştığı (36,74 mg/g), daha sonra zamanla azalarak inkübasyonun 96. saatinde 27,43 mg/g olduğu saptanmıştır. Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doymuş hale gelmemesi ile açıklanmıştır. Başlangıç pH'sı 6,00'ya ayarlanmış renk giderim ortamında birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının maksimuma ulaşma süresinin uzadığı, inkübasyonun 60. saatinde maksimuma ulaştığı (30,95 mg/g) saptanmıştır (Şekil 4.1.a).



Şekil 4.1. Farklı başlangıç pH değerlerinde, birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya miktarları (a); pH (b); LB derişimi ve KMA'nın (c) inkübasyon süresi ile değişimi ( $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{Ç.H.}=150\text{ rpm}$ ,  $C_0=50\pm 3\text{ mg/L}$ ).

ÇB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde pH'nın etkisini araştırmak amacı ile  $50\pm 3\text{ mg/L}$  başlangıç boya madde derişiminde farklı başlangıç pH değerlerinde bir seri deney yapılmış; ortamda kalan boya madde derişimleri, kuru misel ağırlığı (KMA), pH ve birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.2'de, sunulmuştur.

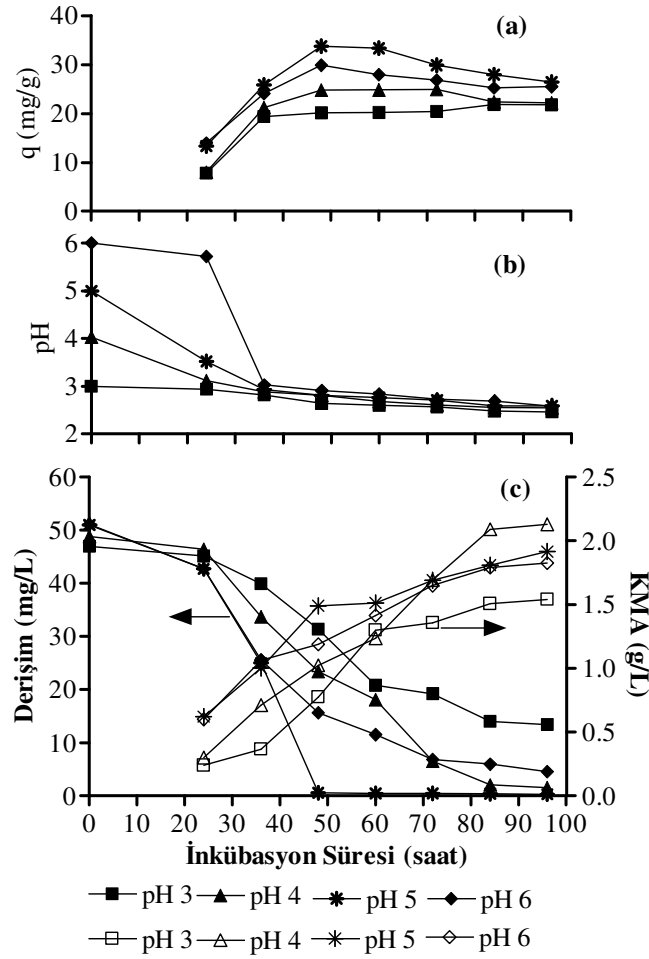
Şekil 4.2'den görüldüğü gibi başlangıç boya madde derişimleri  $50\pm 3\text{ mg/L}$  olan ortamlarda, 3,00; 4,03; 5,00; 6,00 başlangıç pH değerlerinde, 96 saatlik



inkübasyon süresince KMA miktarlarının arttığı, ortamda kalan boya derişiminin azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.2.c). Başlangıç pH'sı 5,00'e ayarlanmış renk giderim ortamında 48 saat sonunda ortamdaki boyar maddenin % 98,86'ı giderilmesine rağmen, başlangıç pH'ları 3,00; 4,03 ve 6,00'ya ayarlanmış renk giderim ortamlarında 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda sırası ile % 33,21, % 52,05 ve % 69,41 renk giderimi sağlanmıştır. Sonuç olarak en iyi giderim yüzdesi pH 5,00 değerinde elde edilmiştir.

Başlangıç pH'sı 3,00'e ayarlanmış CB giderim ortamında 96 saatlik inkübasyon periyodunda belirgin bir değişim gözlenmemiş, inkübasyonun 96. saatinde ortam pH'sının 2,43 olduğu saptanmıştır. Başlangıç pH'sı 4,03 ve 5,00'e ayarlanmış ortamlarda, inkübasyonun başlangıcından 36. saatine kadar ortam pH'larının hızla azaldığı ve inkübasyonun 36. saatinde, sırası ile 2,76 ve 2,90 olduğu saptanmıştır. Ortam pH'sında 36. saatten sonra belirgin bir değişim saptanmamıştır. Başlangıç pH'sı 6,00'ya ayarlanmış ortamda, ilk 24 saat içerisinde belirgin bir pH azalması gözlenmemiş, 24. saatten 36. saate kadar hızla azalarak ortam pH'sı 3,03 olmuştur. 36. saatten sonra pH azalmasının yavaşlayarak inkübasyonun 96. saatinde 2,58 olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.2.b). Fungus büyümesi sırasında ortamda meydana gelen organik asitlerin ortam pH'sının azalmasına yol açtığı düşünülmüştür.

CB gideriminde, birim mikroorganizma kütesinde giderilen boya miktarları pH 5,00 > pH 6,00 > pH 4,03 > pH 3,00 şeklinde sıralanabilmektedir. Başlangıç pH'sı 5,00'e ve 6,00'ya ayarlanmış renk giderim ortamında, birim mikroorganizma kütesinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 48. saatinde maksimuma ulaştığı (sırası ile 33,80 mg/g ve 29,85 mg/g), daha sonra zamanla azalarak inkübasyonun 96. saatinde sırası ile 26,44 mg/g ve 25,47 mg/g olduğu saptanmıştır (Şekil 4.2.a). Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doğun hale gelmemesi ile açıklanmıştır.



Şekil 4.2. Farklı başlangıç pH değerlerinde, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları (a); pH (b); CB derişimi ve KMA'nın (c) inkübasyon süresi ile değişimi ( $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{Ç.H.}=150\text{ rpm}$ ,  $C_0=50\pm 3\text{ mg/L}$ ).

Biyokütle ile boyar madde molekülleri arasındaki etkileşim boyar madde molekülü ve biyosorbent yüküne bağlıdır [1]. Aktif *Aspergillus oryzae* ile maksimum LB ve CB giderimi, maksimum biyokütle oluşumunun sağlandığı başlangıç pH'sı 5,00 olan ortamlarda saptanmıştır. Fungus büyümesi sırasında meydana gelen metabolik ürünler olan organik asitlerin birikimi ile ortam pH'sının 3,00'ün altına düşmesi sonucu renk gideriminin sağlandığı saptanmıştır. Bu durum, ortam pH'sının hücre yüzeyi izoelektrik noktasının altına düşmesi ile biyokütlenin pozitif

yüklenmesi ve negatif yüklü boya anyonları ile arasındaki elektrostatik etkileşimin sonucudur.

Aktif hücrelerle renk gideriminde, başlangıç pH'sının, sporların yüzey özelliklerini, buna bağlı olarak fungusun büyüme şeklinin farklılaştığı literatürde belirtilmektedir [136]. Çalışmamızda, renk giderim ortamının başlangıç pH'sı fungusun biyokütle oluşturma şekli için önemli bir parametre olduğu gözlenmiştir. Başlangıç pH'ları 3,00–3,05 olan ortamlarda biyokütle miktarının daha düşük olduğu ve pelet oluşumu gözlenmesine rağmen filamentli büyümenin baskın olduğu gözlenmiştir. Renk giderimi biyokütle miktarına bağlı olduğundan düşük KMA değerlerinde renk gideriminin daha düşük olduğu saptanmıştır. Başlangıç pH'ları 4,03–4,06 ve 5,00 olan ortamlarda düzgün peletlerin oluştuğu gözlenmiştir. Filamentli ve pelet yapıdaki üremenin bir arada gözlendiği pH 6,00'da KMA değerleri başlangıç pH'sı 4,03–4,06 olan renk giderim ortamlarındaki KMA değerlerinden daha yüksek olduğu ve buna bağlı olarak giderilen boyar madde miktarının da daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

*Aspergillus oryzae* IFO 30113 suşunun büyüme ve morfolojisinin ortamın başlangıç pH'sına karşı oldukça hassas olduğu; pH 3,00'de pelet ve serbest dağılmış hif elementleri gözlenirken, pH 4,00–5,00 aralığında tek büyüme şeklinin pelet olduğu, pH 6,00'da ise pelet oluşumu gözlenmediği, fungusun kümeler halinde büyüdüğü rapor edilmiştir [136]. Ortam pH'sının 3,00'den 6,00'ya artırılması ile *A. oryzae* büyüme hızının arttığı; yüksek üreme hızlarında hiflerin daha uzun ve dallanan yapıda meydana geldiği dolayısı ile hifler arasındaki etkileşim azalmasına bağlı olarak filamentli büyümenin gözlendiği belirtilmiştir [136]. *Aspergillus oryzae* ile maksimum krom gideriminin, maksimum biyokütle oluşumunun sağlandığı pH 5,00'de gözlendiği; pH'nın 5,00'in üzerine çıkarılması ile ozmotik değişikliklerin meydana gelmesinden dolayı krom gideriminde azalma saptandığı belirtilmiştir [137]. Ortam pH'sının 1,00'den 6,00'ya kadar yükseltilmesi ile fungus spesifik büyüme hızı ve biyokütle derişiminin arttığı ancak ortam pH'sının 2,00'den 6,00'ya kadar yükseltilmesi ile maksimum birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya

miktarının azaldığı belirtilmiştir [102]. Boya çözeltilisindeki negatif yüklü boya anyonları ile, düşük pH'larda, pozitif yüklü biyokütle arasındaki elektrostatik etkileşimden dolayı boyar madde biyokütleyle adsorplanmaktadır [1, 138-141].

Literatürde, mayalarla [98] ya da filamentli funguslarla [93, 96] renk gideriminin genellikle asidik pH'larda; bakterilerle [142-144] ise nötr ve üzerindeki pH'larda gerçekleştiği vurgulanmaktadır. Literatürde, filamentli funguslarla yüksek pH değerlerinde renk gideriminin sağlandığı çalışmalar da yer almaktadır [83, 120].

Assadia ve Jahangiri [93], *Aspergillus niger* peletleri ile en iyi renk gideriminin fungal büyüme için uygun olan pH 4,00–6,00 arasında gerçekleştiğini, pH'nın daha fazla artırılması ile renk giderim veriminde azalma saptandığını belirtmişlerdir. *Cunninghamella polymorpha*'nın pelet şeklinde üremesi sırasında fungusun DB-60 renk giderimi çalışmasında, 120 saatlik inkübasyon periyodu sonunda 100 mg/L boyar maddenin % 100 verimle giderildiği ve ortam pH'sının 5,00'den 4,30'a azaldığı belirtilmiştir [96]. Remazol Black B'nin termotolerant bir maya türü olan *Kluyveromyces marxianus* IMB3 ile pH 3,50–5,00 arasında, % 95–97 renk giderim verimi sağlandığı; pH 3,00'de % 78, pH 5,50'de % 84 renk giderim verimi sağlandığı rapor edilmiştir [98]. *Aspergillus foetidus*'un Drimarene boyar maddelerini başlangıç pH'sı 8,00 olan ortamlarda % 95–98 verimle giderdikleri rapor edilmiştir [83]. *Aspergillus fumigatus* ligninolitik enzim sentezinin maksimumuna ulaştığı pH 8,00'de kağıt ve kağıt hamuru fabrikası çıkış suyunda maksimum renk gideriminin sağlandığı belirtilmiştir [120].

*Pseudomonas aeruginosa* NBAR12 ile optimum renk gideriminin pH 7,00-8,00 aralığında gerçekleştiği, pH 6,50'de renk giderim veriminde belirgin bir azalma saptandığı belirtilmiştir [144]. *Escherichia coli* ve *Pseudomonas luteola*'nın pH 7,00'de en iyi renk giderimini sağladıkları, pH 9,50'ye kadar renk giderim hızının sabit kaldığı belirtilmiştir [143]. *Klebsiella pneumoniae* RS-13 pH 6,00-8,00 aralığında methyl red boyar maddesinin tamamını giderdiği saptanmıştır [2]. Azo boyar maddelerin bakterilerle parçalanması sonucu meydana gelen aromatik

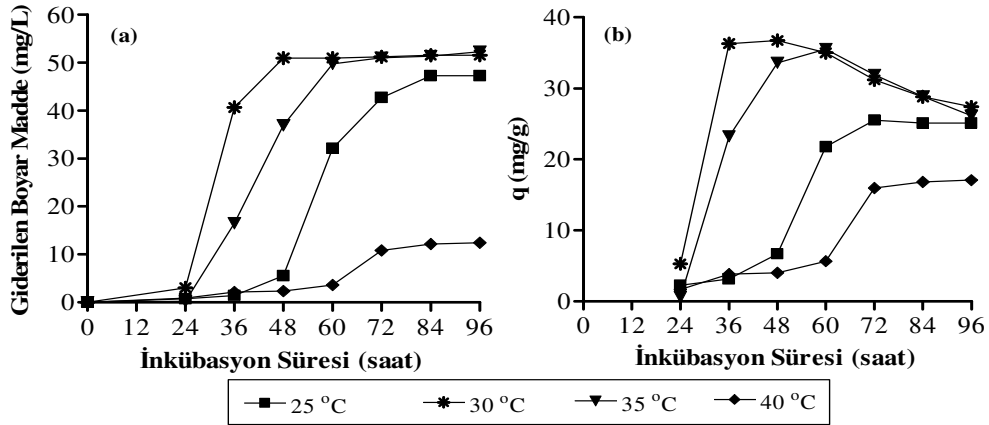
aminlerin ortam pH'sının 8,00–10,00 arasında değişmesine yol açtığı belirtilmektedir [73, 145].

#### 4.1.2. Sıcaklığın Etkisi

LB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde ortam sıcaklığının etkisini araştırmak amacı ile başlangıç pH değerleri 5,00; başlangıç boyar madde derişimleri 50±3 mg/L olan ve farklı sıcaklıklarda inkübe edilen ortamlarda bir seri deney yapılmış; giderilen boyar madde derişimleri ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.3'de; inkübasyonun 48. ve 96. saatlerinde saptanan KMA ve renk giderim verimleri Çizelge 4.1'de sunulmuştur.

Spor aşılanmasından sonra 25 °C, 30 °C ve 35 °C,'de inkübe edilen ortamlardaki giderilen boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla arttığı ve dengeye ulaşma sürelerinin farklılık gösterdiği; 40 °C'de inkübe edilen ortamlardaki giderilen boyar madde derişiminde zamanla belirgin bir artış saptanmadığı Şekil 4.3.'de görölmektedir. İnkübasyon sıcaklığı 25 °C olan renk giderim ortamında, giderilen boyar madde derişiminin inkübasyonun 84. saatine kadar artış gösterdiği ve 42,75 mg/L'ye ulaştığı ve inkübasyonun 96. saatine kadar belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır. İnkübasyon sıcaklığı 30 °C ve 35 °C olan renk giderim ortamında giderilen boyar madde derişimlerinin sırası ile inkübasyonun 48. ve 60. saatine kadar hızla arttığı ve sırası ile 50,99 ve 49,77 mg/L'ye ulaştığı; inkübasyonun 96. saatine kadar belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır. İnkübasyon sıcaklıkları 25 °C, 30 °C ve 35 °C olan ortamlarda inkübasyonun 96. saatinde giderilen boyar madde derişimleri sırası ile 47,25 mg/L, 51,79 mg/L, ve 52,44 mg/L olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.3.a). İnkübasyon sıcaklığı 30 °C olan renk giderim ortamındaki birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 48. saatine kadar artarak 36,75 mg/g'a ulaştığı, daha sonra zamanla azalarak inkübasyonun 96. saatinde 27,43 mg/g olduğu gözlenmiştir. İnkübasyon sıcaklığı 35 °C olan renk giderim ortamındaki birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 60. saatine kadar artarak 35,55 mg/g'a ulaştığı, daha sonra zamanla azalarak inkübasyonun 96.

saatinde 26,16 mg/g olduğu belirlenmiştir. İnkübasyon sıcaklığı 25 °C ve 40 °C olan renk giderim ortamlarında, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 72. saatine kadar artarak sırası ile 25,54 mg/g ve 16,00 mg/g değerlerine ulaştığı; inkübasyonun 96. saatine kadar belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır. İnkübasyon sıcaklığı 30 °C ve 35 °C olan renk giderim ortamlarında, sırası ile inkübasyonun 48. ve 60. saatlerinde, % 90'ın üzerinde renk giderim verimi sağlanmıştır. İnkübasyonun 96. saatine kadar KMA artışı devam etmesine rağmen ortamda kalan boya miktarı oluşan KMA için yeterli olmadığından 30 °C ve 35 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamlarında sırası ile 48. ve 60. saatlerden sonra birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.3.b). Bu azalma, ortamda kalan boya madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doymuş hale gelmemesi ile açıklanmıştır.



Şekil 4.3. İnkübasyon sıcaklıkları farklı LB giderim ortamlarında giderilen boya madde derişimi (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi (pH=5, Ç.H.=150 rpm,  $C_0=50\pm 3$  mg/L).

Çizelge 4.1'den görüldüğü gibi, 30 °C'de etkin renk giderimi sağlamak için gerekli inkübasyon süresi kısaldığı ve 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda boya maddenin % 97,61'inin giderildiği gözlenmiştir. 25 °C, 35 °C ve 40 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamlarında ise boya maddenin sırası ile % 10,49; % 69,58 ve

% 4,66'sının giderildiği saptanmıştır. İnkübasyon süresince KMA artışına bağlı olarak inkübasyonun 96. saatinde 25 °C, 30 °C ve 35 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamlarında renk giderim verimi sırası ile % 89,29; % 98,70 ve % 98,47'e ulaşmıştır. İnkübasyon sıcaklığı 40 °C olan renk giderim ortamlarında, belirgin bir KMA artışı sağlanamamış ve inkübasyonun 96. saatinde % 24,39 renk giderimi saptanmıştır. Bu çalışmada, 96 saatlik inkübasyon periyodu sonunda, 30 °C ve 35 °C'de LB'nin etkin olarak giderilebildiği belirlenmiştir. Ancak, inkübasyonun 48. saatinde 35 °C'de % 69,58 giderim verimi sağlanırken 30 °C'de % 97,61 giderim verimi sağlandığından LB gideriminde 30 °C'nin optimum sıcaklık olduğu sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.1. İnkübasyon sıcaklıkları farklı LB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA değerleri ve renk giderim verimleri

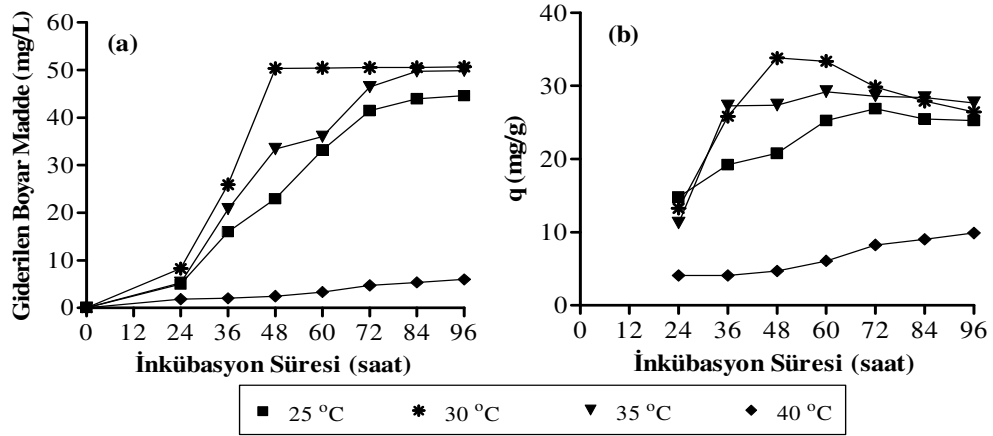
İnkübasyon süresi (saat)		Sıcaklık (°C)			
		25 °C	30 °C	35 °C	40 °C
48	KMA (g/L)	0,83	1,39	1,10	0,59
	Renk giderim verimi (%)	10,49	97,61	69,58	4,66
96	KMA (g/L)	1,88	1,88	2,00	0,73
	Renk giderim verimi (%)	89,29	98,70	98,47	24,39

CB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde ortam sıcaklığının etkisini araştırmak amacı ile başlangıç pH değerleri 5,00; başlangıç boyar madde derişimleri 50±3 mg/L olan ve farklı sıcaklıklarda inkübe edilen ortamlarda bir seri deney yapılmış; giderilen boyar madde derişimleri ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.4'de; inkübasyonun 48. ve 96. saatlerinde saptanan kuru misel ağırlığı (KMA) ve renk giderim verimleri Çizelge 4.2'de sunulmuştur. Spor aşılmasından sonra 25 °C, 30 °C ve 35 °C,'de inkübe edilen ortamlardaki giderilen boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla arttığı ve dengeye ulaşma sürelerinin farklılık gösterdiği; 40 °C'de inkübe edilen ortamlardaki giderilen

boyar madde derişiminde zamanla belirgin bir artış saptanmadığı Şekil 4.4'de görülmektedir.

İnkübasyon sıcaklığı 25 °C ve 35 °C'ye ayarlanmış renk giderim ortamında, giderilen boyar madde derişiminin inkübasyonun 84. saatine kadar artış gösterdiği ve sırası ile 43,96 ve 49,76 mg/L'ye ulaştığı ve inkübasyonun 96. saatine kadar belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır. İnkübasyon sıcaklığı 30 °C olan renk giderim ortamında giderilen boyar madde derişiminin inkübasyonun 48. saatine kadar hızla artarak 50,40 mg/L'ye ulaştığı ve inkübasyonun 96. saatine kadar belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır. İnkübasyon sıcaklıkları 25 °C, 30 °C ve 35 °C olan ortamlarda inkübasyonun 96 saatinde giderilen boyar madde derişimleri sırası ile 44,64 mg/L, 50,66 mg/L, ve 49,85 mg/L olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4.a). 30 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamındaki birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 48. saatine kadar artarak 33,80 mg/g'a ulaştığı, daha sonra zamanla azalarak inkübasyonun 96. saatinde 26,44 mg/g olduğu gözlenmiştir. İnkübasyon sıcaklığı 35 °C olan renk giderim ortamında birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 36. saatine kadar hızla artarak 27,24 mg/g'a ulaştığı ve inkübasyonun 96. saatine kadar belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır. İnkübasyon sıcaklığı 25 °C olan renk giderim ortamında, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 72. saatine kadar artarak 26,89 mg/g değerlerine ulaştığı; inkübasyonun 96. saatine kadar belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır (Şekil 4.4.b). İnkübasyon sıcaklığı 30 °C olan renk giderim ortamında, inkübasyonun 48. saatinde, % 98,86 renk giderim verimi sağlanmıştır. İnkübasyonun 96. saatine kadar KMA artışı devam etmesine rağmen ortamda kalan boyar madde miktarı oluşan KMA için yeterli olmadığından 30 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamında inkübasyonun 48. saatinden sonra birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının azaldığı gözlenmiştir (Şekil 4.4.b). Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doğun hale gelmemesi ile açıklanmıştır.





Şekil 4.4. İnkübasyon sıcaklıkları farklı CB giderim ortamlarında giderilen boyar madde derişimi (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi (pH=5, Ç.H.=150 rpm, C<sub>0</sub>=50±3 mg/L).

Çizelge 4.2'den görüldüğü gibi, 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda 30 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamında boyar maddenin % 98,86'sı; 25 °C, 35 °C ve 40 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamlarında ise boyar maddenin sırası ile % 45,33; % 66,39, ve % 4,97'sinin giderildiği saptanmıştır. İnkübasyon süresince KMA artışına bağlı olarak inkübasyonun 96. saatinde 25 °C, 30 °C ve 35 °C'de inkübe edilen renk giderim ortamlarında renk giderim verimi sırası ile % 88,31, % 99,37 ve % 99,10'a ulaşmıştır. İnkübasyon sıcaklığı 40 °C olan renk giderim ortamlarında, belirgin bir KMA artışı sağlanamamış ve inkübasyonun 96. saatinde % 11,63 renk giderimi saptanmıştır (Çizelge 4.2). Çalışmada elde edilen bulgular, Kahraman ve ark [146] tarafından saptanmış bulgularla örtüşmemektedir. Araştırmacılar, aktif ve inaktif *Funalia trogii* ve *Phanerochaete chrysosporium* hücreleri ile bakır iyonlarının gideriminin sıcaklıktan etkilenmediğini belirtmişlerdir [146]. Bu çalışmada, 96 saatlik inkübasyon periyodu sonunda, 30 °C ve 35 °C'de CB'nin etkin olarak giderilebildiği belirlenmiştir. Ancak, inkübasyonun 48. saatinde 35 °C'de % 66,39 giderim verimi sağlanırken 30 °C'de % 98,86 giderim verimi sağlandığından CB gideriminde 30 °C'nin optimum sıcaklık olduğu sonucuna varılmıştır. İnkübasyon sıcaklığı 40 °C olan LB ve CB giderim ortamlarında 96 saatlik inkübasyon periyodu sonunda belirgin bir renk giderimi sağlanamaması,

fungus büyümesi için optimumun üzerinde olan yüksek sıcaklıklarda fungus büyümesinin inhibe olmasına bağlanmıştır.

Çizelge 4.2. İnkübasyon sıcaklıkları farklı CB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA değerleri ve renk giderim verimleri.

İnkübasyon süresi (saat)		Sıcaklık (°C)			
		25 °C	30 °C	35 °C	40 °C
48	KMA (g/L)	1,10	1,49	1,22	0,52
	Renk giderim verimi (%)	45,33	98,86	66,39	4,97
96	KMA (g/L)	1,77	1,92	1,80	0,60
	Renk giderim verimi (%)	88,31	99,37	99,10	11,63

Funguslar, genellikle optimum üreme sıcaklıkları 25 – 40 °C arasında değişen mezofilik mikroorganizmalardır. Çalışmada kullanılan *Aspergillus oryzae* mezofilik bir mikroorganizma olduğundan 30 °C’de maksimum KMA oluşumu gözlenmiştir. Optimumun üzerindeki yüksek sıcaklıklarda, aktif hücre enzimlerinin katalitik aktiviteleri etkilenerek üremenin yavaşladığı literatürde belirtilmektedir [134]. Ayrıca literatürde, mikrobiyal üreme ya da metabolizmaya bağlı renk gideriminde kullanılan mikroorganizmanın üremesi için uygun olan sıcaklıklarda maksimum renk giderim veriminin saptandığı belirtilmektedir.

*Aspergillus niger* peletleri ile en iyi renk giderim veriminin 28–30 °C’de saptandığını, 5–15 °C’de fungal büyümenin minimum olduğu ve renk gideriminin saptanamadığı belirtilmiştir [93]. *Aspergillus ficuum* renk giderim veriminin 22–40 °C arasında kararlı olduğu, 33°C’de maksimum renk giderimi sağlandığı, 50°C’de ise renk giderim veriminin oldukça düşük olduğu belirtilmiştir [72]. *Aspergillus foetidus* ile Drimarene boyar maddelerinin 30 °C’de fungusun logaritmik üreme evresinde % 95 – 98 verimle giderildiği rapor edilmiştir [83]. *Aspergillus oryzae* ile maksimum krom gideriminin, maksimum biyokütle oluşumunun sağlandığı 30 °C’de gözlemlendiği; sıcaklığın 24 °C’ye düşürülmesi ya da 40 °C’ye kadar artırılması ile fungal büyümede ve krom gideriminde azalma saptandığı belirtilmiştir [137]. Nasseri ve ark [137], sıcaklığın fungal enzimleri etkileyen bir parametre olduğundan fungusların

biyosorpsiyon ve biyoakümülyasyon özelliklerini etkilemesinin yanı sıra çıkış suyundaki metallerin çözünürlüğünü ve adsorpsiyon hızlarını da etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Remazol Black B'nin termotolerant bir maya türü olan *Kluyveromyces marxianus* IMB3 ile gideriminde sıcaklığın çok etkili olduğu, 37 °C'de maksimum renk giderim veriminin saptandığı; 37 °C'nin bu maya türü için optimum büyüme sıcaklığı olduğu rapor edilmiştir [98] .

Sıvı ortamda *Penicillium oxalicum* peletlerinin üretilip ortamdan ayrılarak deiyonize su ile yıkandıktan sonra adsorbent olarak kullanıldığı çalışmada, Reactive Blue 19 ve Reactive Red 241 boyar maddelerinin sıcaklığın 40 °C'ye kadar artması renk gideriminin arttığı; Reactive Yellow 145'in renk gideriminde ise optimum sıcaklığın 20 °C olduğu belirtilmiştir [94]. Araştırmacıların bulguları, renk giderimi sırasında mikroorganizma üremesinin meydana gelmediği durumlarda, sıcaklık etkisinin sadece boyar madde yapısına bağlı olduğunu göstermektedir.

Beyaz çürükçül fungus *Funalia trogii* ile maksimum renk giderim veriminin fungusun optimum büyüme sıcaklığı olan 30 °C'de saptandığı rapor edilmiştir [101]. *Pseudomonas aeruginosa* NBAR12 ile renk gideriminin sıcaklığın 40 °C'ye kadar artması ile renk giderim veriminin arttığı, sıcaklığın 45 °C'ye artırılması ile renk giderim aktivitesinde ani azalma meydana geldiği belirtilmiştir [144]. *Klebsiella pneumoniae* RS-13'nin 23 °C - 37 °C arasında metil red boyar maddesini içeren ortamı renksizleştirdiği, 45 °C'de renk gideriminin tamamen inhibe olduğu rapor edilmiştir [2].

#### 4.1.3. Başlangıç Boyar Madde Derişiminin Etkisi

*Aspergillus oryzae*'nin tolere edebileceği maksimum LB derişimini saptamak amacı ile 28,98 ve 198,50 mg/L arasında farklı başlangıç boyar madde derişimlerinde renk giderim çalışmaları gerçekleştirilmiş; 120 saatlik inkübasyon periyodunda giderilen boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.5'de sunulmuştur. Farklı başlangıç LB derişimleri ( $C_0$ ) için, denge giderilen boyar madde derişimleri ( $C_{g,d}$ ),

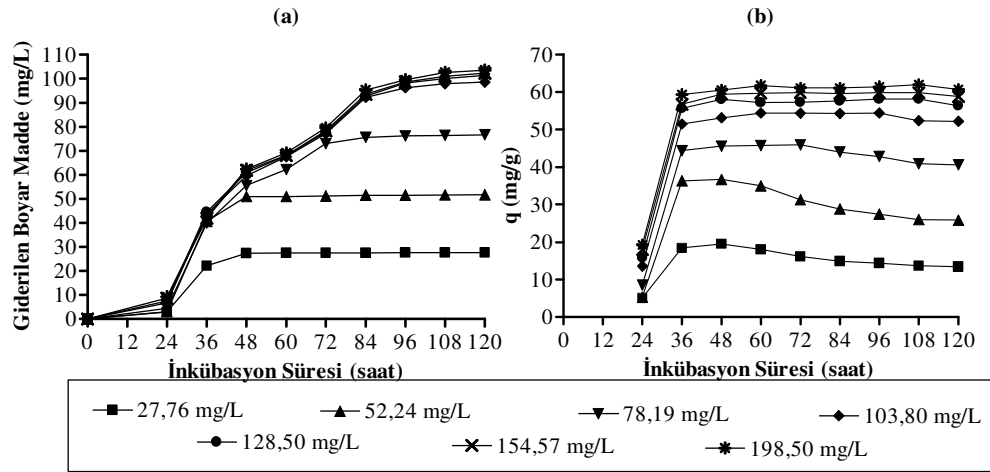
denge birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının ( $q_d$ ), dengeye ulaşma süreleri, denge anındaki biyokütle derişimi ve renk giderim verimi (%), spesifik büyüme hızı ( $\mu$ ) ve inkübasyon süresi sonundaki KMA ( $KMA_{max}$ ) değerleri de Çizelgede 4.3’de sunulmuştur.

Şekil 4.5’den görüldüğü gibi giderilen boyar madde derişiminin zamanla arttığı ve boyar madde derişimi artışı ile dengeye ulaşma süresinin uzadığı; birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının 36. saate kadar arttığı ve daha sonra dengeye ulaştığı gözlenmiştir. Başlangıç boyar madde derişimleri 27,76 mg/L ve 52,24 mg/L olan renk giderim ortamlarında boyar maddenin inkübasyonun 36. saatine kadar hızla giderildiği, 48. saate kadar renk gideriminin yavaşladığı saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimi 78,19 mg/L olan renk giderim ortamında giderilen boyar madde derişiminin inkübasyonun 72. saatine, başlangıç boyar madde derişimleri daha yüksek ortamlarda inkübasyonun 96. saatine kadar hızla arttığı, daha sonra renk gideriminin yavaşladığı gözlenmiştir.

Başlangıç LB derişimi 27,76 mg/L ve 52,24 mg/L olan renk giderim ortamlarında, inkübasyonun 48. saatinde sırası ile 27,33 mg/L ve 50,99 mg/L boyar maddenin giderildiği saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimi 78,19 mg/L olan renk giderim ortamında inkübasyonun 72. saatinde 72,99 mg/L, 120. saatinde de 76,69 mg/L boyar madde giderimi sağlanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimi 103,80 mg/L, 128,50 mg/L, 154,57 mg/L ve 198,50 mg/L olan renk giderim ortamlarında inkübasyonun 96. saatine kadar giderilen boyar madde miktarında artış gözlenmiş, 120. saate kadar renk giderimi yavaşlamıştır. Başlangıç LB derişimleri 103,80 mg/L, 128,50 mg/L, 154,57 mg/L ve 198,50 mg/L olan ortamlarda 120 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde miktarları sırası ile 98,59 mg/L, 101,36 mg/L, 102,24 mg/L ve 102,51 mg/L olduğu saptanmıştır (Şekil 4.5.a).

Başlangıç boyar madde derişimi 27,76 mg/L ve 52,24 mg/L olan renk giderim ortamlarında, birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının 48. saatte maksimuma ulaştığı (sırası ile 18,43 mg/g ve 36,74 mg/g), daha sonra azalarak

120. saatte sırası ile 13,42 mg/g ve 25,89 mg/g olduğu saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimi 78,19 mg/L olan renk giderim ortamında, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 72 saatte maksimuma ulaştığı (45,91 mg/g) ve daha sonra azalarak 120. saatte 40,58 mg/g olduğu saptanmıştır. Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlelerin doymuş hale gelmemesi ile açıklanmıştır. 103,80 mg/L, 128,50 mg/L, 154,57 mg/L ve 198,50 mg/L olan renk giderim ortamlarında birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyonun 48. saatine kadar hızla arttığı ve daha sonra belirgin bir değişim göstermediği saptanmıştır (Şekil 4.5.b). Düşük boyar madde derişimlerinde, boyar maddenin kısa sürede giderildiği, boyar madde derişimi artışı ile inkübasyon süresinin uzadığı, giderilen boyar madde derişimi ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının artmasına rağmen renk giderim veriminin azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.5 ve Çizelge 4.3).



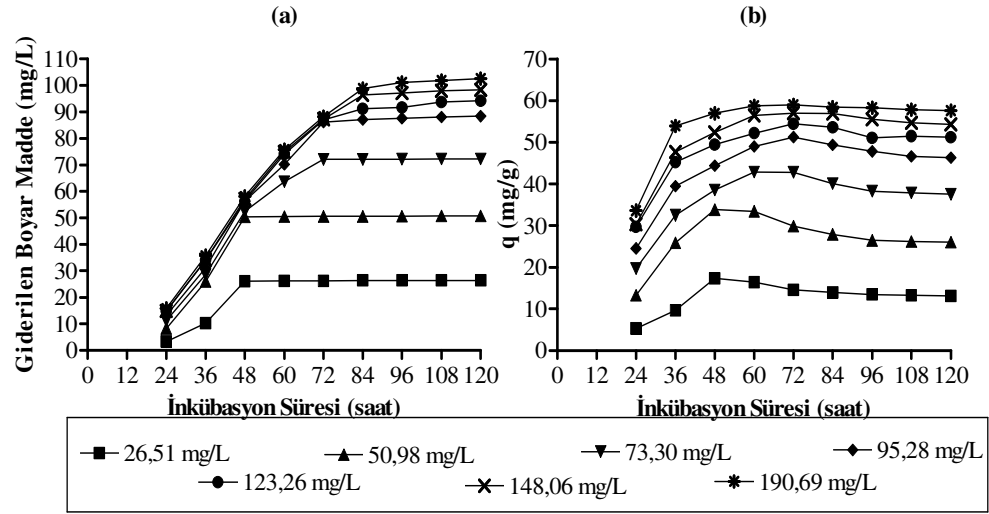
Şekil 4.5. Farklı başlangıç LB derişimlerinde giderilen boyar madde miktarı (a) ve *Aspergillus oryzae* birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi (pH=5, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm).

*Aspergillus oryzae*'nin tolere edebileceği maksimum CB derişimini saptamak amacı ile 26,51 ve 190,69 mg/L arasındaki başlangıç boyar madde derişimlerinde renk giderim çalışmaları gerçekleştirilmiş; 120 saatlik inkübasyon periyodunda giderilen boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.6'da sunulmuştur. Farklı

başlangıç CB derişimleri ( $C_0$ ) için, giderilen boyar madde denge derişimleri ( $C_{g,d}$ ), denge birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları ( $q_d$ ), dengeye ulaşma süreleri, denge anındaki biyokütle derişimi ve renk giderim verimi (%), spesifik büyüme hızı ( $\mu$ ) ve inkübasyon süresi sonundaki KMA ( $KMA_{max}$ ) değerleri de Çizelge 4.3’de verilmiştir. Şekil 4.6’dan görüldüğü gibi giderilen boyar madde derişiminin zamanla arttığı ve boyar madde derişimi artışı ile dengeye ulaşma süresinin uzadığı; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 36. saate kadar arttığı ve daha sonra dengeye ulaştığı gözlenmiştir. Başlangıç boyar madde derişimi 26,51 mg/L ve 50,98 mg/L olan renk giderim ortamlarında, inkübasyonun 48. saatinde sırası ile 26,10 mg/L ve 50,40 mg/L boyar maddenin giderildiği saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimi 73,30 mg/L ve 95,28 mg/L olan renk giderim ortamında inkübasyonun 72. saatinde sırası ile 72,13 mg/L ve 86,16 mg/L, 120. saatinde de sırası ile 72,32 mg/L ve 88,37 mg/L boyar madde giderimi sağlanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimi, 123,26 mg/L, 148,05 mg/L ve 190,69 mg/L olan renk giderim ortamlarında, inkübasyonun 84. saatine kadar artış gözlenmiş, daha sonra renk giderimi yavaşlamıştır. Başlangıç CB derişimleri 123,26 mg/L, 148,05 mg/L ve 190,69 mg/L olan ortamlarda 120 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde miktarları sırası ile 94,18 mg/L, 98,28 mg/L ve 102,57 mg/L olduğu saptanmıştır (Şekil 4.6.a).

Başlangıç boyar madde derişimi 26,51 mg/L ve 50,98 mg/L olan ortamlarda, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 48. saatte maksimuma ulaştığı (sırası ile 17,38 mg/g ve 33,80 mg/g), daha sonra azalarak 120. saatte sırası ile 13,11 mg/g ve 26,03 mg/g olduğu saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimi 73,30 mg/L olan renk giderim ortamında, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 60. saatte maksimuma ulaştığı (42,83 mg/g) ve daha sonra azalarak 120. saatte 37,47 mg/g olduğu saptanmıştır. Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doymuş hale gelmemesi ile açıklanmıştır. 95,28 mg/L, 123,26 mg/L, 148,05 mg/L ve 190,69 mg/L olan renk giderim ortamlarında, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 72. saatte maksimuma ulaştığı (sırası ile 51,26 mg/g, 54,47 mg/g, 57,00 mg/g ve 59,01 mg/g) saptanmıştır (Şekil 4.6 b). Düşük boyar madde derişimlerinde,

boyar maddenin kısa sürede giderildiği, boyar madde derişimi artışı ile inkübasyon süresinin uzadığı, giderilen boyar madde derişimi ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının artmasına rağmen renk giderim veriminin azaldığı saptanmıştır (Şekil. 4.6 ve Çizelge 4.3). Literatürde de boyar madde derişimindeki artışın renk giderimini olumsuz etkilediği, boya ve fungus arasındaki temas süresinin artırılması ile renk gideriminin sağlandığı belirtilmektedir [93].



Şekil 4.6. Farklı başlangıç CB derişimlerinde giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim *Aspergillus oryzae* kütlelerinde giderilen boya miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi (pH=5, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm).

Çizelge 4.3'den görüldüğü gibi, 120 saatlik inkübasyon periyodu sonunda KMA, boyar madde derişimindeki artışa bağlı olarak 2,06 ile 1,69 g/L arasında değişim göstermiştir. Çizelge 4.3'den görüldüğü gibi, 120 saatlik inkübasyon periyodu sonunda KMA, boyar madde derişimindeki artışa bağlı olarak 2,01 ve 1,78 g/L arasında değişim göstermiştir. Boyar madde derişiminin artışı ile KMA'nın azalması, boyar maddenin mikroorganizma üremesi üzerindeki toksik etkisi ile açıklanabilir.

Başlangıç LB derişiminin 28,78 mg/L'den 198,50 mg/L'ye artırılması ile spesifik mikroorganizma üreme hızının  $3,68 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'den  $3,20 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'e

azaldığı saptanmıştır. Renk giderim ortamındaki boyar madde derişiminin 103,80 mg/L'nin üzerine çıkarılması ile mikroorganizma spesifik üreme hızındaki azalmaya bağı olarak renk giderim veriminde belirgin bir azalma gözlenmiştir, Çizelge 4.3'den görüldüğü gibi, başlangıç LB derişiminin 103,80 mg/L'ye artırılması ile denge anındaki birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları yükselmiş; boyar madde derişiminin daha fazla artırılması ile  $q_d$  değerinde adsorpsiyon bölgelerinin doygunluğa ulaşması ve biyokütleyle bağlanan boyar madde molekülleri ile bağlanmadan kalan moleküller arasında kurulan dengeni bir sonucu olarak önemli bir artış gözlenmemiştir. Sonuç olarak 103,80 mg/L'nin optimum LB derişimi olduğu belirlenmiştir.

Başlangıç CB derişiminin 26,51 mg/L'den 190,69 mg/L'ye artırılması ile spesifik mikroorganizma üreme hızının  $3,65 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'den  $3,22 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'ye azaldığı saptanmıştır. Renk giderim ortamındaki boyar madde derişiminin 95,28 mg/L'nin üzerine çıkarılması ile mikroorganizma spesifik üreme hızındaki azalmaya bağı olarak renk giderim veriminde belirgin bir azalma gözlenmiştir. Çizelge 4.3'den görüldüğü gibi, başlangıç CB derişiminin 95,28 mg/L'ye artırılması ile denge anındaki birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları yükselmiş; boyar madde derişiminin daha fazla artırılması ile  $q_d$  değerinde adsorpsiyon bölgelerinin doygunluğa ulaşması ve biyokütleyle bağlanan boyar madde molekülleri ile bağlanmadan kalan moleküller arasında kurulan dengenin bir sonucu olarak önemli bir artış gözlenmemiştir. Sonuç olarak 95,28 mg/L'nin optimum CB derişimi olduğu belirlenmiştir.



Çizelge 4.3. Farklı başlangıç LB ve CB derişimlerinde ( $C_0$ ), denge anındaki giderilen boyar madde derişimi ( $C_{g,d}$ ), biyokütle miktarı, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının ( $q_d$ ), mikroorganizma spesifik üreme hızı ( $\mu$ ) ve renk giderim verimi (%) ve inkübasyon sonundaki KMA ( $KMA_{max}$ ) değerleri.

	$C_0$ (mg/L)	$C_{g,d}$ (mg/L)	KMA (g/L)	$q_d$ (mg/g)	$\mu$ ( $\times 10^{-2}$ ) (saat <sup>-1</sup> )	Boyar madde giderimi (%)	Zaman (saat)	$KMA_{max}$ (g/L)
<b>Kontrol</b>	-	-	-	-	3,70	-	-	2,23
<b>CB</b>	26,51	26,1	1,5	17,38	3,65	98,45	48	2,01
	50,98	50,40	1,49	33,80	3,65	98,86	48	1,95
	73,3	72,13	1,69	42,81	3,62	98,49	72	1,93
	95,28	86,16	1,68	51,26	3,56	90,43	72	1,91
	123,26	91,14	1,70	53,58	3,43	73,94	84	1,84
	148,05	96,36	1,69	56,91	3,32	65,08	84	1,81
	190,69	98,76	1,69	58,44	3,22	51,79	84	1,78
<b>LB</b>	27,76	27,33	1,40	19,50	3,68	98,46	48	2,06
	52,24	50,99	1,39	36,74	3,64	97,61	48	2,00
	78,19	72,99	1,59	45,91	3,61	93,35	72	1,90
	103,80	96,32	1,77	54,42	3,40	92,80	96	1,89
	128,50	98,10	1,69	58,04	3,28	76,33	96	1,80
	154,57	98,60	1,65	59,76	3,26	63,79	96	1,74
	198,50	99,49	1,62	61,41	3,20	50,12	96	1,69

Boyar madde içermeyen ortamdaki mikroorganizma spesifik üreme hızı  $3,70 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup> iken LB derişimi 52,24 mg/L olan renk giderim ortamında mikroorganizma spesifik üreme hızının  $3,64 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup> olarak değiştii; 154,57 mg/L ve 198,50 mg/L boyar madde içeren renk giderim ortamlarında ise mikroorganizma spesifik üreme hızında belirgin bir azalma meydana geldiği saptanmış (sırası ile  $3,26 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup> ve  $3,20 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>) ve bu ortamlardaki giderim yüzdelerinin sırası ile % 65,35 ve % 51,21 olduğu belirlenmiştir. CB derişimi 50,98 mg/L olan renk giderim ortamında mikroorganizma spesifik üreme hızının  $3,65 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup> olduğu; 148,05 mg/L ve 190,69 mg/L boyar madde içeren ortamlarda ise mikroorganizma spesifik üreme hızında belirgin bir azalma meydana geldiği (sırası

ile  $3,32 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup> ve  $3,22 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>) ve bu ortamlardaki giderim yüzdelerinin sırası ile % 65,57 ve % 53,00 olduğu saptanmıştır (Çizelge 4.3).

Yüksek LB derişimlerinde spesifik mikroorganizma üreme hızının CB'ye göre daha düşük olması, LB yapısındaki 2 adet klorür iyonunun varlığı ile açıklanabilir. Yüksek LB derişimlerinde spesifik mikroorganizma üreme hızının CB'ye göre daha düşük olması, renk gideriminin dengeye ulaşması için gerekli inkübasyon süresinin artmasına yol açtığı Çizelge 4.3'de görülmektedir. Farklı boyar madde derişimlerinde, aktif *A. oryzae*'nin boya alım kapasitesi dengeye ulaştıktan sonra inkübasyon süresi uzatılmasına rağmen daha fazla boyar madde giderimi sağlanamaması biyosorbentin adsorpsiyon için aktif bölgelerinin biyosorpsiyonda sınırlayıcı faktör olduğunu göstermektedir.

Literatürde de yüksek boyar madde derişimlerinin benzer etkileri belirtilmektedir. Boyar madde derişimleri 50 mg/L ya da 100 mg/L olan ortamlarda 72 saat içerisinde % 95'in üzerinde renk giderim verimi sağlanırken boyar madde derişiminin 200 mg/L'ye çıkarılması ile inkübasyon süresi 100 saate çıkarılmasına rağmen renk gideriminin tamamlanamadığı ve boyar maddenin % 30'unun ortamda kaldığı rapor edilmiştir [83]. Yüksek boyar madde derişimlerinin metabolik aktivite inhibisyonuna yol açarak fungusun üremesi üzerinde toksik etki gösterdiğinden fungusun büyüme hızının azalmasına ve/veya yüksek derişimde boyar madde alımına yeterli miktarda biyokütle oluşumunu engellemesine bağlı olarak renk giderim veriminde azalmaya yol açtığı belirtilmiştir [83]. *Candida oleophila*'nın başlangıç boyar madde derişimi 200 mg/L olan ortamdaki boya alım kapasitesinin 180 mg/g olduğu; başlangıç boyar madde derişiminin 300 ve 500 mg/L'ye çıkarılması ile substrat (boya) inhibisyonuna bağlı olarak renk giderim veriminin azaldığı ve maya hücrelerinin mavi görünüme sahip olduğu belirtilmiştir [125]. Aksu [103], bir maya türü olan *Saccharomyces cerevisiae* ile Remazol Blue boyar maddesinin biyoakümülyasyona dayalı gideriminde, çalışmamızdaki ile yakın boyar madde derişimleri kullanıldığı zaman renk giderim verimi ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının bu çalışmadaki değerlerden daha düşük olduğu belirlenmiştir. Beyaz çürükçül fungus *Schizophyllum commune* ile Acid Red,

Reactive Black 5, Acid Orange 7 boyar maddelerinin giderim verimleri çalışmamızda elde edilen renk giderim verilerinden düşük olmasına rağmen Acid Red, Reactive Black 5 boyar maddeleri için *Schizophyllum commune*'nin birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının daha yüksek olduğu saptanmıştır [102].

Hücre içi akümülyasyona dayalı renk gideriminin sağlandığı belirtilen bir çalışmada Acid Red boyar madde derişiminin 10,2 mg/L'den 100,2 mg/L'ye artırılması ile mikroorganizma spesifik üreme hızının  $0,77 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'den  $0,21 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'e azaldığı; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 29,31 mg/g'dan 127,53 mg/g'a yükseldiği; Reactive Black 5 boyar madde derişiminin 10,2 mg/L'den 99,9 mg/L'ye artırılması ile mikroorganizma spesifik üreme hızının  $0,83 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'den  $0,29 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'e azaldığı birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 57,98 mg/g'dan 180,17 mg/g'a yükseldiği; Acid Orange 7 boyar madde derişiminin 10,3 mg/L'den 100,1 mg/L'ye artırılması ile mikroorganizma spesifik üreme hızının  $0,73 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'den  $0,15 \times 10^{-2}$  saat<sup>-1</sup>'e azaldığı; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 20,29 mg/g'dan 44,23 mg/g'a yükseldiği rapor edilmiştir [102]. Boyar madde derişimlerindeki artışa bağlı mikroorganizma büyüme inhibisyonundan dolayı renk giderim verimlerinde de azalma meydana geldiği; yaklaşık 100 mg/L başlangıç Acid Red 18 Reactive Black 5 Acid Orange derişimleri için renk giderim verimlerinin sırası ile % 27,0, % 40,7, % 12,3 olduğu belirtilmiştir [102].

Aksu ve ark [103], Remazole Blue, Remazole Black B, Remazole Red RB'nin hücre içi akümülyasyon ile gideriminde, başlangıç derişimleri sırası ile 10,8 mg/L'den 132,9 mg/L'ye, 13,3 mg/L'den 146,0 mg/L'ye ve 46,7 mg/L'den 165,7 mg/L'ye çıkarıldığı zaman mikroorganizma spesifik üreme hızının sırası ile 3,30 gün<sup>-1</sup>'den 0,52 gün<sup>-1</sup>'e; 2,96 gün<sup>-1</sup>'den 2,02 gün<sup>-1</sup>'e ve 2,93 gün<sup>-1</sup>'den 2,15 gün<sup>-1</sup>'e azaldığını rapor etmişlerdir. Boyar maddenin hücre içerisine akümüle olduğu belirtilen çalışmalarda mikroorganizma spesifik üreme hızında daha büyük değişimler görülmektedir. Düşük boyar madde derişimlerinde, boyar maddenin kısa sürede akümüle olarak giderildiğini, boyar madde derişimi artışı ile inkübasyon süresinin uzadığını, akümüle olan boyar madde derişimi artmasına rağmen renk

giderim veriminin azaldığını rapor etmiştir [103]. Elektron mikroskobu ile yapılan incelemelerde, bakır iyonlarının akümülyasyonundan sonra *Chlorella kessleri* hücre yüzeyinin hasar gördüğü ve yüksek bakır derişimlerinde hücreler hasar gördüğünden iyonları bağlama yeteneğini kaybedebildiği; düşük bakır iyonu denge derişimlerinde (20 mg/L'nin altındaki), hücre hasarı söz konusu olmadığından, biyoakümülyasyonun biyosorpsiyondan daha yüksek olduğu rapor edilmiştir [105].

Remazol Blue ve Remazol Black B'nin tüm derişimlerinin *Candida tropicalis* büyümesi üzerine toksik etki gösterdiği; artan boyar madde derişimi ile toksik etkinin artmasına bağlı olarak renk giderim veriminde azalma saptandığı rapor edilmiştir. [76]. *Candida krusei* ve *Pseudozyma rugulosa* maya hücreleri ile 200 mg/L Reactive Brilliant Red K-2BP'nin 24 saat içerisinde % 99 verimle giderilebildiği; boyar madde derişiminin 1000 mg/L'ye artırılması ile renk giderim veriminin % 20'ye azaldığı belirtilmiştir [127]. Reactive Blue 172 boyar maddesi 500 mg/L'nin üzerinde kullanıldığı zaman *Pseudomonas aeruginosa* renk giderim veriminde azalma saptandığı rapor edilmiştir [144]. Yüksek boyar madde derişimlerinin mikrobiyal toksisiteye sebep olmasından dolayı renk giderim veriminde azalma meydana geldiği belirtilmiştir [147]. Direct Black 22 boyar maddesinin 50 mg/L, 100 mg/L ve 200 mg/L derişimlerinin *Aspergillus ficuum* fungusu ile renk giderim verimlerinin sırası ile % 98,05, % 92,98 ve % 46,33 olduğu rapor edilmiştir [72].

#### 4.1.4. Spor Miktarının Etkisi

LB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde spor miktarının etkisini araştırmak amacı ile  $50 \pm 3$  mg/L başlangıç boyar madde derişiminde farklı miktarlarda spor aşılannmış ortamlarda bir seri deney yapılmış, 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde derişimi ( $C_g$ ), Kuru Misel Ağırlığı (KMA) ve birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya miktarları (q) Çizelge 4.4'de sunulmuş; KMA ve renk giderim verimleri Şekil 4.7'de bir arada gösterilmiştir. Çizelge 4.4'den görüldüğü gibi, LB giderim ortamında, spor miktarının  $1,0 \times 10^7$  adet/80 mL'den  $5,0 \times 10^7$  adet/80 mL'ye kadar artırılması ile KMA'nın inkübasyonun 48. saatinde 0,79 mg/L'den 1,39 mg/L'ye yükseldiği; KMA artışına bağlı olarak giderilen boyar

madde derişiminin 9,03 mg/L'den 50,99 mg/L'ye; birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarının ise 11,43 mg/g'dan 36,74 mg/g'a yükseldiği saptanmıştır. Spor miktarının  $12,5 \times 10^7$  ve  $25,0 \times 10^7$  adet/80 mL'ye artırılması ile KMA azalması ile giderilen boyar madde miktarının azaldığı saptanmıştır. Maksimum KMA oluşumunun sağlandığı, başlangıç spor derişimi  $5,0 \times 10^7$  adet/80 mL olan ortamda maksimum renk giderimi saptanmıştır (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Başlangıç spor miktarları farklı olan LB giderim ortamlarında 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde derişimi ( $C_g$ ), Kuru Misel Ağırlığı (KMA) ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları (q) (T=30 °C ; pH=5 ;  $C_0= 50 \pm 3$  mg/L ; Ç.H.=150 rpm).

Başlangıç spor miktarı (adet/80 mL)	$C_g$ (mg/L)	KMA (g/L)	q (mg/g)
$1,0 \times 10^7$	9,03	0,79	11,43
$2,5 \times 10^7$	15,57	0,94	16,49
$5,0 \times 10^7$	50,99	1,39	36,74
$12,5 \times 10^7$	27,50	1,23	22,36
$25,0 \times 10^7$	24,29	1,13	21,50

CB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde spor miktarının etkisini araştırmak amacı ile  $50 \pm 3$  mg/L başlangıç boyar madde derişiminde farklı miktarlarda spor aşılanmış ortamlarda bir seri deney yapılmış, 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde derişimi ( $C_g$ ), Kuru Misel Ağırlığı (KMA) ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları (q) Çizelge 4.5'de sunulmuş; KMA ve renk giderim verimleri Şekil 4.7'de bir arada gösterilmiştir.

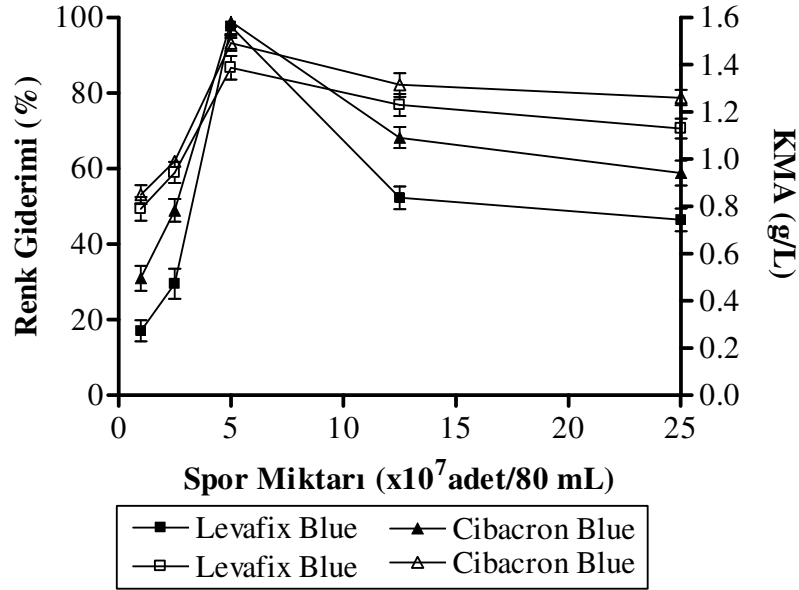
Çizelge 4.5'den görüldüğü gibi, CB giderim ortamında, spor miktarının  $1,0 \times 10^7$  adet/80 mL'den  $5,0 \times 10^7$  adet/80 mL'ye kadar artırılması ile KMA'nın inkübasyonun 48. saatinde 0,85 mg/L'den 1,49 mg/L'ye yükseldiği; KMA artışına bağlı olarak giderilen boyar madde derişiminin 9,03 mg/L'den 50,99 mg/L'ye; birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarının ise 18,75 mg/g'dan 50,40 mg/g'a yükseldiği saptanmıştır. Spor miktarının  $12,5 \times 10^7$  ve  $25,0 \times 10^7$  adet/80 mL'ye

artırılması ile KMA azalması ile giderilen boyar madde miktarının azaldığı saptanmıştır.

Çizelge 4.5. Başlangıç spor miktarları farklı olan CB giderim ortamlarında 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda giderilen boyar madde derişimi ( $C_g$ ), Kuru Misel Ağırlığı (KMA) ve birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya miktarları ( $q$ ) ( $T=30\text{ }^\circ\text{C}$  ;  $\text{pH}=5$  ;  $C_0= 50\pm 3\text{ mg/L}$  ;  $\text{Ç.H.}=150\text{ rpm}$ )

Başlangıç spor miktarı (adet)	$C_g$ (mg/L)	KMA (g/L)	$q$ (mg/g)
$1,0 \times 10^7$	15,75	0,85	18,53
$2,5 \times 10^7$	24,46	0,99	24,68
$5,0 \times 10^7$	50,40	1,49	33,80
$12,5 \times 10^7$	34,10	1,32	25,83
$25,0 \times 10^7$	29,27	1,26	23,21

Şekil 4.7'den görüldüğü gibi, LB ve CB içeren 80 mL'lik renk giderim ortamlarında spor miktarının  $1,0 \times 10^7$  adetten ve  $2,5 \times 10^7$  adete çıkarılması ile KMA'nın arttığı ve  $5,0 \times 10^7$  adet spor aşılansmış renk giderim ortamında KMA'nın maksimuma ulaştığı saptanmıştır. Renk giderim ortamındaki spor miktarının  $12,5 \times 10^7$  adet ve  $25,0 \times 10^7$  adet olacak şekilde artırılması ile KMA'nın giderek azaldığı gözlenmiştir. Başlangıç spor miktarının  $5,0 \times 10^7$  adete kadar artırılması ile KMA artışına bağlı olarak renk giderim veriminin arttığı, spor miktarının daha fazla artırılması ile KMA azalması ile renk giderim veriminin azaldığı saptanmıştır. En yüksek biyokütle yoğunluğu sağlanan  $5,0 \times 10^7$  adet/80 mL spor aşılansmış ortamlarda maksimum LB ve CB giderim verimi sağlanmıştır. Her iki boyar madde için optimum spor miktarının  $5,0 \times 10^7$  adet/80 mL olduğu sonucuna varılmıştır (Şekil 4.7). Bu durum, LB ve CB giderim ortamlarındaki aktif biyosorbent miktarlarının sırası ile 1,39 g/L ve 1,49 g/L'ye yükselmesinin biyosorbentin aktif bölgelerinin agregasyonuna yol açmadığını göstermektedir. Renk giderim ortamına  $5 \times 10^7$  adet/80 mL'nin üzerinde spor aşılansdığı zaman spor derişimi artışına paralel biyosorbent miktarında artış saptanamaması "koagüle olan tip" pelet oluşumu ile açıklanmıştır.



Şekil 4.7. Başlangıç spor miktarına göre KMA değişimi (içi boş semboller) ve LB ve CB giderim verimi (içi dolu semboller).

Literatürde filamentli funguslarda 2 tip pelet oluşumu olduğu belirtilmektedir. Birincisi, bir spordan bir peletin meydana geldiği “koagüle olmayan tip pelet oluşumu”; ikincisi ise sporların önce koagüle olup daha sonra çimlendiği ve bir peleti oluşturan spor sayısının başlangıç spor derişimine bağlı olduğu “koagüle olan tip pelet oluşumu”dur [132]. Spor miktarının  $5,0 \times 10^7$  adet üzerine çıkarılması ile KMA azalmasının, sporların birbirine yapışarak agregat oluşturması ve / veya ortam koşullarının tüm sporların çimlenmesi için yetersiz kalmasından dolayı olabileceği düşünülmüştür. Spor aşılmasından sonra, sporların önce koagüle olup daha sonra çimlenebileceği ve çimlenen sporların ortamdaki katı partikül ve çimlenmemiş sporlarla bir araya gelerek pelet oluşturabileceği belirtilmiştir [132].

Literatürde, filamentli funguslarla renk giderimini sağlamak amacı ile aşı olarak kullanılan spor miktarlarının  $10^5$  ile  $10^9$  arasında değiştiği gözlenmektedir [79, 128, 148]. Ayrıca renk giderimi için ön kültür hazırlamak amacı ile aşı olarak kullanılan spor miktarlarının da  $10^5$  ile  $10^9$  arasında değiştiği gözlenmektedir [93, 121, 149].

Pelet oluşumu için, kullanılan inokulum miktarının önemli olduğu vurgulanmaktadır. İnokulum miktarının artışı ile üreme hızı artışına bağlı olarak pelet çapının küçüldüğü ve düzgün yüzeyli peletlerin oluştuğu; düşük inokulum miktarlarının (% 1–2) kullanılması ile oluşan geniş çaplı peletlerde, oksijen ve besin maddelerinin difüzyonunun sınırlanması ile üreme hızının azaldığı ve buna bağlı olarak biyokütle miktarının düşük olduğu rapor edilmiştir. Aşı miktarının % 4'ün üzerine çıkarılması ile biyokütle oluşumunda ve buna bağlı organik gideriminde artış saptanamadığı belirtilmiştir [136].

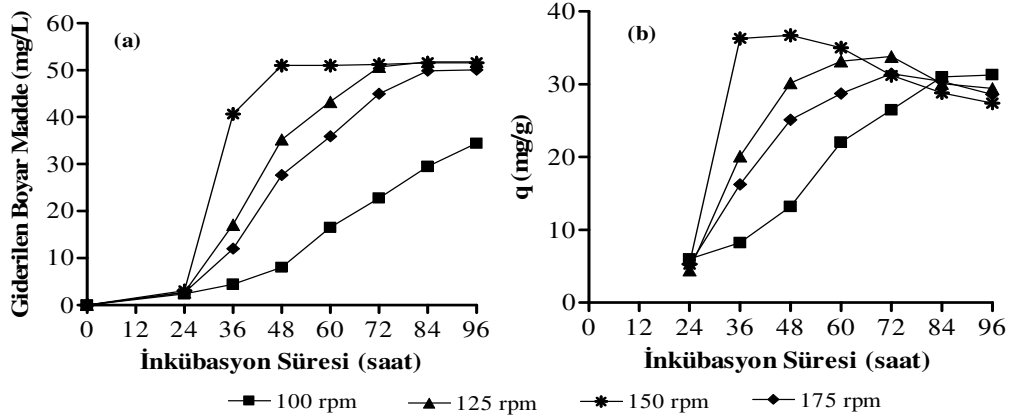
#### 4.1.5. Çalkalama Hızının Etkisi

LB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde çalkalama hızının etkisini araştırmak amacı ile başlangıç boya derişimleri  $50 \pm 3$  mg/L olan ortamlar farklı çalkalama hızlarında inkübe edilerek bir seri deney yapılmış; giderilen boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütesinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.8'de; inkübasyonun 48. ve 96. saatlerinde saptanmış olan kuru misel ağırlığı (KMA) ve renk giderim verimleri Çizelge 4.6'da sunulmuştur.

Şekil 4.8.a'dan görüldüğü gibi 125 rpm, 150 rpm ve 175 rpm çalkalama hızlarında giderilen boyar madde derişimlerinin zamanla arttığı ve dengeye ulaşma sürelerinin farklı olduğu; 100 rpm çalkalama hızında giderilen boyar madde derişiminin zamanla arttığı ve inkübasyonun 96. saatinde 34,45 mg/L boyar maddenin giderildiği saptanmıştır. 125 rpm, 150 rpm ve 175 rpm Çalkalama hızlarında inkübe edilen ortamlarda, giderilen boyar madde miktarları sırası ile 72. 48. ve 84. saatlere kadar hızla arttığı, daha sonra değişmediği belirlenmiştir. 150 rpm Çalkalama hızında inkübe edilen renk giderim ortamında inkübasyonun 48. saatinde 50,99 mg/L boyar madde giderildiğinden ve daha sonra ortamda kalan boyar madde derişimi, meydana gelen biyokütle için yeterli olmadığından, inkübasyonun 48. saatinde maksimuma ulaşan (36,74 mg/g) birim mikroorganizma kütesinde giderilen boyar madde miktarı daha sonra zamanla azalmaya başlamıştır (Şekil 4.8.b). Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doygun hale gelmemesi ile açıklanmıştır. İnkübasyonun 96. saatinde birim



mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarının 27,43 mg/g olduğu saptanmıştır. Benzer şekilde, 125 ve 175 rpm çalkalama hızlarında inkübe edilen renk giderim ortamlarında inkübasyonun 72. saatinde maksimuma ulaşan (sırası ile 33,81 mg/g ve 31,46 mg/g), birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarı daha sonra zamanla azalarak inkübasyonun 96. saatinde sırası ile 29,42 mg/g ve 28,62 mg/g olmuştur. 100 rpm Çalkalama hızında birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarı inkübasyonun 84. saatinde 31,02 mg/g'a ulaştığı ve 96. saate kadar belirgin bir değişiklik göstermediği saptanmıştır (Şekil 4.8.b).



Şekil 4.8. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen LB giderim ortamlarında giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi (T=30 °C ; pH=5 ; C<sub>0</sub>= 50±3 mg/L)

Çizelge 4.6'dan görüldüğü gibi, 100 rpm, 125 rpm, 150 rpm ve 175 rpm çalkalama hızlarında gerçekleştirilen renk giderimi çalışmalarında, çalkalama hızı artışı ile KMA miktarı ve LB giderim veriminin arttığı; çalkalama hızının 175 rpm'e çıkarılması ile KMA miktarı ve renk giderim veriminde azalma meydana geldiği saptanmıştır. 100 rpm, 125 rpm ve 175 rpm Çalkalama hızlarında, 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda sırası ile % 15,44, % 66,60 ve % 52,70 renk giderim verimi sağlanmıştır. İnkübasyonun 96. saatinde, 125 rpm, 150 rpm ve 175 rpm çalkalama hızlarında, KMA artışına bağlı olarak sırası ile % 97,86, % 98,70 ve % 95,46 renk giderimi sağlanmıştır. Çalkalama hızının 100 rpm olduğu koşullarda ise,

yeterli havalanma sağlanamamasına bağlı olarak KMA'nın düşük olduğu saptanmıştır. Miselyum gelişiminin iyi sağlanamadığı düşük çalkalama hızında, 96 saatlik inübasyon periyodu sonunda % 66,09 renk giderim verimi saptanmıştır. Bulgular, 125 rpm, 150 rpm ve 175 rpm çalkalama hızlarında 96 saatlik inkübasyon periyodu sonunda etkin renk gideriminin sağlanabildiğini göstermektedir. Ancak 48 saat içerisinde % 97,61 LB giderimi sağlandığından 150 rpm çalkalama hızının daha sonraki çalışmalar için en uygun koşul olduğu belirlenmiştir.

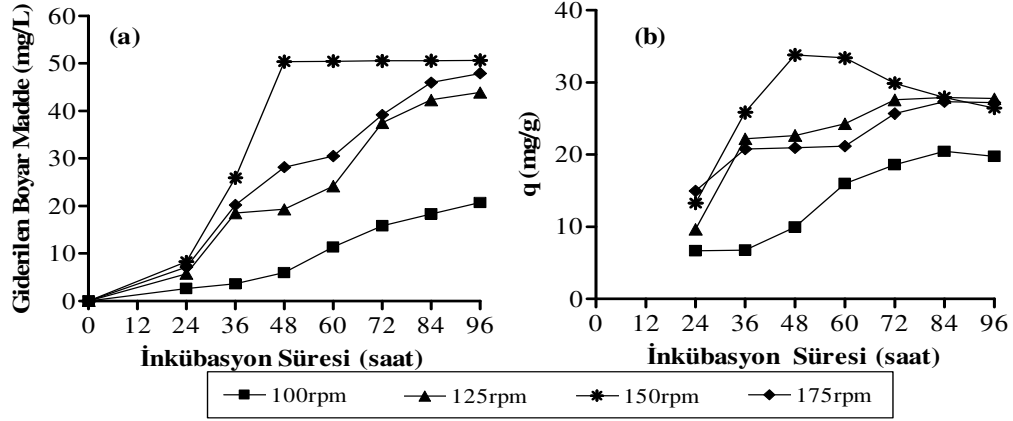
Çizelge 4.6. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen LB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA miktarı ve renk giderim verimi.

İnkübasyon süresi (saat)		Çalkalama Hızı (rpm)			
		100	125	150	175
48	KMA (g/L)	0,61	1,17	1,39	1,10
	Renk gidrim verimi (%)	15,44	66,60	97,61	52,70
96	KMA (g/L)	1,10	1,76	1,88	1,68
	Renk gidrim verimi (%)	66,09	97,86	99,13	95,46

*Aspergillus ficuum* ile Direct Black 22 boyar maddesinin statik kültürasyon ile % 45; çalkalamalı kültürasyon ile (150 rpm) % 96 renk giderimi sağlandığı bunun da renk gideriminin aerobik oluşuna bağlı olduğu rapor edilmiştir [72].

CB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde çalkalama hızının etkisini araştırmak amacı ile başlangıç boya derişimleri  $50 \pm 3$  mg/L olan ortamlar farklı çalkalama hızlarında inkübe edilerek bir seri deney yapılmış; giderilen boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.9'da; inkübasyonun 48. ve 96. saatlerinde saptanmış olan kuru misel ağırlığı (KMA) ve renk giderim verimleri Çizelge 4.7'de sunulmuştur. Şekil 4.9.a'dan görüldüğü gibi 150 rpm çalkalama hızında inkübe edilen ortamda giderilen boyar madde derişiminin 48. saatte dengeye ulaştığı; 125 rpm ve 175 rpm çalkalama hızlarında inkübe edilen ortamlarda, boyar madde gideriminin inkübasyonun 84. saatine kadar artış gösterdiği, 84. saatteki giderilen boyar madde miktarlarının sırası

ile 42,30 mg/L ve 45,99 mg/L olduğu ve daha sonra belirgin bir artışın meydana gelmediği saptanmıştır. 100 rpm çalkalama hızında ise giderilen boyar madde derişiminin inkübasyonun 96. saatine kadar artış gösterdiği ve inkübasyonun 96. saatinde 20,75 mg/L'ye ulaştığı saptanmıştır. Şekil 4.9.b'den görüldüğu gibi 100, 125 ve 175 rpm çalkalama hızlarında inkübasyonun 72. saatinde birim mikroorganizma kütesinde giderilen boyar madde miktarlarının sırası ile 18,61 mg/g, 27,59 mg/g ve 25,69 mg/g olduğu saptanmış ve inkübasyon sonuna kadar belirgin bir değişiklik gözlenememiştir. 150 rpm çalkalama hızında inkübe edilen renk giderim ortamında inkübasyonun 48. saatinde 50,40 mg/L boyar madde giderildiğinden ve daha sonra ortamda kalan boyar madde derişimi, meydana gelen biyokütle için yeterli olmadığından, inkübasyonun 48. saatinde maksimuma ulaşan (33,80 mg/g) birim mikroorganizma kütesinde giderilen boyar madde miktarı daha sonra zamanla azalmaya başlamıştır. Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doygun hale gelmemesi ile açıklanmıştır. İnkübasyonun 96. saatinde birim mikroorganizma kütesinde giderilen boyar madde miktarının 26,44 mg/g olduğu saptanmıştır (Şekil 4.9.b).



Şekil 4.9. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen CB giderim ortamlarında giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarlarının (b) inkübasyon süresi ile değişimi (T=30 °C ; pH=5 ; C<sub>0</sub>= 50±3 mg/)

Çizelge 4.7'den görüldüğü gibi, 100 rpm, 125 rpm, 150 rpm ve 175 rpm çalkalama hızlarında gerçekleştirilen renk giderimi çalışmalarında, çalkalama hızı artışı ile KMA miktarı ve CB giderim veriminin arttığı; çalkalama hızının 175 rpm'e çıkarılması ile KMA miktarı ve renk giderim veriminde azalma meydana geldiği saptanmıştır. Maksimum renk giderimi 150 rpm çalkalama hızında sağlanmıştır; 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda, ortamdaki boyar maddenin % 98,86'ı giderilmiştir. 100 rpm, 125 rpm ve 175 rpm Çalkalama hızlarında, 48 saatlik inkübasyon periyodu sonunda sırası ile % 11,79, % 38,05 ve %53,87 renk giderim verimi sağlanmıştır. 125 rpm, 150 rpm ve 175 rpm Çalkalama hızlarında inkübasyonun 96. saatinde KMA artışına bağlı olarak sırası ile % 86,38, % 99,37 ve % 91,61 renk giderim verimi sağlanmıştır. Çalkalama hızının 100 rpm olduğu koşullarda ise, yeterli havalanma sağlanamamasına bağlı olarak KMA'nın düşük olduğu saptanmıştır. Miselyum gelişiminin iyi sağlanamadığı düşük çalkalama hızında, 96 saatlik inübasyon periyodu sonunda % 49,00 renk giderim verimi saptanmıştır. Sonuç olarak en iyi CB giderim yüzdesi 150 rpm çalkalama hızında elde edilmiştir.

Çizelge 4.7. Farklı çalkalama hızlarında inkübe edilen CB giderim ortamlarında inkübasyonun 48. ve 96. saatlerindeki KMA miktarı ve renk giderim verimi.

İnkübasyon süresi (saat)		Çalkalama Hızı (rpm)			
		100	125	150	175
48	KMA (g/L)	0,60	0,85	1,49	1,35
	Renk gidrim verimi (%)	11,79	38,05	98,86	53,87
96	KMA (g/L)	1,05	1,58	1,92	1,76
	Renk gidrim verimi (%)	41,09	86,38	99,37	91,61

Çalkalama hızının 150 rpm'in altına düşürülmesi ile LB ve CB giderim veriminin düşmesi, fungus büyümesi ve pelet oluşumu için yeterli oksijen sağlanamamasına bağlanmıştır. Optimumun üzerindeki çalkalama hızlarında, biyosorpsiyon veriminin düşmesi, katı ve sıvı arasındaki en uygun temasın ılımlı çalkalama hızında meydana geldiğini göstermektedir.

Oksijen isteklerine göre, farklı mikroorganizmalar farklı boyar maddelerin renk gideriminde yer almaktadır. Literatürde, aerobik, fakültatif anaerobik ya da anaerobik [150] mikroorganizmalarla renk giderimine yer verilmektedir. Bazı fakültatif mikroorganizmaların aerobik ve anaerobik ardışık renk giderim sistemlerinde görev aldıkları rapor edilmiştir [151, 152]. *Pseudomonas aeruginosa* NBAR 12 bakteri suşu ile statik koşullarda daha yüksek renk giderim verimi saptanması, renk giderim prosesinde oksijene duyarlı redüktaz enziminin görev aldığını gösterdiği belirtilmiştir [144]. Aerobik solunum sırasında NADH tüketimi yüksek seviyede olduğundan oksijenli ortamlarda NADH'dan azo bağına elektron transferi engellendiğinden ortamda oksijenin bulunması azo bağı redüksiyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir [143]. Statik kültürlerde oksijen kolaylıkla tüketilebildiğinden anerobik, fakültatif anaerobik ve aerobik bakterilerin azo boyalarının indirgenmesinde görev alabildikleri belirtilmiştir [153]. Azo redüktaz enzim aktivitesi ile Reactive Red 22 boyar maddesinin renk gideriminde, serbest hücrelerin çalkalama hızına duyarlı oldukları ve 50 rpm çalkalama hızında, statik koşullardaki renk giderim veriminden % 80 daha düşük renk giderim verimi

saptandığı rapor edilmiştir. İmmobilizasyon işlemi ile hücelere azo redüktaz aktivitesi için uygun olan düşük oksijenli bir çevre sağlanmış olacağından renk giderim veriminde sadece % 25 azalma saptandığı rapor edilmiştir [154].

Anaerobik solunum ürünleri saptanan funguslar bilinmesine rağmen genellikle fungusların primer metabolizmalarının aerobik olduğu bildirilmektedir [134]. Büyüme pH'sı, inokulum miktarı, havalandırma miktarının mikroorganizmanın morfolojik özelliklerini değiştirebileceği belirtilmiştir [155]. Ortamda oksijen bulunmasının pelet oluşumunu olumlu etkilediği dolayısıyla filamentli fungusların, çalkalamalı koşullar altında pelet oluşturarak üredikleri belirtilmektedir [132]. Farklı türlerin optimum çalkalama hızı farklılık göstermektedir. Oksijen sınırlamasına yol açan koşullar altında pelet boyutunun küçüldüğü, optimumun üzerindeki çalkalama hızlarında ise pelet oluşumunun inhibe olduğu ve filamentli büyümenin gözlemlendiği belirtilmektedir [132]. Airlift biyoreaktörde, oksijen akış hızının artırılması ile biyokütle üretiminin arttığı ancak belirli bir noktadan sonra mikroorganizma stresinden kaynaklı hif ya da miselyum üremesinde hasar meydana geleceğinden biyokütle üretiminin yavaşladığı belirtilmiştir [155]. Pelet oluşumunu artıran faktörlerin hücre duvarı hidrofobik özelliğini artırdığı belirtilmektedir [132]. Pelet yapıda büyümenin en önemli avantajı ise ortam viskozitesinin artırmamasıdır. Ortam viskozitesinin artışı ile kültür ortamının karışımı ve kütle transferi güçleştiği; pelet oluşumu sağlanan kültürlerde düşük viskoziteden dolayı oksijen ve nütrient transferinin daha yüksek olduğundan, biyokütle üretkenliğinin serbest hücrelerin bulunduğu kültür ortamındakinden daha yüksek olmasını sağladığı belirtilmektedir [132].

*Aspergillus foetidus* [83] ve *Cunninghamella elegans* [149] ile reaktif azo boyar maddelerin gideriminin sırası ile 200 rpm ve 150 rpm çalkalama hızlarında sağlandığı rapor edilmiştir. *Aspergillus oryzae* ile maksimum büyümenin ve maksimum krom gideriminin 150 rpm çalkalama hızında saptandığı, çalkalama hızı artışı ile fungusun nütrient kullanımının ve oksijen transferinin baskılandığı belirtilmiştir [137].

*Funalia trogii* ile maksimum renk giderimi 100–150 rpm arasındaki çalkalama hızlarında meydana geldiği; çalkalama hızının azalmasıyla renk giderim veriminin azaldığı belirtilmiştir [101]. Knapp ve ark [156], statik koşullarda beyaz çürükçül fungus ile Orange II boyar maddesinin % 45'inin, çalkalamalı koşullarda ise % 97,5'inin giderildiğini rapor etmişlerdir. Kağıt ve kağıt hamuru fabrikası çıkış suyunun, *Aspergillus fumigatus* ve *Aspergillus flavus* ile durağan koşullardaki renk giderim verimi sırası ile % 55,5 ve % 53,5 iken çalkalamalı koşullarda (200 rpm) sırası ile % 89,3 ve % 84,0 olduğu; çalkalamalı koşullarda daha yüksek renk giderim verimi sağlanmasının, lignin biyodegradasyonu ve renk giderimi için oksijen gerekliliğini gösterdiği vurgulanmıştır [120].

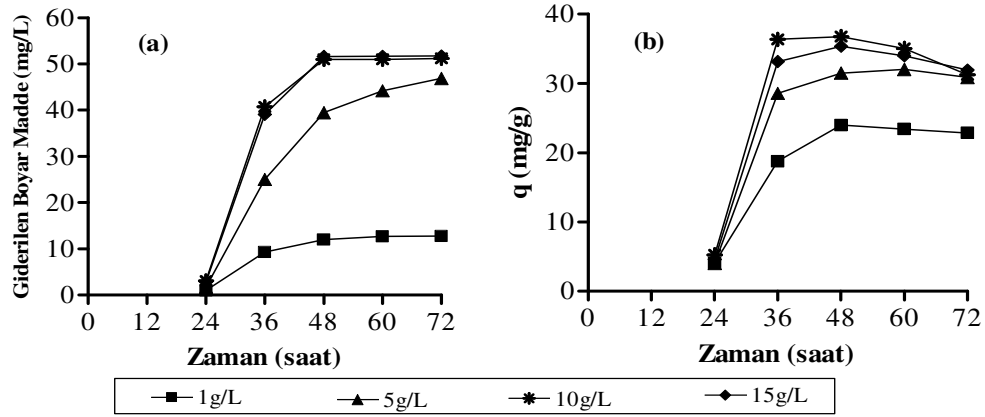
*T. versicolor* statik kültürlerinin 50 mg/L Amaranth boyar maddesinin % 5'ini, 60 mg/L Remazol Black B boyar maddesinin % 13'ünü giderebilmesine rağmen, çalkalamalı kültürlerinin aynı derişimde boyar maddelerin tamamını giderebildiği; statik koşullarda fungusun, yüzeyde bir tabaka oluşturacak şekilde ürediği, dolayısıyla yüzeyde meydana gelen tabakanın hem oksijen transferini güçleştireceği hem de boyar madde adsorpsiyonu için yüzey alanının, çalkalamalı koşullarda meydana gelen peletlerin yüzey alanından daha az olacağı belirtilmiştir [108].

#### 4.1.6. Glikoz Derişiminin Etkisi

LB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde ortamdaki glikoz (karbon kaynağı) derişiminin etkisini araştırmak amacı ile başlangıç boyar madde derişimleri  $50 \pm 4$  mg/L olan, farklı miktarlarda glikoz içeren ortamlarda bir seri deney yapılmış; ortamda kalan boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.10'da; glikoz derişimleri farklı renk giderim ortamlarındaki ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi Çizelge 4.8'de sunulmuştur.

Şekil 4.10.a'dan görüldüğü gibi, başlangıç glikoz derişimleri farklı ortamlarda giderilen boyar madde derişimlerinin zamanla arttığı ve dengeye ulaştığı saptanmıştır. Şekil 4.10 b'den görüldüğü gibi, başlangıç glikoz derişimleri 1 g/L ve 5 g/L olan ortamlarda, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyonun 48. saatine kadar arttığı ve dengeye ulaştığı; başlangıç glikoz derişimleri 10 g/L ve 15 g/L olan ortamlarda, zamanla artan birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyonun 48. saatinden sonra azaldığı saptanmıştır. Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doygun hale gelmemesi ile açıklanmıştır. LB giderim ortamında glikoz derişiminin 10 g/L'ye kadar artırılması ile giderilen boyar madde miktarının ve birim *Aspergillus oryzae* kütlelerinde giderilen boyar madde miktarının arttığı; glikoz derişimi 10 g/L'nin üzerinde kullanıldığı zaman giderilen boyar madde miktarının sabit kaldığı, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarının (q) azaldığı saptanmıştır. Renk gideriminin artması, glikozun fungus tarafından kolaylıkla kullanılarak hücre yoğunluğunun artmasına bağlanmıştır. Glikoz derişimi 1 g/L olan renk giderim ortamında KMA inkübasyonun 24. saatinde 0,25 g/L, 96. saatinde ise 0,56 g/L olduğu saptanmıştır. İnkübasyon süresince zamana bağlı KMA artışının düşük olmasına bağlı olarak zamana bağlı giderilen boyar madde miktarının da düşük olduğu; 1 g/L glikozun etkin renk giderimi sağlayacak miktarda biyokütle oluşumu için yeterli olmadığı saptanmıştır. Glikoz derişimi 1 g/L olan renk giderim ortamında inkübasyonun 72. saatinde 12,81 mg/L boyar maddenin giderildiği (Şekil 4.10.a), maksimum birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarına inkübasyonun 48. saatinde ulaşıldığı (23,98 mg/g) saptanmıştır (Şekil 4.10.b). 10 g/L ve 15 g/L glikoz içeren renk giderim ortamında 48 saat içerisinde sırası ile 50,99 mg/L ve 51,61 mg/L boyar madde giderimi sağlanmıştır.





Şekil 4.10. Başlangıç glikoz derişiminin (a) adsorplanan LB derişimi (b) mikroorganizma adsorpsiyon kapasitesi üzerine etkisi (T=30 °C ; pH=5 ; C<sub>0</sub>= 50±4 mg/L ; Ç.H.=150 rpm)

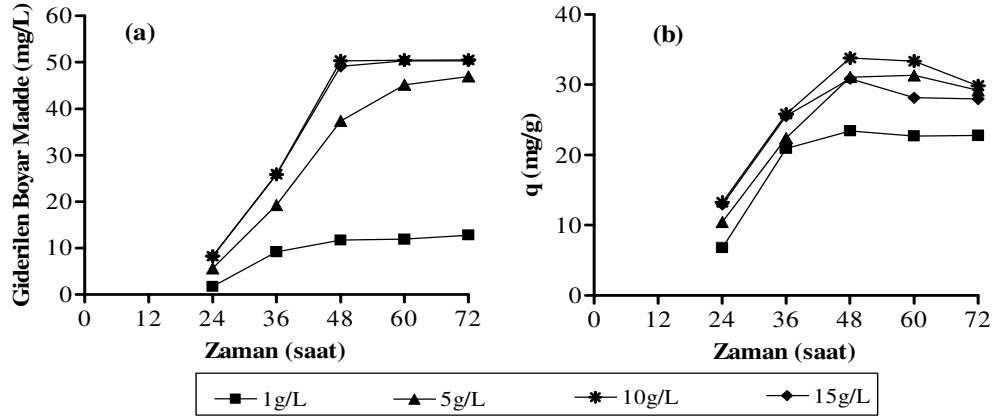
CB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde ortamdaki glikoz (karbon kaynağı) derişiminin etkisini araştırmak amacı ile başlangıç boyar madde derişimleri 50±4 mg/L olan, farklı miktarlarda glikoz içeren ortamlarda bir seri deney yapılmış; ortamda kalan boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.11'de; farklı derişimlerde glikoz içeren renk giderim ortamlarında ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi Çizelge 4.8'de sunulmuştur.

Şekil 4.11.a'dan görüldüğü gibi başlangıç glikoz derişimleri farklı ortamlarda giderilen boyar madde derişimlerinin zamanla arttığı ve dengeye ulaştığı saptanmıştır. Şekil 4.11 b'den görüldüğü gibi, başlangıç glikoz derişimleri 1 g/L ve 5 g/L olan ortamlarda, birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyonun 48. saatine kadar arttığı ve dengeye ulaştığı; başlangıç glikoz derişimleri 10 g/L ve 15 g/L olan ortamlarda, zamanla artan birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyonun 48. saatinden sonra azaldığı saptanmıştır. Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doğun hale gelmemesi ile açıklanmıştır. CB giderim ortamında glikoz derişiminin 10 g/L'ye kadar artırılması ile birim *Aspergillus oryzae* kütlelerinde

giderilen boyar madde miktarının arttığı; glikoz derişimi 10 g/L'nin üzerinde kullanıldığı zaman giderilen boyar madde miktarının sabit kaldığı, birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boyar madde miktarının (q) azaldığı saptanmıştır.

Glikoz derişimi 1 g/L olan renk giderim ortamında KMA'nın inkübasyonun 24. saatinde 0,25 g/L 72. saatinde ise 0,56 g/L olduğu saptanmıştır. İnkübasyon süresince zamana bağı KMA artışının düşük olmasına bağı olarak zamana bağı giderilen boyar madde miktarının da düşük olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak 1 g/L glikozun etkin renk giderimi sağlayacak miktarda biyokütle oluşumu için yeterli olmadığı saptanmıştır. Glikoz derişimi 1 g/L olan renk giderim ortamında inkübasyonun 96. saatinde 12,81 mg/L boyar maddenin giderildiğı (Şekil 4.11.a), maksimum birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boyar madde miktarına inkübasyonun 48. saatinde ulaşıldığı (23,43 mg/g) saptanmıştır (Şekil 4.11.b). Glikoz derişimleri 10 g/L ve 15 g/L olan renk giderim ortamlarında 48 saat içerisinde sırası ile 50,40 mg/L ve 49,11 mg/L boyar madde giderimi sağlanmıştır (Şekil 4.11.a).

Literatürde de süroz derişiminin 10 g/L'ye kadar artırılması ile *Candida tropicalis* boya akümülyasyon kapasitesinin arttığı; süroz derişimi 10 g/L'nin üzerinde kullanıldığı zaman akümüle olan boya derişiminin arttığı, spesifik büyüme hızının artışına bağı olarak mikroorganizma boya akümülyasyon kapasitesinin (q) azaldığı rapor edilmiştir [76]. Renk gideriminin artması, glikozun fungus tarafından kolaylıkla kullanılarak hücre yoğunluğunun artmasına bağlanmıştır.



Şekil 4.11. Başlangıç glikoz derişiminin (a) adsorplanan CB derişimi (b) mikroorganizma adsorpsiyon kapasitesi üzerine etkisi (T=30 °C ; pH=5; C<sub>0</sub>= 50±4 mg/L ; Ç.H.=150 rpm)

Çizelge 4.8'den görüldüğü gibi renk giderim ortamındaki glikoz derişiminin 1 g/L'den 15 g/L'ye artırılması ile KMA ve mikroorganizma spesifik üreme hızında artış saptanmıştır. Renk giderim ortamındaki glikoz derişiminin 10 g/L'ye kadar artırılması ile inkübasyonun 48. saatinde LB ve CB boyar maddeleri için sırası ile % 97,61 ve % 98,85 renk giderim verimi sağlanmıştır. Bulgular, LB ve CB giderimi için 10 g/L glikoz kullanılmasının yeterli olacağını göstermektedir.

Glikoz derişiminin 10 g/L'den 15 g/L'ye artırılması ile LB giderim ortamındaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA değeri 1,39 mg/L'den 1,46 mg/L'ye; CB giderim ortamındaki KMA değeri de 1,49 mg/L'den 1,55 mg/L'ye yükselmesine rağmen her iki ortamda da renk giderim veriminde bir artış saptanamamıştır. Ayrıca her iki boyar madde için de glikoz derişiminin 10 g/L'den 15 g/L'ye artırılması ile renk giderim süresinin kısalmadığı gözlenmiştir. Aksu ve Dönmez [76], sükröz derişiminin 15 g/L'ye kadar artırılması ile biyokütle artışına ve hücre içi akümülyasyonun enerji gerektiren doğasına bağlı olarak giderilen boyar madde miktarının arttığını ve renk giderim süresinin kısaldığını belirtmişlerdir.

Çizelge 4.8. Farklı derişimlerde glikoz içeren renk giderim ortamlarında ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi.

	<b>Başlangıç Glikoz Derişimi (g/L)</b>	<b>KMA (g/L)</b>	<b><math>\mu(x10^{-2})</math> (saat<sup>-1</sup>)</b>	<b>Renk giderimi (%)</b>
Kontrol	1,00	0,52	3,07	-
	5,00	1,29	3,52	-
	10,00	1,54	3,70	-
	15,00	1,63	3,83	-
LB	1,00	0,51	2,90	22,80
	5,00	1,25	3,28	74,95
	10,00	1,39	3,64	97,61
	15,00	1,46	3,71	96,36
CB	1,00	0,5	2,89	23,47
	5,00	1,21	3,31	75,10
	10,00	1,49	3,65	98,85
	15,00	1,55	3,72	98,88

*Aspergillus oryzae*'nin renk gideriminde biyokütle gelişimi için kolay kullanılabilir bir karbon enerji kaynağına ihtiyaç duyması, Sumathi ve Manju [83] tarafından da belirtildiği gibi, boyar maddenin hücre duvarına ya da hücre membran bileşenlerine bağlanarak ve/veya hücre içerisine girerek akümülyasyonla giderildiğini gösterebilmektedir. Ayrıca, ortamdaki glikoz derişiminin artırılması ile artan büyüme hızının ortamda organik asit birikim hızının artışına yol açarak pH azalma hızını da artırabileceği ve bu şekilde fungusun boya alım hızını artırabileceği belirtilmiştir [83]. Mikrobiyal büyüme sırasında renk giderimi sağlanan çalışmalarda ortamda kolay kullanılabilir bir karbon ve enerji kaynağının bulunması ile renk gideriminin sağlandığı ve primer büyüme substratının renk giderimi üzerine pozitif etkisi literatürde belirtilmektedir [83, 144].

Lignin peroksidaz, mangan peroksidaz, lakkaz gibi beyaz çürükçül funguslar tarafında sentezlenen ve renk giderimini sağlayan enzimler genellikle karbon ve/veya azot sınırlı ortamlarda sentezlendiği literatürde belirtilmektedir [86, 157, 158].

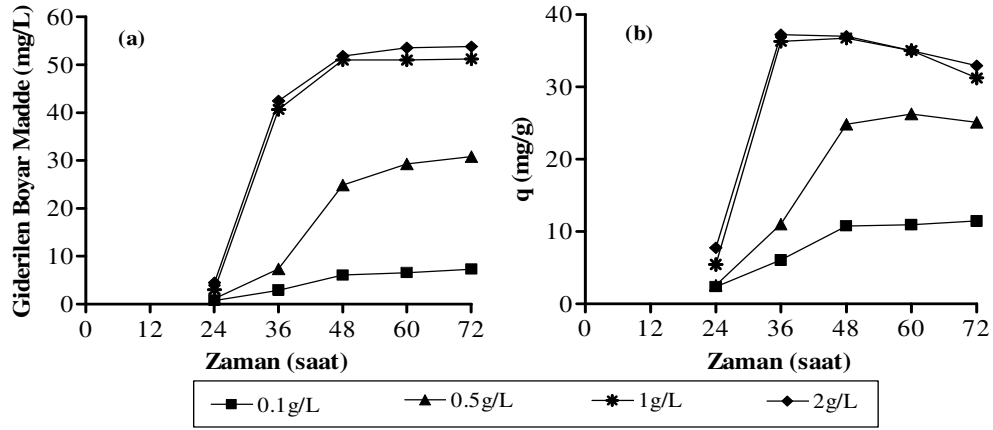
Büyüyen *Aspergillus niger* hücreleri ile adsorpsiyona bağlı renk gideriminde, glikoz eksikliğinde renk giderimi sağlanamadığı 3 g/L glikoz kullanılmasının yeterli olduğu; 3g/L'nin üzerindeki glikoz derişimlerinde renk giderim veriminde değişiklik gözlenemediği ancak glikozun 3 g/L'nin altında kullanılmasının renk giderimini önemli ölçüde inhibe ettiği rapor edilmiştir [93]. *Cunninghamella polymorpha*'nın 10 g/L glikoz ve 100 mg/L Dispers Blue 60 içeren sentetik ortamda (pH 5), 94 saat sonunda % 85 renk giderimi sağlanırken 30 g/L glikoz içeren PGY ortamında (pH 5), 36 saat sonunda % 95; 120 saat sonunda ise % 100 renk giderimi sağlandığı ve 17 g/L glikozun tüketildiği; fungusun DB-60'ı karbon kaynağı olarak kullanamadığından, glikoz içermeyen sentetik ortamda renk giderimi sağlayamadığı rapor edilmiştir [96]. Cing ve Yeşilada [129], ortama glikoz ilave edilerek *Funalia trogii* peletleri ile giderim verimi ve pelet kararlılığının artırılabilğini belirtmişlerdir.

#### 4.1.7. Amonyum Dihidrojen Fosfat Derişiminin Etkisi

LB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde ortamdaki amonyum dihidrojen fosfat (azot kaynağı) derişiminin etkisini araştırmak amacı ile başlangıç boyar madde derişimleri  $50 \pm 5$  mg/L olan ve farklı miktarlarda amonyum dihidrojen fosfat içeren ortamlarda bir seri deney yapılmış; ortamda kalan boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değişimi Şekil 4.12'da; farklı derişimlerde glikoz içeren renk giderim ortamlarında ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi Çizelge 4.9'de sunulmuştur.

Şekil 4.12.a'den görüldüğü gibi, başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri farklı ortamlarda, giderilen boyar madde derişiminin zamanla arttığı ve

dengeye ulaştığı saptanmıştır. Şekil 4.12.b'den görüldüğü gibi, başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri 0,1 g/L ve 0,5 g/L olan ortamlarda, birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla arttığı ve dengeye ulaştığı; başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri 1 g/L ve 2 g/L olan ortamlarda ise birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla arttığı ve inkübasyonun 36. saatinden sonra azaldığı saptanmıştır. 1 g/L ve 2 g/L amonyum dihidrojen fosfat bulunan ortamlarda birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarının inkübasyonun 36. saatinde maksimuma ulaştığı (sırası ile 36,32 mg/g ve 37,20 mg/g) daha sonra zamanla azaldığı saptanmıştır. Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doymuş hale gelmemesi ile açıklanmıştır. Başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimi 0,1 g/L olan ortamda, inkübasyon süresinde giderilen boyar madde miktarının ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla belirgin bir artış göstermediği; maksimum giderilen boyar madde miktarı ve birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarı sırası ile 7,35 mg/L ve 11,46 mg/g olduğu belirlenmiştir. Amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 2 g/L'ye kadar artırılması ile giderilen boyar madde derişiminin arttığı saptanmıştır (Şekil 4.12.a). Amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 1 g/L'ye kadar artırılması ile birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının arttığı; 1 g/L ve 2 g/L amonyum dihidrojen fosfat içeren ortamlardaki zamana bağlı birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarının değişmediği saptanmıştır (Şekil 4.12.b). 1g/L ve 2 g/L amonyum dihidrojen fosfat bulunan ortamlarda 72 saatlik inkübasyon periyodu sonunda sırası ile 51,22 mg/L ve 53,77 mg/L LB giderimi sağlanmıştır. (Şekil 4.12.b). Sonuç olarak 1 g/L'nin altında amonyum dihidrojen fosfat kullanıldığında etkin renk giderimi için yeterli biyokütle oluşumunun sağlanamadığı; 1 g/L amonyum dihidrojen fosfatın LB giderimi için yeterli olduğu saptanmıştır.

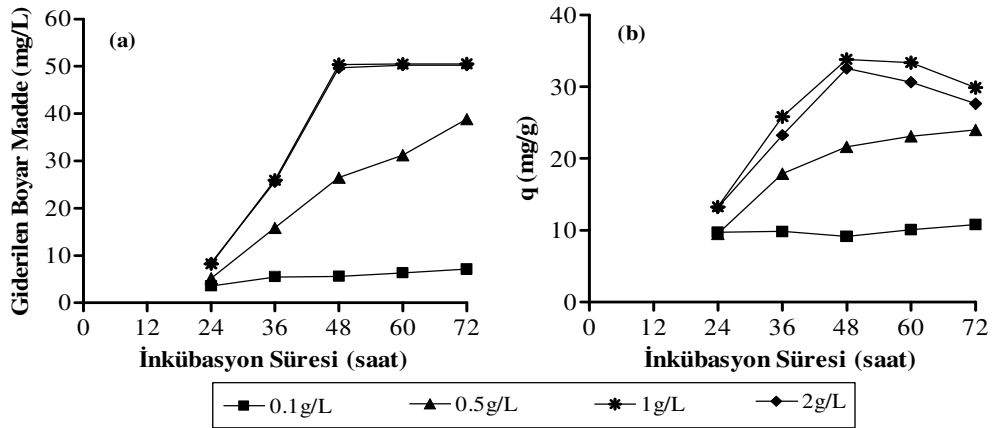


Şekil 4.12. Başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri farklı LB giderim ortamlarında zamana bağılı giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları (b) (T=30 °C ; pH=5 ; C<sub>0</sub>= 50±5 mg/L ; Ç.H.=150 rpm)

CB'nin aktif *A. oryzae* ile gideriminde ortamdaki amonyum dihidrojen fosfat (azot kaynağı) derişiminin etkisini araştırmak amacı ile başlangıç boyar madde derişimleri 50±5 mg/L olan ve farklı miktarlarda amonyum dihidrojen fosfat içeren ortamlarda bir seri deney yapılmış; ortamda kalan boyar madde derişimleri ile birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının inkübasyon süresi ile değışimi Şekil 4.13'de; farklı derişimlerde glikoz içeren renk giderim ortamlarında ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi Çizelge 4.9'de sunulmuştur.

Şekil 4.13'den görüldüğü gibi, başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimi 0,5 g/L olan ortamda giderilen boya miktarı ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının zamanla arttığı; 0,1 g/L olan ortamda ise giderilen boyar madde miktarının ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının zamanla belirgin bir artış göstermediği saptanmıştır. Başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri 1,0 ve 2,0 g/L olan renk giderim ortamlarında, giderilen boyar madde miktarının 48.saate kadar arttığı ve dengeye ulaştığı (Şekil 4.13.a); birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının 48. saatte maksimuma

ulaştığı (sırası ile 33,80 mg/g ve 32,58 mg/g) daha sonra zamanla azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.13.b). Bu azalma, ortamda kalan boyar madde miktarının azalmasına bağlı olarak biyokütlenin doymuş hale gelmemesi ile açıklanmıştır. Başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimi 0,1 g/L olan renk giderim ortamında maksimum giderilen boyar madde miktarı ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarı 72. saatte sırası ile 7,10 mg/L ve 10,83 mg/g olduğu belirlenmiştir. Amonyum dihidrojen fosfat derişimleri 1g/L ve 2 g/L ortamlarda zamana bağlı giderilen boyar madde derişimlerinde farklılık olmadığı; 72 saatlik inkübasyon periyodu sonunda sırası ile 50,53 mg/L ve 50,30 mg/L CB giderildiği saptanmıştır (Şekil 4.13). Amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 1 g/L'ye kadar artırılması ile birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının arttığı; 2 g/L'ye artırılması ile zamana bağlı birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının azaldığı saptanmıştır. Bu azalma, başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 2 g/L'ye artırılması ile artan biyokütlenin doymuş hale gelmemesi ile açıklanmıştır. Sonuç olarak 1 g/L'nin altında amonyum dihidrojen fosfat kullanıldığında etkin renk giderimi sağlanması için yeterli biyokütle oluşumunun sağlanmadığı; 1 g/L amonyum dihidrojen fosfatın CB giderimi için yeterli olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.13. Başlangıç amonyum dihidrojen fosfat derişimleri farklı CB giderim ortamlarında zamana bağlı giderilen boyar madde miktarları (a) ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları (b) (T=30 °C ; pH=5 ; C<sub>0</sub>= 50±5 mg/L ; Ç.H.=150 rpm)



Çizelge 4.9'dan görüldüğü gibi, LB ve CB giderim ortamındaki amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 1 g/L'ye kadar artırılması ile KMA ve mikroorganizma spesifik üreme hızının arttığı saptanmıştır. Amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 1 g/L'den 2 g/L'ye kadar artırılması ile KMA ve mikroorganizma spesifik üreme hızında belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 1 g/L'den 2 g/L'ye kadar artırılması ile inkübasyonun 48. saatindeki renk giderim verimi LB için % 97,61'den % 94,67'ye ve CB için % 98,85'den % 97,86'ya düşmüştür. Her iki boyar maddenin gideriminde optimum amonyum dihidrojen fosfat derişiminin 1 g/L olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.9. Farklı derişimlerde amonyum dihidrojen fosfat içeren renk giderim ortamlarında ve boyar madde içermeyen ortamlardaki 48 saatlik inkübasyon periyodu sonundaki KMA, spesifik mikroorganizma üreme hızı ve renk giderim verimi.

	<b>Amonyum Dihidrojen Fosfat Derişimi (g/L)</b>	<b>KMA (g/L)</b>	<b><math>\mu</math> (<math>\times 10^{-2}</math>) (1/h)</b>	<b>Renk giderimi (%)</b>
Kontrol	0,10	0,64	2,24	-
	0,50	1,31	3,56	-
	1,00	1,54	3,70	-
	2,00	1,58	3,73	-
LB	0,10	0,56	2,19	11,37
	0,50	1,00	3,29	46,66
	1,00	1,39	3,64	97,61
	2,00	1,40	3,64	94,67
CB	0,10	0,61	2,12	11,18
	0,50	1,22	3,33	53,42
	1,00	1,49	3,65	98,85
	2,00	1,52	3,65	97,86

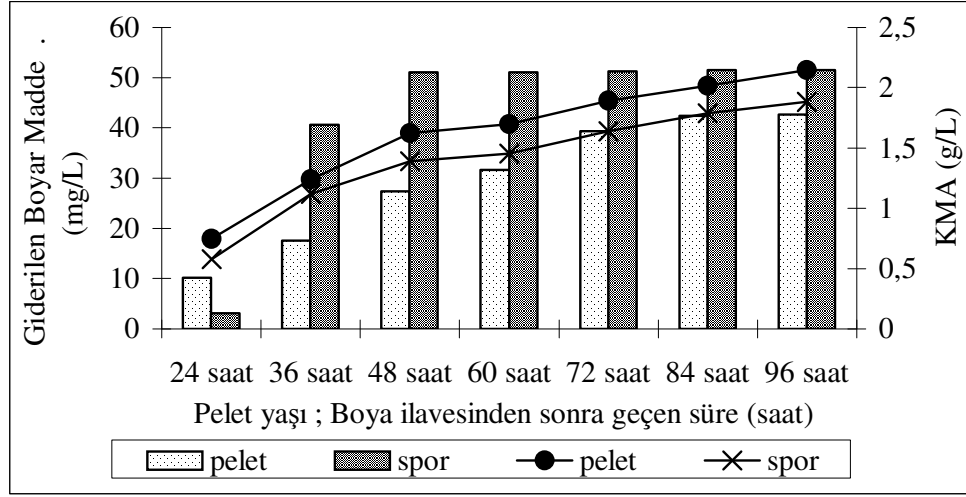
Renk giderim ortamında amonyum dihidrojen fosfat 1 g/L'nin altında kullanıldığı zaman primer metabolizmaya bağlı olan LB ve CB giderimi için yeterli biyokütle oluşumunun sağlanamadığı sonucuna varılmıştır. Optimum renk giderimi

için gerekli nütrientlerin, renk gideriminde kullanılan mikrobiyal türlerin özelliklerine bağlı olduğu rapor edilmiştir [144]. Literatürde büyümeye (primer metabolizma) bağlı renk giderimi için farklı mikroorganizma türleri için farklı azot kaynakları ve farklı miktarlarda önerilmektedir [72, 75, 144]. Renk giderim ortamındaki amonyum tartarat derişiminin 2 g/L'ye kadar artması ile gideri veriminin arttığı ancak 3 g/L ve 4 g/L bulunan renk giderim ortamlarında renk giderim veriminin azaldığı rapor edilmiştir [72]. *Pseudomonas aeruginosa* ile renk gideriminde azot kaynağı olarak kullanılan maya ekstraktının 2,5 g/L'nin üzerinde kullanıldığı zaman renk gideriminin inhibe olduğu belirtilmiştir [144]. *Aspergillus sojae* B-10 suşunun 1,8 g/L NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub> varlığında maksimum renk giderim verimi sağladığı belirtilmiştir [92]. *Aspergillus oryzae* ile krom gideriminde kullanılan azot kaynağının önemi vurgulanmış; % 0,3 amonyum dihidrojen fosfat kullanılan ortamlarda maksimum krom gideriminin sağlandığı belirtilmiştir [137].

Sekonder metabolizmaya bağlı renk gideriminde sorumlu enzimlerin azot ve/veya karbon sınırlı koşullarda sentezlendiği literatürde belirtilmektedir [86, 157, 158]. Sıvı renk giderim ortamındaki azot seviyesinin yüksek oluşunun ligninolitik enzim aktivitesini ve dolayısıyla renk giderimini baskıladığından, ligninolitik enzim aktivitesi ile renk gideriminin sağlandığı belirtilen çalışmada, azot kaynağı olarak 0,03 g/L sodyum nitrat kullanıldığı rapor edilmiştir [160]. *Funalia trogii* peletleri kullanılarak sürekli boya madde ilavesi yapılan sistemde azot kaynağı (NH<sub>4</sub>Cl) bulunmayan ortamda üçüncü boya ilavesinde % 97 renk giderimi sağlanırken, 1 g/L ve 2 g/L (NH<sub>4</sub>Cl) içeren renk giderim ortamlarda üçüncü boya ilavesinden sonra renk giderim veriminin önemli ölçüde azaldığı (sırası ile % 74 ve % 82), 2 g/L (NH<sub>4</sub>Cl) içeren ortamda, 5. boya ilavesinden sonra renk giderimi saptanmadığı; fungusun yüksek azot kaynağı varlığında boya maddeyi azot kaynağı olarak kullanmadığı rapor edilmiştir [129]. Kağıt ve kağıt hamuru atık suyunun renk gideriminde lakkaz ve MnP enzimlerinin rol aldığı belirtilen çalışmada, ortama azot kaynağı ilave edilmesinin renk giderimini etkilemediği belirtilmiştir [120].

#### 4.1.8. Pelet Yaşının Etkisi

Mikroorganizma yaşının LB giderimi üzerine etkisini belirlemek amacı ile sabit sıcaklık (30 °C) ve çalkalama hızında (150 rpm), 24, 36, 48, 60, 72, 84 ve 96 saat süreyle oluşturulan peletlerin bulunduğu ortamlara 50±3 mg/L derişimi sağlayacak miktarda boyar madde ilavesinden 24 saat sonra bir seri deney yapılmış, giderilen boyar madde derişimleri ve KMA miktarları, optimum koşullarda spor aşıl原因 olarak elde edilen bulgularla karşılaştırmalı olarak Şekil 4.14'de; farklı misel yaşlarında birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarları Şekil 4.16'da sunulmuştur. Şekil 4.14'den görüldüğü gibi, pelet yaşı artışı ile KMA'nın arttığı ve buna bağılı olarak giderilen boyar madde miktarının arttığı saptanmış; 84 ve 96 saatlik peletler ile giderilen boyar madde miktarlarında belirgin bir farklılık saptanamamıştır. 24, 36, 48, 60, 72, 84 ve 96 Saat süreyle oluşturulan peletlerin bulunduğu ortamlara 50±3 mg/L derişimi sağlayacak miktarda LB ilavesinden 24 saat sonra sırası ile % 20,28; % 35,26; % 54,91; % 63,43; % 78,88; % 85,01 ve % 85,46 renk gideriminin sağlandığı saptanmıştır. Optimum koşullarda (30 °C, 150 rpm, pH=5), 50±3 mg/L LB içeren ortamlara spor aşıl原因masından 24 saat sonra renk giderimi için yeterli biyokütle oluşumu sağlanamamasına bağılı olarak 3,06 mg/L boyar madde giderimi sağlanmıştır. 24 saatlik peletlerin bulunduğu ortama boyar madde ilavesinden 24 saat sonra ise ortamda daha yoğun biyokütle bulunmasına bağılı olarak 10,12 mg/L boyar madde giderimi saptanmıştır. Spor aşıl原因masından 36 saat sonra ise hızlı biyokütle gelişimine bağılı olarak 40,68 mg/L boyar madde giderimi sağlanırken 36 saatlik peletlerle sadece 17,59 mg/L boyar maddenin giderildiğı belirlenmiştir. LB içeren ortama spor aşıl原因landıktan 48 saat sonra 50,99 mg/L boyar maddenin giderildiğı ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının 36,74 mg/g olduğı; aynı koşullarda 48 saat üretilen fungal peletler üzerine 49,99 mg/L boyar madde ilave edildikten 24 saat sonra 27,40 mg/L boyar maddenin giderildiğı ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarı 16,88 mg/g olduğı saptanmıştır.

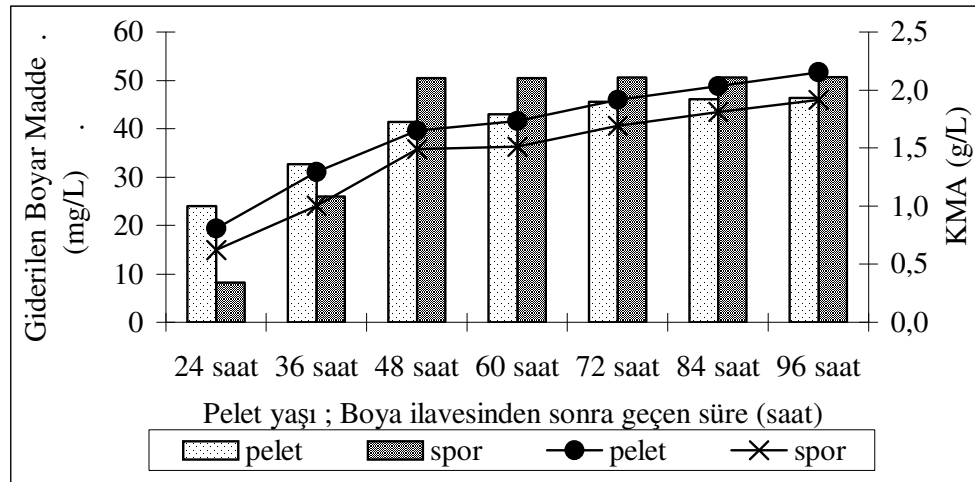


Şekil 4.14. Farklı yaşlardaki peletlerin bulunduğu ortamlara LB (50±3 mg/L) ilavesinden 24 saat sonra (pelet) ve LB (50±3 mg/L) içeren ortamlara spor aşılmasından belirli süreler sonra (spor) giderilen boyar madde derişimi (sütun) ve KMA değişimi (çizgi).

Mikroorganizma yaşının CB giderimi üzerine etkisini belirlemek amacı ile sabit sıcaklık (30 °C) ve çalkalama hızında (150 rpm), 24, 36, 48, 60, 72, 84 ve 96 Saat süreyle oluşturulan peletlerin bulunduğu ortamlara 50±3 mg/L derişimi sağlayacak miktarda boyar madde ilavesinden 24 saat sonra bir seri deney yapılmış, giderilen boyar madde derişimleri ve KMA miktarları, optimum koşullarda spor aşılansın elde edilen bulgularla karşılaştırmalı olarak Şekil 4.15'de; farklı misel yaşlarında birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları Şekil 4.16'da sunulmuştur.

Şekil 4.15'den görüldüğü gibi, pelet yaşı artışı ile KMA'nın arttığı ve buna bağlı olarak giderilen boyar madde miktarının arttığı saptanmış; 72, 84 ve 96 saatlik peletler ile giderilen boyar madde miktarlarında belirgin bir farklılık saptanamamıştır. 24, 36, 48, 60, 72, 84 ve 96 saat süreyle oluşturulan peletlerin bulunduğu ortamlara 50±3 mg/L derişimi sağlayacak miktarda CB ilavesinden 24 saat sonra sırası ile % 49,18; % 67,13; % 85,05; % 88,18; % 93,59; % 94,66 ve % 95,19 renk gideriminin sağlandığı saptanmıştır. Maksimum renk gideriminin sağlandığı koşullarda (30 °C, 150 rpm, pH=5), 50±3 mg/L CB içeren ortamlara spor aşılansından 24 ve 36 saat sonra renk giderimi için yeterli biyokütle oluşumu

sağlanamamasına bağlı olarak sırası ile 8,26 mg/L ve 25,95 mg/L boyar madde giderimi sağlanmıştır. 24 ve 36 saatlik peletlerin bulunduğu ortamlara boyar madde ilavesinden 24 saat sonra ise ortamda daha yoğun biyokütle bulunmasına bağlı olarak sırası ile 23,95 mg/L ve 32,70 mg/L boyar madde giderimi sağlanmıştır. CB içeren ortama spor aşlandıktan 48 saat sonra 50,40 mg/L boyar maddenin giderildiği ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının 33,80 mg/g olduğu; aynı koşullarda 48 saat üretilen fungal peletler üzerine 50±3 mg/L boyar madde ilave edildikten 24 saat sonra 41,42 mg/L boyar maddenin giderildiği ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarının 25,12 mg/g olduğu saptanmıştır. Literatürde, akümülyasyonun hücre yaşı ve hücrenin canlı ya da ölü oluşu ile değiştiği belirtilmektedir [161]. 1 günlük *Thiothrix* A1 suşunun 2-5 günlük hücrelerden daha az miktarda Ni ya da Zn akümüle ettiği rapor edilmiştir [162].



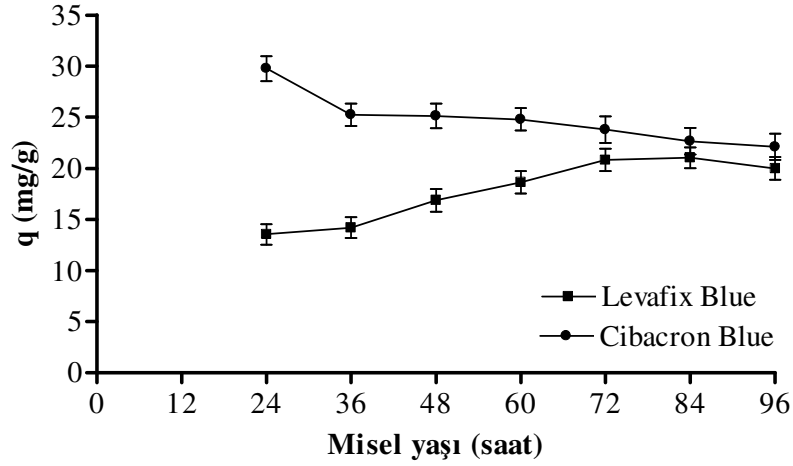
Şekil 4.15. Farklı yaşlardaki peletlerin bulunduğu ortamlara CB (50±3 mg/L) ilavesinden 24 saat sonra ve CB (50±3 mg/L) içeren ortamlara spor aşılmasından belirli süreler sonra giderilen boyar madde derişimi (sütun) ve KMA değışimi (çizgi).

Bulgular, LB ve CB'nin pelet oluşumu sırasında daha yüksek verimle giderildiğini göstermektedir. LB'nin 84 ve 96 saatlik peletlerle renk giderim yüzdelerinde belirgin bir farklılık olmadığı (sırası ile % 85,01 ve % 85,46); LB gideriminde spor aşılmasının pelet kullanımına göre daha uygun bir yöntem

olacağı belirlenmiştir. CB'nin 72, 84 ve 96 saatlik peletlerle etkin renk giderimi sağlandığı (sırası ile % 93,59; % 94,66 ve % 95,19) saptanmıştır. Bulgular, CB'nin spor aşılansarak giderimine alternatif olarak 72, 84 ve 96 saatlik peletlerin kullanılabilceğini göstermektedir.

Çimlenmiş sporların ortamdaki partiküllere tutunması ile pelet oluşumunun başladığı ve pelet oluşumu sırasında büyüyen hiflerin dallanması ve agregat oluşturması ortam partiküllerinin pelet içerisinde birikimini artırdığı belirtilmiştir [136]. Literatürde, farklı *Aspergillus* türleri ile renk gideriminin pelet oluşumu sırasında sağlandığı belirtilmektedir [79, 83].

Pelet yaşının 24 saatten 96 saate artırılması ile KMA'nın 0,75 g/L'den 2,13 g/L'ye arttığı ve birim mikroorganizma kütleğinde giderilen LB miktarının 13,54 mg/g'dan 19,99 mg/g'a yükseldiği saptanmıştır (Şekil 4.14 ve Şekil 4.16). Pelet yaşının 24 saatten 96 saate artırılması ile KMA'nın 0,81 g/L'den 2,10 g'ye arttığı ve birim mikroorganizma kütleğinde giderilen CB miktarının 29,75 mg/g'dan 22,10 mg/g'a azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.15 ve Şekil 4.16). Pelet yaşı artışıyla pelet çapının arttığı gözlenmiştir. LB çözünürlüğünün CB çözünürlüğünden düşük olmasına bağlı olarak iki boyar maddenin pelet içerisine difüzyonunda farklılık olacağı düşünülmüştür. LB, yüzeye ve yüzeye yakın bölgelere adsorplandığından, pelet yaşı arttıkça yüzey artışına bağlı olarak q değeri artmıştır. CB'nin pelet içerisine difüzyonu daha kolay olacağından, pelet yaşı artışı ile  $50 \pm 3$  mg/L başlangıç boyar madde derişimi için 96 saatlik biyokütlenin doygun hale gelmemesi ile q değeri azalmıştır. Biyokütle artışı ile mikroorganizma biyosorpsiyon kapasitesindeki azalmanın esas etkeninin, adsorpsiyon bölgelerinin doygun hale gelmemesinin olduğu açıklanmaktadır [163, 164].



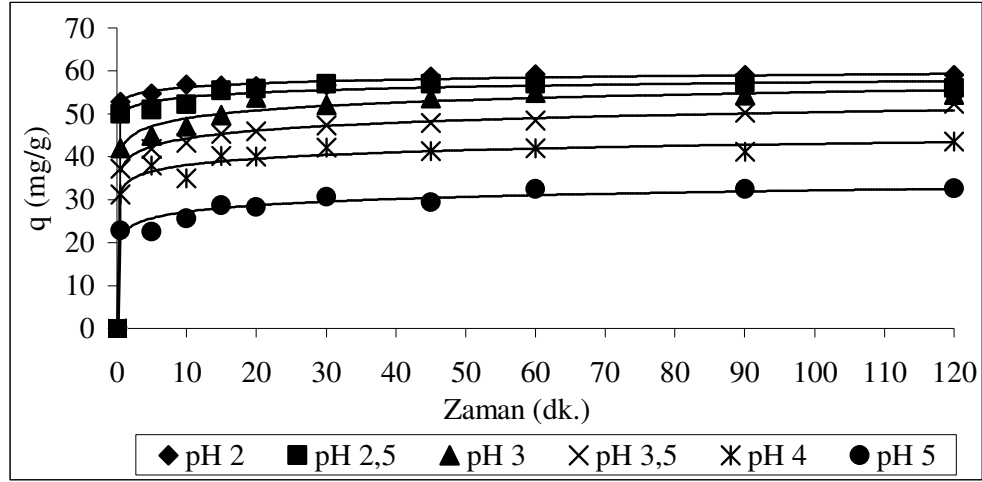
Şekil 4.16. *Aspergillus oryzae* misel yaşının birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen CB ve LB derişimi üzerine etkisi.

## 4.2. LEVAFİX BRİLLANT BLUE EB VE CİBACRON BLUE CR BOYALARININ İNAKTİF *A. oryzae* İLE GİDERİMİNDE OPTİMUM ORTAM KOŞULLARININ BELİRLENMESİ

### 4.2.1. Başlangıç pH'sının Etkisi

Başlangıç pH'sı, biyosorbentin sorpsiyon kapasitesini, bazı boyaların çözünebilirliğini ve yapısını etkileyen önemli bir faktördür. [59, 71]. LB'nin inaktif *A. oryzae* ile gideriminde pH'nın etkisini araştırmak amacı ile başlangıç pH'ları farklı,  $100 \pm 5$  mg/L boyar madde ve 1g/L biyosorbent içeren ortamlarda bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.17'de; farklı pH değerlerindeki denge renk giderim kapasiteleri Şekil 4.19'da sunulmuştur.

Şekil 4.17'den görüldüğü gibi farklı pH değerlerinde, LB'nin inaktif *A. oryzae* ile gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha sonra giderilen LB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır.

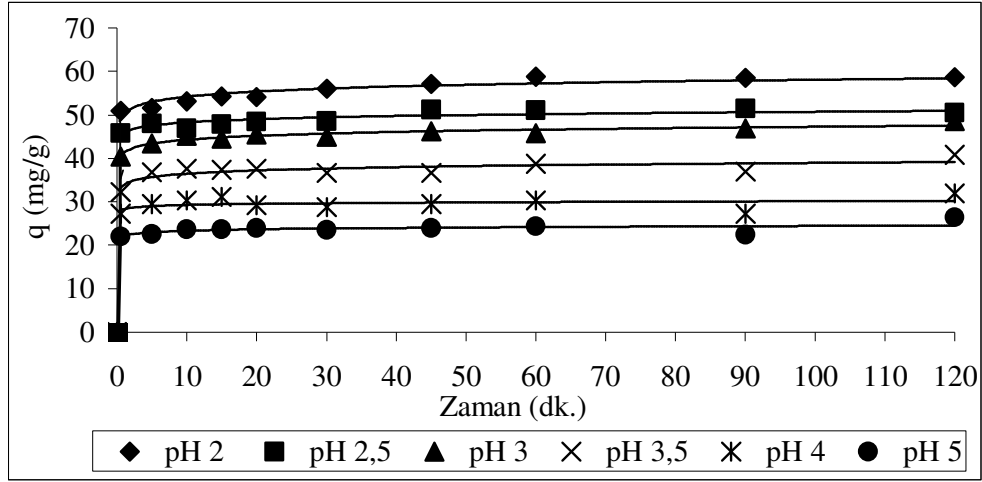


Şekil 4.17. Ortam pH'sının inaktif mikroorganizma LB giderim kapasitesi üzerine etkisi ( $T=30^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{Ç.H.}=150\text{ rpm}$ ,  $C_0=100\pm 5\text{ mg/L}$ ,  $X_0=1\text{ g/L}$ ).

CB'nin inaktif *A. oryzae* ile gideriminde pH'nın etkisini araştırmak amacı ile başlangıç pH'ları farklı,  $100\pm 5\text{ mg/L}$  boyar madde ve  $1\text{ g/L}$  biyosorbent içeren, ortamlarda bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.18'de; farklı pH değerlerindeki denge renk giderim kapasiteleri Şekil 4.19'da sunulmuştur.

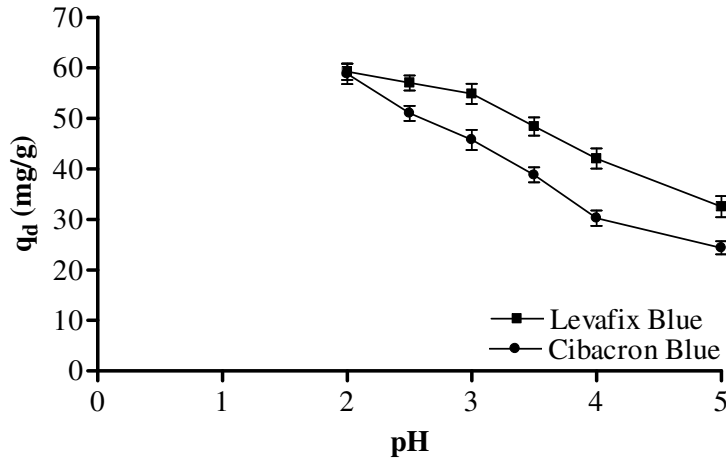
Şekil 4.18'den görüldüğü gibi farklı pH değerlerinde, inaktif *A. oryzae* ile CB gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha sonra giderilen CB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır.





Şekil 4.18. Ortam pH'sının inaktif mikroorganizma CB giderim kapasitesi üzerine etkisi ( $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{Ç.H.}=150\text{ rpm}$ ,  $C_0=100\pm 5\text{ mg/L}$ ,  $X_0=1\text{ g/L}$ ).

Şekil 4.19'dan görüldüğü gibi ortam pH'sı artışı ile mikroorganizma boya alım kapasitesinin azaldığı saptanmıştır. 1 g/L adsorbent içeren LB ve CB giderim ortamlarında, pH'nın 2'den 5'e yükseltilmesi ile denge birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının ( $q_d$ ) sırası ile 59,23 mg/g'dan 32,54 mg/g'a ve 58,79 mg/g'dan 24,37 mg/g'a azaldığı saptanmıştır (Şekil 4.19). Sonuç olarak en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi pH 2 değerinde elde edilmiştir.



Şekil 4.19. Farklı pH'larda 60 dakikalık biyosorpsiyon sonundaki LB ve CB için denge renk giderim kapasiteleri ( $T=30\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{Ç.H.}=150\text{ rpm}$ ,  $C_0=100\pm 5\text{ mg/L}$ ,  $X_0=1\text{ g/L}$ ).

LB ve CB sırası ile 2 ve 3 adet sodyum sülfonat grubu içermektedir (Şekil 3.4 ve Şekil 3.5). Bu grupların sulu çözeltide iyonlaşması ile sodyum katyonları ve renkli sülfonat anyonları meydana gelmektedir. *A. oryzae* hücre duvarı fizyolojik durumda temel olarak karboksil, hidroksil, sülfat ve fosfat grupları gibi negatif yüklü fonksiyonel grupları içermektedir. Biyosorpsiyon ortamının başlangıç pH'sının azalışı ile hücre yüzeyi pozitif yüklü hale gelmektedir. Böylece pozitif yüklü biyosorbent yüzeyi ile anyonik yapılı boyar maddeler arasındaki elektrostatik etkileşimlere bağlı olarak düşük başlangıç pH değerlerinde yüksek giderim gözlenmektedir (Şekil 4.19). Negatif yüklü boya moleküllerinin biyosorbent yüzeyindeki pozitif yüklenmiş fonksiyonel gruplarla etkileşimi sonucu sulu çözeltiden uzaklaştığı belirtilmektedir [65]. Anyonik karakterli reaktif boyar maddelerin düşük pH'larda polar moleküller (R-SO<sub>3</sub>) olduğu belirtilmektedir [60].

Literatürde asidik reaktif boyar maddelerin biyokütle ile giderimlerinin düşük pH'larda [60, 64, 139, 165]; bazik reaktif boyar maddelerin ise yüksek pH'larda (15, 166, 167) giderilebildikleri belirtilmektedir. İyonik yapılı boyar maddeler suda çözüldükleri zaman çözelti içerisinde renkli boya iyonları şeklindedir. Bu renkli iyonların adsorbent yüzeyine adsorpsiyonu, çözelti pH'sı ile değişim gösteren adsorbent yüzey yükü ile etkilenmektedir. Asidik koşullarda biyokütlerdeki zayıf bazik grupların protonlanması ile biyokütle net yükünün pozitif olacağı ve pozitif yüklenen biyokütle bölgelerinin reaktif boyar maddelerin anyonik gruplarını bağlayabileceği belirtilmektedir [15, 139]. Biyokütlenin farklı pH değerlerinde, boya alım kapasitesindeki değişiklik, hücre yüzeyinin etkin izoelektrik noktası ile açıklanmaktadır. Hücre yüzeyinin, izoelektrik noktasının altındaki pH değerlerinde azot içeren fonksiyonel grupları protonlanacağından net pozitif yüke sahip olacağı belirtilmektedir [15, 139]. *Rhizopus arrhizus* hücre yüzeyi izoelektrik noktasının 4 olduğu belirtilmektedir [139]. Düşük pH değerlerinde, negatif yüklü boyar madde anyonları ve pozitif yüklü hücre yüzeyi arasındaki elektrostatik etkileşimden dolayı, daha yüksek boyar madde gideriminin sağlandığı literatürde de belirtilmektedir [60, 64, 65, 139, 165, 168]. pH artışı ile biyokütlenin negatif yüklü bölge sayısı artmakta ve boya anyonları ile arasındaki elektrostatik itme sonucu adsorpsiyon verimi azalmaktadır [64, 169].

Renk gideriminde boyar madde yapısı da önemli rol oynamaktadır. Boyar madde yapısındaki anyonik sülfonik asit gruplarının varlığı ve pozisyonunun önemli olduğu kadar katyonik grupların varlığı ve sayısı da önemli olabilmektedir. Boyanın yapısal konfigürasyonu, boyut ve yüzey alanının boya adsorpsiyon veriminde önemli rol oynadığı belirtilmektedir [170]. Biyosorbentlerin sulu fazda negatif yüke sahip olduğu, pH'nın artırılması ile farklı fonksiyonel gruplarının proton kaybetmesi ile biyosorbentin net elektronegativitesinin arttığı belirtilmektedir [171]. Banks ve Parkinson, hücre yüzeyindeki kitin, asidik polisakkaritler, lipidler, amino asitler ve diğer hücrenel bileşenler gibi aktif grupların boya yapısındaki reaktif gruplarla etkileştiğini rapor etmişlerdir [141].

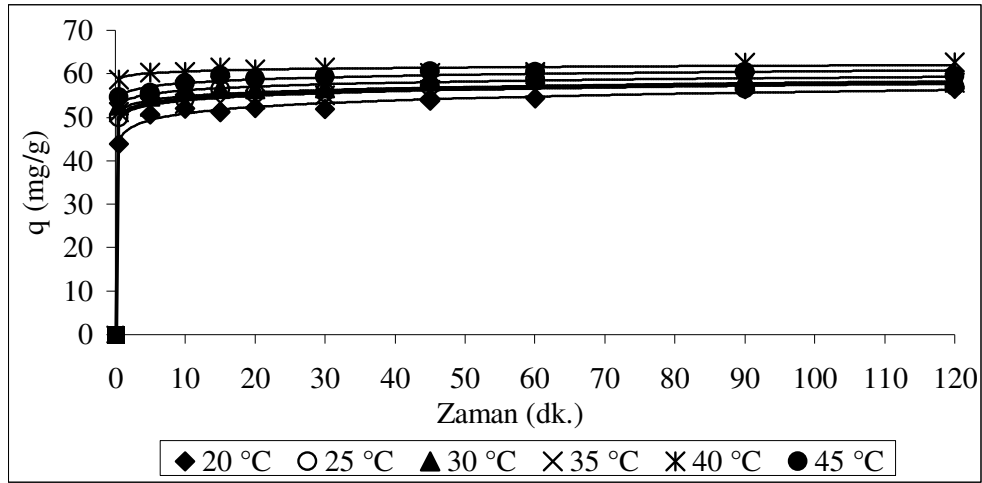
Anyonik yapılu azo ve antrakinon yapılu boyar maddelerin kurutulmuş ve öğütülmüş *Eichhornia crassipes* ile renk gideriminde optimum pH'sın 3 olduğu belirtilmiştir [170]. Boya yapısındaki kolay iyonlaşabilen –OH ya da –COOH gibi anyonik grupların yüksek pH değerlerinde renk gideriminin azalmasına yol açtığı belirtilmiştir [170, 172]. Boyar maddenin renk gideriminde etkin olan gruplarını belirlemek amacıyla farklı ön işlem uygulamaları ile biyosorbent yapısında değişiklik yapılan çalışmalar literatürde yer almaktadır. Ön işlem ile biyosorbentin amino gruplarının artırılması ile düşük pH'larda anyonik yapılu boyar maddelerin giderim veriminin artırıldığı belirtilmiştir [170].

İnaktif hücrelerle renk gideriminde, çözünen ve adsorbent arasındaki ilişki pH değişimi ile 2 şekilde etkilenmektedir. Bu etkinin ilki, boyar maddeler, farklı fonksiyonel gruplar ve doymamış bağlar içeren kompleks aromatik organik bileşikler olduğundan, farklı pH değerlerinde farklı iyonlaşma potansiyeline sahip olacaklarından, boyar maddenin net yükü ortam pH'sı ile değişmektedir. İkinci olarak, biyosorbentin yüzeyi birçok fonksiyonel grup içeren biyopolimerler içerdiğinden, biyosorbentin net yükü de ortam pH'sı ile değişebilmektedir. Dolayısıyla inaktif biyokütle (biyosorbent) ile boyar madde molekülleri arasındaki etkileşimin boyar madde molekülü ve biyosorbent yüküne bağlı olduğu belirtilmektedir [15].

#### 4.2.2. Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklığın inaktif *Aspergillus oryzae* ile LB giderimine etkisini araştırmak amacı ile pH 2'de ve  $100\pm 5$  mg/L başlangıç boyar madde derişiminde, farklı sıcaklıklarda (20 °C ve 45 °C aralığında) bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.20'de; farklı sıcaklıklardaki denge birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları Şekil 4.22'de sunulmuştur.

Şekil 4.20'den görüldüğü gibi, farklı sıcaklıklarda inaktif *A. oryzae* ile LB gideriminin çok kısa sürede gerçekteştiği ve daha sonra giderilen LB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır. Ortam sıcaklığının renk giderimi için gerekli temas süresi üzerine etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.

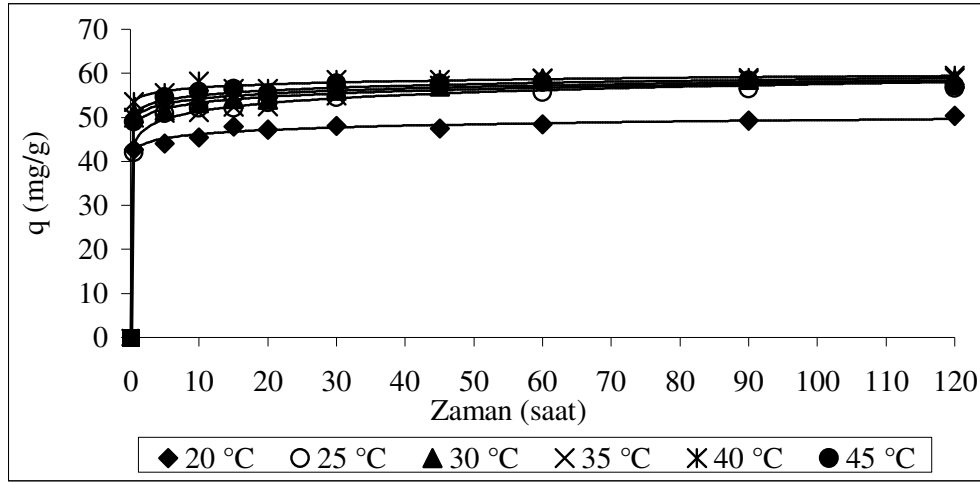


Şekil 4.20. Biyosorpsiyon ortam sıcaklığının inaktif mikroorganizma LB giderim kapasitesi üzerine etkisi (pH=2, .H.=150 rpm, Co=100±5 mg/L, X<sub>0</sub>=1g/L).

Sıcaklığın inaktif *Aspergillus oryzae* ile CB giderimine etkisini araştırmak amacı ile pH 2'de ve  $100\pm 5$  mg/L başlangıç boyar madde derişiminde, farklı sıcaklıklarda (20 °C ve 45 °C aralığında) bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil

4.21’de; farklı sıcaklıklardaki denge birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları Şekil 4.22’de sunulmuştur.

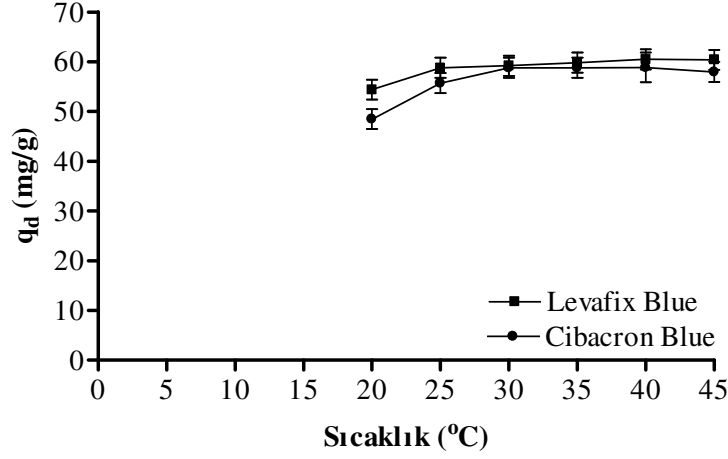
Şekil 4.21’den görüldüğü gibi, farklı sıcaklıklarda inaktif *A. oryzae* ile CB gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha sonra giderilen CB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır. Ortam sıcaklığının renk giderimi için gerekli temas süresi üzerine etkisinin bulunmadığı saptanmıştır.



Şekil 4.21. Biyosorpsiyon ortam sıcaklığının inaktif mikroorganizma CB giderim kapasitesi üzerine etkisi (pH=2, Ç.H.=150 rpm,  $C_0=100\pm 5$  mg/L,  $X_0=1$ g/L).

Şekil 4.22’den görüldüğü gibi 25 – 45 °C arasındaki sıcaklıklarda, LB gideriminin sıcaklıktan etkilenmediği; 20 °C’de birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya derişiminin azaldığı saptanmıştır. 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C ve 45 °C sıcaklıklardaki denge mikroorganizma boya (LB) alım kapasiteleri sırası ile 54,40 mg/g, 58,79 mg/g; 59,23 mg/g; 59,84 mg/g; 60,50 mg/g ve 60,41 mg/g olarak belirlenmiştir. 20 °C’de mikroorganizma CB alım kapasitesinde azalma saptanırken 20 °C’nin üzerindeki sıcaklıklarda belirgin bir değişim saptanamamıştır. 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 40 °C ve 45 °C sıcaklıklardaki denge mikroorganizma boya (CB) alım kapasitelerinin sırası ile 48,47 mg/g; 55,69 mg/g; 58,79 mg/g; 58,80 mg/g; 58,84 mg/g ve 57,97 mg/g olduğu belirlenmiştir. Sonuç olarak 30 °C ve üzerindeki

sıcaklıklardaki mikroorganizma biyosorpsiyon kapasitelerinin fazla değişmediği; biyosorpsiyon için optimum sıcaklığın 30 °C olduğu saptanmıştır



Şekil 4.22. Farklı sıcaklıklarda 60 dakikalık inkübasyon sonundaki LBve CB için denge renk giderim kapasitesi (pH=2, Ç.H.=150 rpm, Co=100±5 mg/L, X<sub>0</sub>=1g/L)

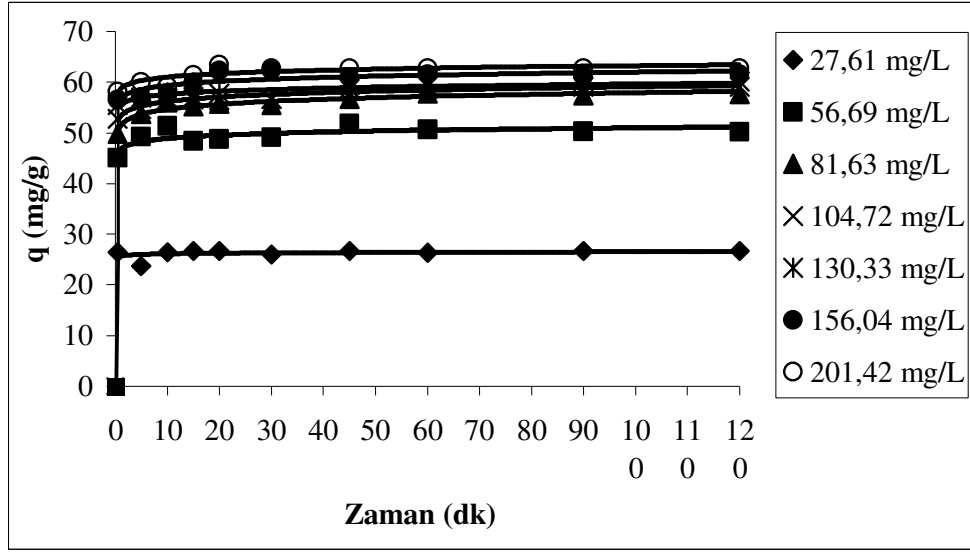
İnaktif *Aspergillus oryzae* ile geniş sıcaklık aralıklarında CB ve LB giderimi sağlandığı saptanmıştır. Yüksek sıcaklıklarda adsorbent olarak kullanılan kitinin iç yapısında şişme meydana gelebileceğinden büyük boya molekülünün adsorpsiyonun engellenebileceği belirtilmiştir [167]. Çalışmada denenen sıcaklık sınırlarında biyosorbent yapısında bir değişiklik meydana gelmediği düşünülmektedir.

Literatürde yer alan bazı çalışmalarda, sıcaklık değişiminin biyokütle adsorpsiyon kapasitesi üzerine etkisi olmadığı belirtilmektedir [146, 173]. Difüzyonun hız belirleyici adım olduğu adsorpsiyonda, sıcaklık artışı ile iyon difüzyonunun artmasına bağlı olarak sorpsiyon hızının arttığı belirtilmektedir [174]. Bu çalışmadaki bulgular, boyar madde iyon difüzyonunun sıcaklık ile etkilenmediğini göstermektedir.

#### 4.2.3. Başlangıç Boyar Madde Derişiminin Etkisi

LB'nin inaktif *A. oryzae* ile gideriminde başlangıç boyar madde derişiminin etkisini araştırmak amacı ile, pH 2'de farklı başlangıç boyar madde derişimlerinde bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.23'de, başlangıç boyar madde derişimine göre LB için denge anındaki birim mikroorganizma kütlesinde giderilen boya miktarları ve renk giderim verimi Şekil 4.25'de sunulmuştur.

Şekil 4.23'den görüldüğü gibi farklı başlangıç boyar madde derişimlerinde (25–200 mg/L) inaktif *A. oryzae* ile LB gideriminin çok kısa sürede gerçekteştiği ve daha sonra giderilen LB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişiminin 81,63 mg/L'ye kadar artırılması ile mikroorganizma LB alım kapasitesinde artış saptanırken boyar madde derişiminin daha fazla artırılması ile temas süresi uzatılmasına rağmen mikroorganizma boya alım kapasitesinde belirgin bir değişiklik meydana gelmediği saptanmıştır. Bu durumun, adsorpsiyon bölgelerinin doğunluğa ulaşması ve adsorbente bağlanan boya madde molekülleri ile adsorplanmadan kalan moleküller arasında kurulan dengenin bir sonucu olduğu görülmekte ve biyosorbentin adsorpsiyon için uygun olan bölgelerinin biyosorpsiyonda sınırlayıcı faktör olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak 81,63 mg/L optimum boya madde derişimi olarak belirlenmiştir. 27,61 mg/L boya madde içeren renk giderim ortamında temas süresinin 0,5. dakikasında 26,42 mg/L boya madde giderimi sağlandığı ve renk gideriminin dengeye ulaştığı saptanmıştır. Başlangıç boya madde derişimleri daha yüksek olan ortamlarda da mikroorganizma boya alım kapasitesinin 1 saat içerisinde dengeye ulaştığı gözlenmiştir.



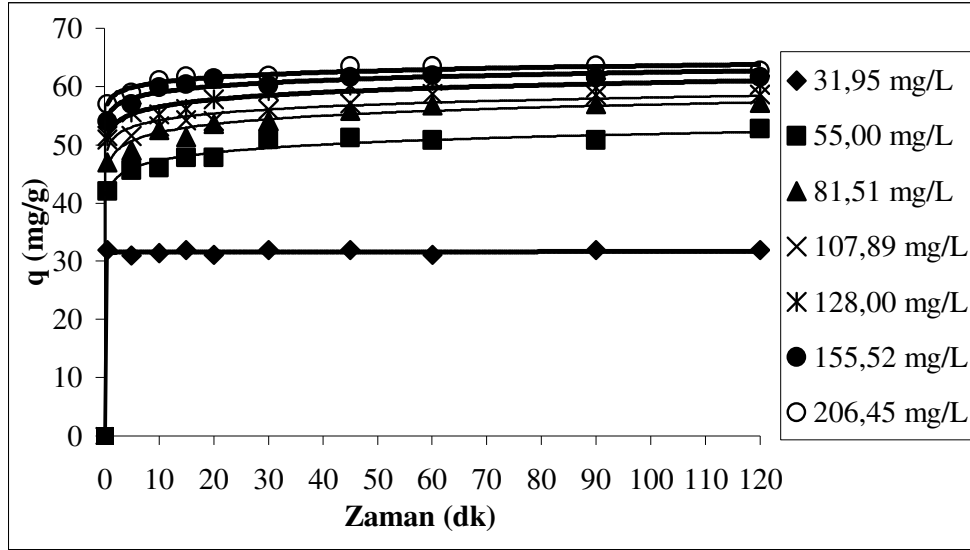
Şekil 4.23. Başlangıç LB derişiminin inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi üzerine etkisi (pH=2, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm, X<sub>0</sub>=1g/L)

CB'nin inaktif *A. oryzae* ile gideriminde başlangıç boyar madde derişiminin etkisini araştırmak amacı ile, pH 2'de farklı başlangıç boyar madde derişimlerinde bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.24'de, başlangıç boyar madde derişimine göre CB için denge anındaki birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya miktarları ve renk giderim verimleri Şekil 4.25'de sunulmuştur.

Şekil 4.24'den görüldüğü gibi farklı başlangıç boyar madde derişimlerinde (25–200 mg/L) inaktif *A. oryzae* ile CB gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha sonra giderilen CB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişiminin 81,51 mg/L'ye kadar artırılması ile mikroorganizma CB alım kapasitesinde artış saptanırken boyar madde derişiminin daha fazla artırılması ile temas süresi uzatılmasına rağmen mikroorganizma boya alım kapasitesinde belirgin bir değişiklik meydana gelmediği saptanmıştır. Bu durumun, adsorpsiyon bölgelerinin doygunluğa ulaşması ve adsorbente bağlanan boya madde molekülleri ile adsorplanmadan kalan moleküller arasında kurulan dengenin bir sonucu olduğu görülmekte ve biyosorbentin adsorpsiyon için uygun olan bölgelerinin biyosorpsiyonda sınırlayıcı faktör olduğunu göstermektedir. Sonuç olarak 81,51

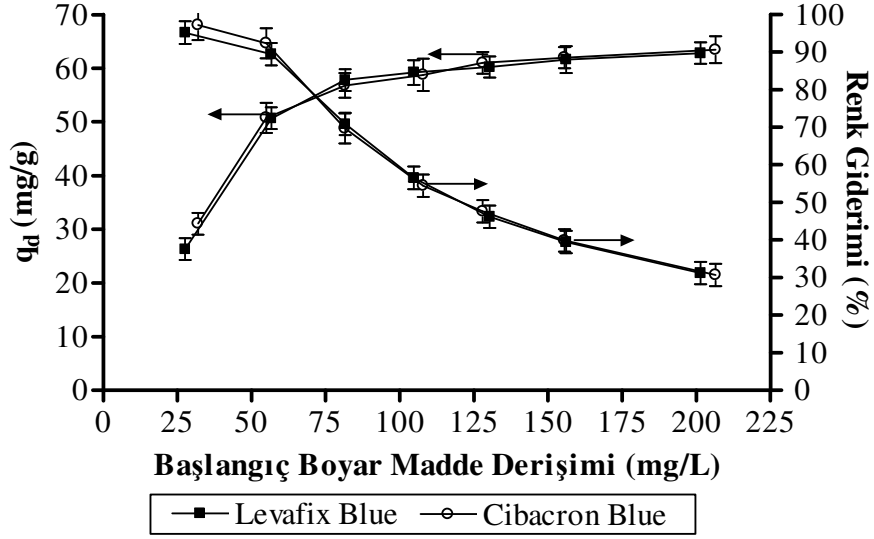


mg/L optimum boyar madde derişimi olarak belirlenmiştir. 31,95 mg/L boyar madde içeren renk giderim ortamında temas süresinin 0,5. dakikasında 31,94 mg/L boyar madde giderimi sağlandığı ve renk gideriminin dengeye ulaştığı saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişimleri daha yüksek olan ortamlarda da mikroorganizma boya alım kapasitesinin 1 saat içerisinde dengeye ulaştığı gözlenmiştir.



Şekil 4.24. Başlangıç CB derişiminin inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi üzerine etkisi (pH=2, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm, X<sub>0</sub>=1g/L)

Şekil 4.25'de görüldüğü gibi LB başlangıç derişiminin 27,61 mg/L'den 201,42 mg/L'ye artırılması ile mikroorganizma denge boya alım kapasitesinin 26,29 mg/g'dan 62,82 mg/g'a yükseldiği; renk giderim veriminin ise % 95,23'den % 31,19'a azaldığı saptanmıştır. CB başlangıç derişiminin 31,95 mg/L'den 206,45 mg/L'ye artırılması ile mikroorganizma denge boya alım kapasitesinin 31,05 mg/g'dan 63,45 mg/g'a yükseldiği; renk giderim veriminin ise % 97,17'den % 30,73'e azaldığı saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişiminin artışı ile boyar maddenin sıvı ve katı faz arasındaki kütle transferi dirençlerini yenmesinin kolaylaştığından başlangıç boyar madde derişimi artışı ile adsorplanan boyar madde derişimi artmaktadır. Düşük boyar madde derişimlerinde, boyar madde molekülü başına düşen biyosorbent aktif bölge sayısı yüksek olacağından ve boyar madde derişimi arttıkça bu oran azalacağından, renk giderim verimi azalmaktadır.



Şekil 4.25. Başlangıç boyar madde derişimleri farklı ortamlarda 60 dakikalık temas süresi sonundaki LBve CB için mikroorganizma denge boya alım kapasitesi ve renk giderim verimi (pH=2, T=30°C, Ç.H.=150 rpm,  $X_0=1g/L$ ).

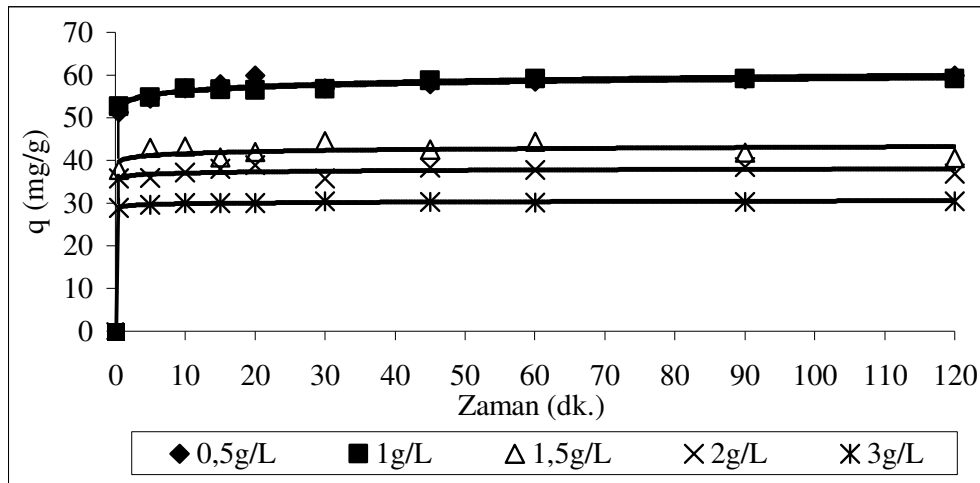
Farklı boyar maddelerin giderilmesi için farklı biyosorbentlerin kullanıldığı literatürde geçen çalışmalarda da boyar madde derişimi artışı ile renk giderim veriminin azaldığı; biyosorbent biyosorpsiyon kapasitesinin arttığı belirtilmektedir. Portakal kabuğunun adsorbent olarak kullanıldığı bir çalışmada, Drimarene Red 23 ve Drimarene Red 80 derişimlerinin 50 mg/L'den 125 mg/L'ye artırılması ile renk giderim veriminin sırası ile % 92'den % 76'ya ve % 91'den % 67'ye azaldığı rapor edilmiştir [60]. Farklı inaktif biyosorbentlerin farklı boyar maddeler için maksimum boya alım kapasitelerinin bu çalışmada saptanan inaktif *Aspergillus oryzae* LB ve CB alım kapasitesine yakın [166], daha düşük [91] ya da daha yüksek olduğu gözlenmiştir [139].

#### 4.2.4. Biyosorbent Derişiminin Etkisi

LB'nin inaktif *A.oryzae* ile gideriminde biyosorbent miktarının etkisini araştırmak amacı pH 2'de,  $100\pm5$  mg/L boyar madde derişiminde 0,5–3 g/L arasında değişen farklı biyosorbent miktarlarında bir seri deney yapılmış; birim

mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.26’de; adsorbent derişimi farklı ortamlarda denge renk giderim kapasitesi ve renk giderim verimi Şekil 4.27’de sunulmuştur.

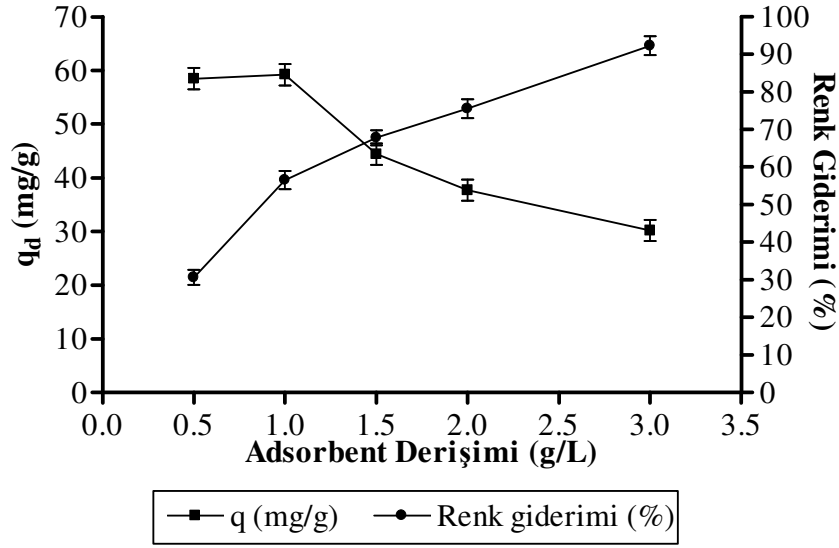
Şekil 4.26’den görüldüğü gibi, farklı adsorbent miktarları kullanılan ortamlarda inaktif *A. oryzae* ile LB gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha sonra giderilen LB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır. Biyosorbent derişimi, 0,5 g/L, 1,0 g/L, 1,5 g/L, 2,0 g/L ve 3,0 g/L olan biyosorpsiyon ortamlarında birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarının 1 saat içerisinde dengeye ulaştığı saptanmıştır. Bu ortamlardaki denge birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boyar madde miktarlarının sırası ile 58,47 mg/g, 59,23 mg/g, 44,43 mg/g 37,70 mg/g ve 30,20 mg/g olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 1 g/L biyosorbent ile sağlanmıştır.



Şekil 4.26. Biyosorbent derişimi farklı ortamlarda LB boyar maddesi için inaktif mikroorganizmanın biyosorpsiyon kapasitesi (pH=2, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm, C<sub>0</sub>=100 mg/L).

Şekil 4.27’den görüldüğü gibi, biyosorbent derişimi 0,5 g/L’den 1,0 g/L’ye artırılması ile denge biyosorpsiyon kapasitesinde belirgin bir değişiklik meydana gelmediği saptanmıştır. Biyosorbent derişiminin 1 g/L’nin üzerinde kullanılması ile biyosorbent derişimi artışına paralel olarak mikroorganizma denge biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı saptanmıştır. Biyosorbent derişimi artışı ile renk giderim

veriminin arttığı gözlenmiştir. Biyosorbent derişimi, 0,5 g/L; 1,0 g/L; 1,5 g/L; 2,0 g/L ve 3,0 g/L olan biyosorpsiyon ortamlarında LB giderim verimleri sırası ile % 30,66; % 56,56; % 67,83; % 75,50 ve % 92,32 olduğu belirlenmiştir. Biyosorbent derişiminin 0,5 g/L'den 1,0 g/L'ye artırılması ile renk giderim veriminde lineer bir artış gözlenmesine rağmen biyosorbent derişimi 1,0 g/L'nin üzerinde kullanılması ile renk giderim verimindeki artışın lineer olmadığı saptanmıştır.

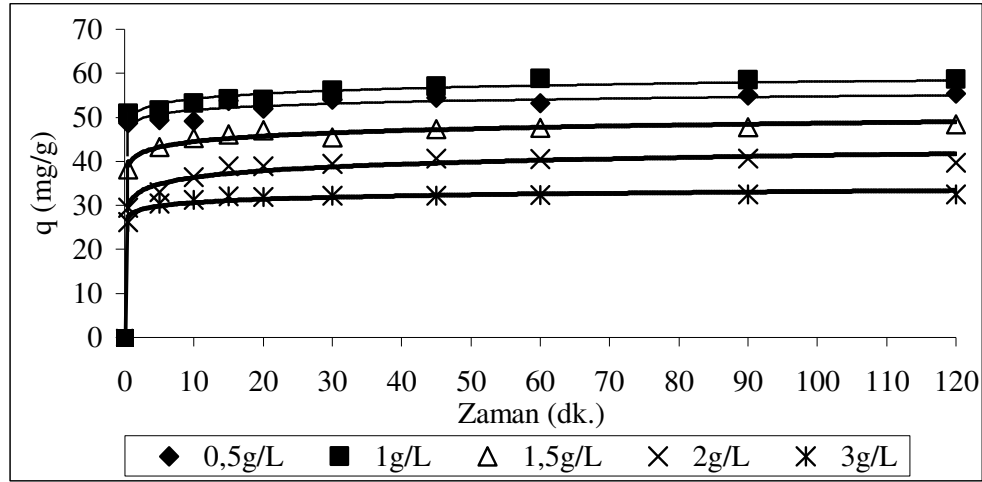


Şekil 4.27. LB'nin *A. oryzae*'ye adsorpsiyonuna adsorbent derişiminin etkisi (pH=2, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm, C<sub>0</sub>=100±5 mg/L).

CB'nin inaktif *A.oryzae* ile gideriminde biyosorbent miktarının etkisini araştırmak amacı pH 2'de, 100±5 mg/L boyar madde derişiminde 0,5–3,0 g/L arasında değişen farklı biyosorbent miktarlarında bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.28'de; adsorbent derişimi farklı ortamlarda denge renk giderim kapasitesi ve renk giderim verimi Şekil 4.29'da sunulmuştur.

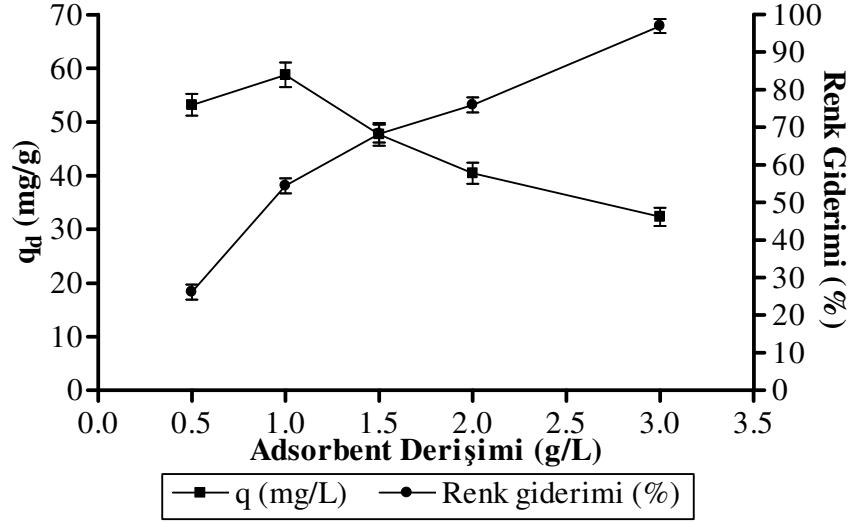
Şekil 4.28'den görüldüğü gibi, farklı adsorbent miktarları kullanılan ortamlarda inaktif *A. oryzae* ile CB gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha

sonra giderilen CB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır. Biyosorbent derişimi, 0,5 g/L; 1,0 g/L; 1,5 g/L; 2,0 g/L ve 3,0 g/L olan biyosorpsiyon ortamlarında mikroorganizma biyosorpsiyon kapasitesinin 1 saat içerisinde dengeye ulaştığı saptanmıştır. Bu ortamlardaki mikroorganizma denge adsorpsiyon kapasitelerinin sırası ile 53,19 mg/g; 58,79 mg/g; 47,67 mg/g; 40,46 mg/g ve 32,34 mg/g olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 1 g/L biyosorbent ile sağlanmıştır.



Şekil 4.28. Biyosorbent derişimi farklı ortamlarda CB boyar maddesi için inaktif mikroorganizmanın biyosorpsiyon kapasitesi (pH=2, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm, C<sub>0</sub>=100±5 mg/L).

Şekil 4.29'dan görüldüğü gibi, biyosorbent derişimi 0,5 g/L'den 1,0 g/L'ye artırılması ile mikroorganizma denge biyosorpsiyon kapasitesinin 53,19 mg/g'dan 58,79 mg/g'a yükseldiği; biyosorbent derişiminin 1 g/L'nin üzerinde kullanılması ile biyosorbent derişimi artışına paralel olarak mikroorganizma denge biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı saptanmıştır. Biyosorbent derişimi artışı ile renk giderim veriminin arttığı gözlenmiştir. Biyosorbent derişimi, 0,5 g/L; 1,0 g/L; 1,5 g/L; 2,0 g/L ve 3,0 g/L olan biyosorpsiyon ortamlarında CB giderim verimleri sırası ile % 26,23; % 54,50; % 68,33; % 75,96 ve % 96,99 olduğu belirlenmiştir. Biyosorbent derişiminin 0,5 g/L'den 1,0 g/L'ye artırılması ile renk giderim veriminde lineer bir artış gözlenmesine rağmen biyosorbent derişimi 1,0 g/L'nin üzerinde kullanılması ile renk giderim verimindeki artışın lineer olmadığı saptanmıştır.



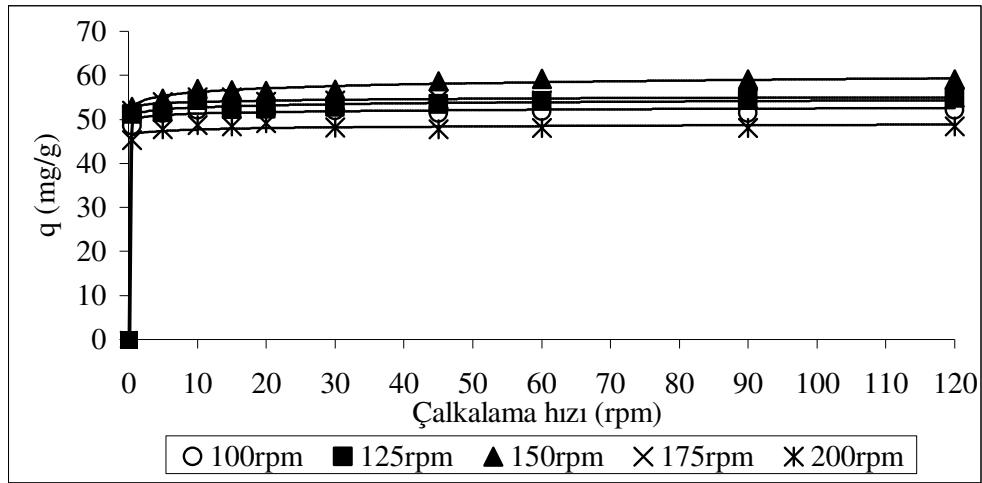
Şekil 4.29. CB'nin *A. oryzae*'ye adsorpsiyonuna adsorbent derişiminin etkisi (pH=2, T=30 °C, Ç.H.=150 rpm, C<sub>0</sub>=100±5 mg/L).

LB ve CB için biyokütle miktarı arttıkça giderilen boyar madde miktarı arttığı ancak 1,0 g/L'nin üzerinde biyosorbent kullanılması ile mikroorganizmanın biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı saptanmıştır. Literatürde de biyosorpsiyon ortamındaki biyosorbent miktarı arışı ile boya alım kapasitesinin [66, 175, 166] ya da ağır metal alım kapasitesinin [146, 164, 176, 177] azaldığı belirtilmektedir. Biyosorbent derişimi artışı ile renk giderim veriminin artması, adsorpsiyon için uygun bölge sayısının artmasına bağlanmıştır. Biyosorbent derişimi 1 g/L'nin üzerinde kullanıldığı zaman renk giderim verimindeki artışın lineer olmaması ve birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarındaki azalma ise adsorpsiyon bölgelerinin birbirini kapatması ya da agregasyon gibi partikül etkileşimlerinden kaynaklı olabileceği düşünülmüştür. Agregasyonun, adsorbentin toplam yüzey alanının azalmasına ve difüzyon yolunun uzamasına yol açabileceği rapor edilmiştir [163]. Biyokütle artışı ile mikroorganizma biyosorpsiyon kapasitesindeki azalmanın esas etkeninin, adsorpsiyon bölgelerinin doymuş hale gelmemesi olduğu belirtilmiştir [164].

#### 4.2.5. Çalkalama Hızının Etkisi

Kesikli biyosorpsiyon proseslerinde, dışsal kütle transfer dirençlerini yenebilmek için uygun çalkalama hızının sağlanması gerektiğinden, çalkalama hızının biyosorpsiyon üzerindeki etkisinin araştırılması gerektiği vurgulanmaktadır [53].

Çalkalama hızının inaktif *Aspergillus oryzae* ile LB giderimine etkisini araştırmak amacı ile pH 2’de ve  $100 \pm 5$ mg/L başlangıç boyar madde derişiminde, farklı çalkalama hızlarında (100–200 rpm) deneyler yapılmış; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.30’da; farklı çalkalama hızlarında mikroorganizmanın denge biyosorpsiyon kapasitesi Şekil 4.32’de sunulmuştur. Şekil 4.30’dan görüldüğü gibi, farklı çalkalama hızlarında inaktif *A. oryzae* ile LB gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha sonra giderilen LB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır.



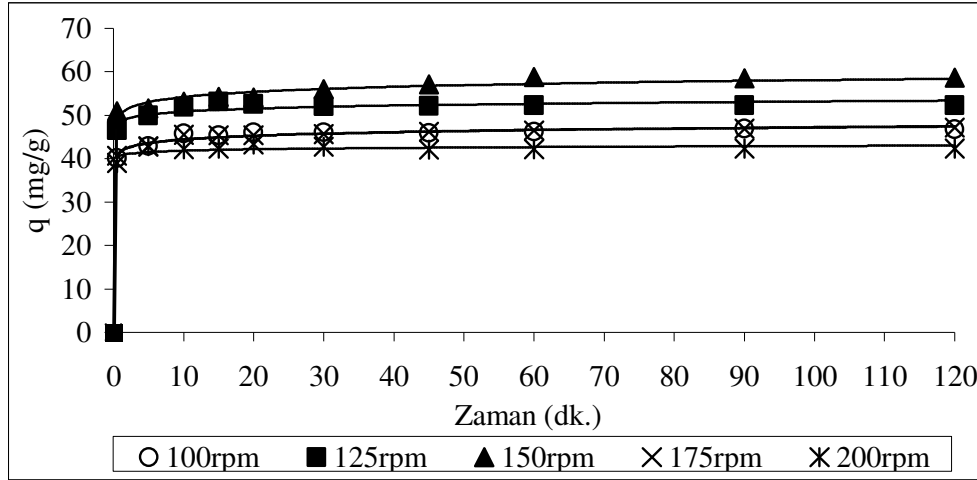
Şekil 4.30. Farklı çalkalama hızlarında LB boyar maddesi için inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi (pH=2, T=30 °C,  $X_0= 1$ g/L,  $C_0=100 \pm 5$  mg/L).

Çalkalama hızının 100 rpm’den 150 rpm’e çıkarılması ile LB için mikroorganizma biyosorpsiyon kapasitesinin arttığı, ancak daha yüksek çalkalama hızlarında mikroorganizma biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı Şekil 4.32’de

gösterilmektedir. 100 rpm, 125 rpm, 150 rpm, 175 rpm ve 200 rpm Çalkalama hızlarında mikroorganizma denge biyosorpsiyon kapasitesinin sırası ile 51,90 mg/g; 54,18 mg/g; 59,23 mg/g; 54,26 mg/g ve 48,08 mg/g olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 150 rpm çalkalama hızında elde edilmiştir.

Çalkalama hızının inaktif *Aspergillus oryzae* ile CB giderimine etkisini araştırmak amacı ile pH 2’de ve 100±5 mg/L başlangıç boyar madde derişiminde, farklı çalkalama hızlarında (100-200 rpm aralığında) bir seri deney yapılmış; birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarlarının zamanla değişimi Şekil 4.31’de; farklı çalkalama hızlarında mikroorganizmanın denge biyosorpsiyon kapasitesi Şekil 4.32’de sunulmuştur.

Şekil 4.31’den görüldüğü gibi, farklı çalkalama hızlarında inaktif *A. oryzae* ile CB gideriminin çok kısa sürede gerçekleştiği ve daha sonra giderilen CB derişiminin zamanla sabitleştiği saptanmıştır

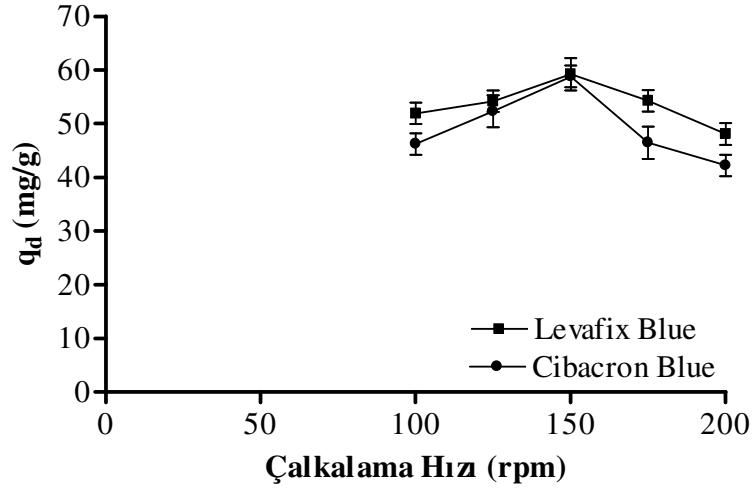


Şekil 4.31. Farklı çalkalama hızlarında CB boyar maddesi için inaktif mikroorganizma renk giderim kapasitesi (pH=2, T=30 °C, X<sub>0</sub>= 1g/L, C<sub>0</sub>=100±5mg/L)

Çalkalama hızının 100 rpm’den 150 rpm’e çıkarılması ile mikroorganizma CB için biyosorpsiyon kapasitesinin arttığı, ancak daha yüksek çalkalama hızlarında mikroorganizmanın biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı Şekil 4.32’de



gösterilmektedir. 100 rpm, 125 rpm, 150 rpm, 175 rpm ve 200 rpm çalkalama hızlarında mikroorganizma denge biyosorpsiyon kapasitesinin sırası ile 46,21 mg/g; 52,23 mg/g; 58,79 mg/g; 46,44 mg/g ve 42,19 mg/g olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 150 rpm çalkalama hızında elde edilmiştir.



Şekil. 4.32. Farklı çalkalama hızlarında LBve CB için 60 dakikalık biyosorpsiyon sonundaki mikroorganizmanın denge biyosorpsiyon kapasitesi (pH=2, T=30 °C, X<sub>0</sub>= 1g/L, C<sub>0</sub>=100±5 mg/L)

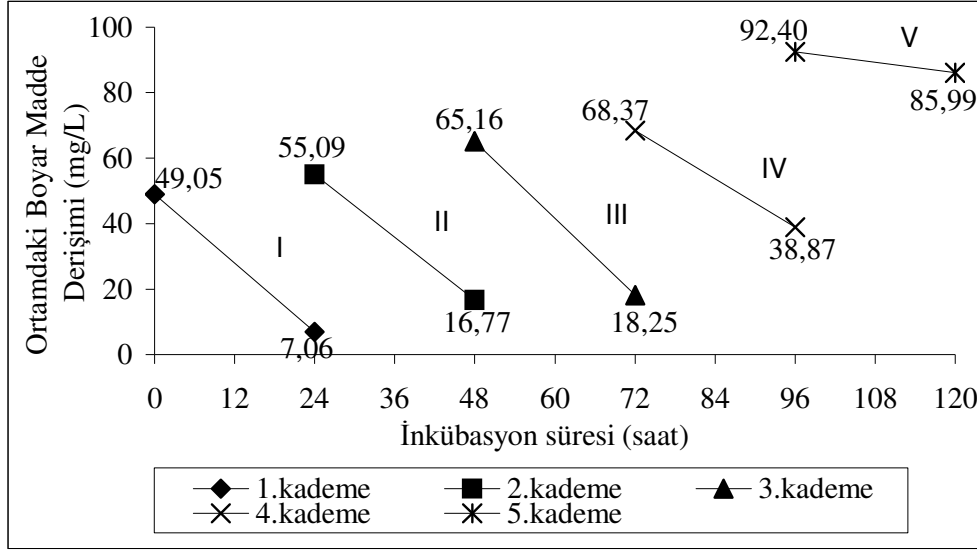
Çalkalama hızı artışı ile biyokütle partiküllerini çevreleyen film tabakası ve dolayısıyla dış kütle aktarım direnci azaltılmış olacağından biyokütle boya alım kapasitesinin arttığı belirtilmektedir [70]. İnaktif *Rhizopus nigricans* ile maksimum Cr (VI) gideriminin 120 rpm çalkalama hızında saptandığı, daha düşük ve daha yüksek çalkalama hızlarında giderim veriminde azalma gözlemlendiği belirtilmiştir [178]. Çalkalama hızının 150 rpm'e kadar artırılması ile inaktif *Funalia trogii* renk giderim veriminin arttığı, 150–250 rpm çalkalama hızlarında renk giderim veriminde bir değişiklik saptanmadığı rapor edilmiştir. Çalkalama hızının biyosorpsiyonda etkin bir parametre olmaması, dış kütle aktarım basamağının biyosorpsiyonda hız belirleyici basamak olmadığı şeklinde açıklanmıştır [51].

### 4.3. LEVAFİX BRİLLANT BLUE EB VE CİBACRON BLUE CR BOYALARININ AKTİF *A. oryzae* İLE GİDERİMİNDE TEKRAR KULLANIMININ BELİRLENMESİ

#### 4.3.1. LB'nin Aktif *A. oryzae* ile Gideriminde Tekrar Kullanımının Belirlenmesi

Çalışmanın bu bölümünde, aktif *A. oryzae* peletlerinin LB gideriminde tekrar kullanılabilirliğini araştırmak amacı ile çalkalamalı koşullarda 96 saat süre ile oluşturulan peletlerin bulunduğu ortama 24 saat ara ile  $50 \pm 4$  mg/L boyar madde ilavesiyle 5 kademeli artım deneyi yapılmış; her kademedeki boyar madde ilavesinden sonra ortamda bulunan boya miktarı ve 24 saat sonra ortamda kalan boya miktarı Şekil 4.33'de sunulmuştur. Şekil 4.33'den görüldüğü gibi, 2. ve 3. kademelerin sonunda %70 renk giderim verimi sağlanırken 4. kademe sonunda LB giderim veriminde belirgin bir azalma saptanmıştır. Başlangıçta, 96 saatlik peletlerin bulunduğu ortama 49,05 mg/L LB ilave edildikten 24 saat sonra (1. kademe sonunda) 41,99 mg/L (% 85,61) boyar madde giderimi sağlanmıştır. Aynı ortama ikinci kademedeki boya ilave edilmesiyle (48,03 mg/L) ortama ilave edilen toplam boyar madde derişimi 97,08 mg/L olduğu belirlenmiştir. 2. boyar madde ilavesinden 24 saat sonra (2. kademe sonunda) ortamda 16,77 mg/L boyar maddenin bulunduğu saptanmış; birinci ve ikinci kademe sonunda toplam 80,31 mg/L (% 82,73) boyar maddenin giderildiği belirlenmiştir. Renk giderim ortamına 3. kademedeki boyar madde ilavesi ile ortama ilave edilen toplam boyar madde miktarının 143,99 mg/L olduğu belirlenmiştir. Boyar madde ilavesinden 24 saat sonra (3. kademe sonunda) ortamda 18,25 mg/L boyar maddenin kaldığı; ilave edilen toplam boyar maddenin 125,75 mg/L'sinin (% 87,33) giderildiği saptanmıştır. Ortama 4. kademedeki boyar madde ilavesiyle ortama ilave edilen toplam boyar madde miktarı 194,12 mg/L olduğu saptanmıştır. Boyar madde ilavesinden 24 saat sonra (4. kademe sonunda) ortamda 38,87 mg/L boyar maddenin kaldığı saptanmış ve toplam ilave edilen boyar maddenin 155,25 mg/L'sinin (% 79,97) giderildiği belirlenmiştir. Ortama 5. kademedeki boyar madde ilavesi ile renk giderim ortamına ilave edilen toplam boyar madde derişimi 247,65 mg/L'ye ulaşmıştır. 5. boyar madde

ilavesinden 24 saat sonra (5. kademe sonunda) renk giderim veriminin % 65,27'ye azaldığı; ve 5. kademe sonunda toplam 161,66 mg/L boyar maddenin giderildiği saptanmıştır (Şekil 4.33).

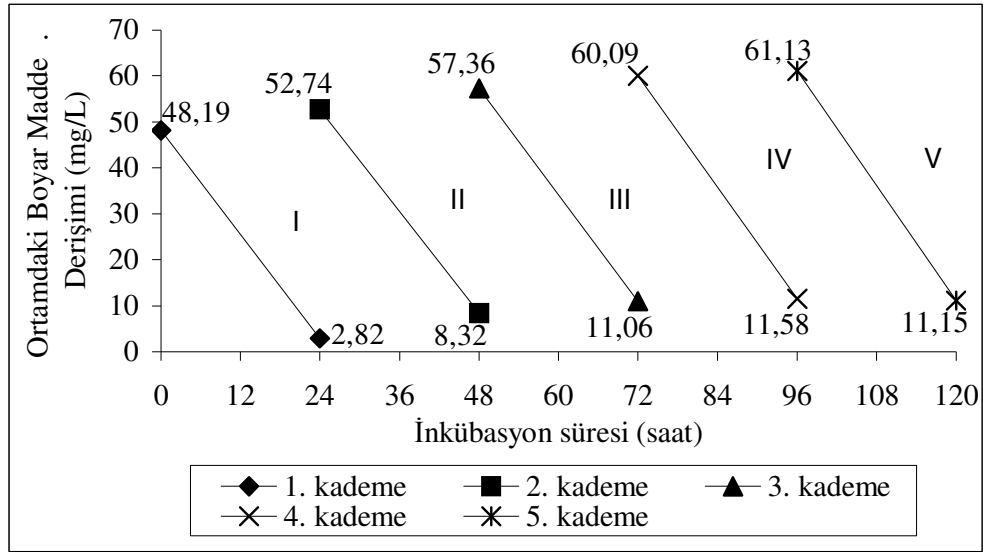


Şekil 4.33. 96 saatlik *A. oryzae* peletlerinin bulunduğu ortamlara 24 saatlik periyotlarda 5 kademede LB ilavesi ile ortamdaki boyar madde miktarının değişimi (T=30 °C, Ç.H. 150 rpm)

Spor aşılansarak sürdürülen çalışmada, 154,57 mg/L ve 198,50 mg/L LB ortama tek kademede ilave edildiği zaman sırası ile % 63,79 ve % 50,12 renk giderim verimi sağlanmıştı (Çizelge 4.3). Yaklaşık 144,00 mg/L LB, 24 saat ara ile 3 kademede ortama eklendiği zaman renk giderim veriminin % 87,33; 194,12 mg/L LB 24 saat ara ile 4 kademede ortama eklendiği zaman ise renk giderim veriminin % 79,97 olduğu saptanmıştır. Ortama yüksek derişimde boyar maddenin tek kademede ilave edilmesi ile renk giderim verimindeki azalma, mikroorganizmanın metabolik aktivitesinin inhibisyonuna, spesifik büyüme hızında azalmaya ve/veya yüksek derişimde boyar madde alımını sağlayacak yeterli biyokütle derişiminin sağlanamamasına yol açan boyar madde toksisitesi ile açıklanabilir.

#### 4.3.2. CB'nin Aktif *A. oryzae* ile Gideriminde Tekrar Kullanımının Belirlenmesi

*A. oryzae* peletlerinin CB gideriminde tekrar kullanılabilirliğini araştırmak amacı ile çalkalamalı koşuşlarda 96 saat süre ile oluşturulan peletlerin bulunduğu ortama 24 saat ara ile yaklaşık  $50\pm 4$  mg/L boyar madde ilavesiyle 5 kademeli arıtım deneyi yapılmış; her kademedede boyar madde ilavesinden sonra ortamda bulunan boya miktarı ve 24 saat sonra ortamda kalan boya miktarı Şekil 4.34'de sunulmuştur. Şekil 4.34'den görüldüğü gibi, herbir kademe sonunda yüksek renk giderimi sağlandığı saptanmıştır. Başlangıçta, 96 saatlik peletlerin bulunduğu ortama 48,19 mg/L boyar madde ilave edildikten 24 saat sonra (1. kademe sonunda) 45,37 mg/L (% 94,15) boyar madde giderimi sağlanmıştır. İkinci kademedede ortama yaklaşık aynı derişimde boya ilave edilmesi ile ortama ilave edilen toplam boyar madde derişiminin 98,11 mg/L olduğu saptanmıştır. 2. boyar madde ilavesinden 24 saat sonra (2. kademe sonunda) ortamda 8,32 mg/L boyar maddenin bulunduğu; 1. ve 2. kademe sonunda toplam 89,79 mg/L (% 91,52) boyar maddenin giderildiği belirlenmiştir. Renk giderim ortamına 3. boyar madde ilavesi ile ortama ilave edilen toplam boyar madde miktarının 147,14 mg/L olduğu belirlenmiştir. Boyar madde ilavesinden 24 saat sonra (üçüncü kademe sonunda) ortamda 11,06 mg/L boyar maddenin kaldığı; ilave edilen toplam boyar maddenin 136,09 mg/L'sinin (% 92,49) giderildiği saptanmıştır. Ortama 4. kademedede boyar madde ilavesi ile ilave edilen toplam boyar madde miktarının 196,18 mg/L olduğu belirlenmiştir. Boyar madde ilavesinden 24 saat sonra (4. kademe sonunda) ortamda 11,58 mg/L boyar maddenin kaldığı saptanmış ve toplam ilave edilen boyar maddenin 184,60 mg/L'sinin (% 94,10) giderildiği belirlenmiştir. Ortama 5. kademedede boyar madde ilave edilmesi ile renk giderim ortamına ilave edilen toplam boyar madde derişimi 246,15 mg/L'ye ulaşmıştır. 5. kademe sonunda renk giderim veriminin % 95,47; giderilen toplam boyar madde miktarının 235,00 mg/L olduğu saptanmıştır.



Şekil 4.34. 96 saatlik *A. oryzae* peletlerinin bulunduğu ortamlara 24 saatlik periyotlarda 5 kademede CB ilavesi ile ortamdaki boyar madde derişiminin değişimi.

Spor aşılansarak sürdürülen çalışmada, 148,05 mg/L ve 190,69 mg/L CB ortama tek kademede ilave edildiği zaman sırası ile % 65,08 ve % 51,79 renk giderim verimi sağlanmıştı (Çizelge 4.3). 147,14 mg/L CB 24 saat ara ile ortama 3 kademede eklendiği zaman renk giderim veriminin % 92,49 olduğu; 196,18 mg/L CB 24 saat ara ile ortama 4 kademede eklendiği zaman ise renk giderim veriminin % 94,10 olduğu saptanmıştı. Yüksek derişimde boyar maddenin ortama tek kademede ilave edilmesi ile renk giderim verimindeki azalma, mikroorganizmanın metabolik aktivitesinin inhibisyonuna, spesifik büyüme hızında azalmaya ve/veya yüksek derişimde boyar madde alımını sağlayacak yeterli biyokütle derişiminin sağlanamamasına yol açan boyar madde toksisitesi ile açıklanabilir. Literatürde yüksek boyar madde derişimlerinin mikrobiyal metabolizma ve buna bağlı renk giderim verimi üzerindeki inhibisyon etkisine yaygın olarak rastlanmaktadır [72, 83, 101, 102, 125].

Kademeli CB giderim deneylerinde *Aspergillus oryzae* peletlerinin, birinci ve ikinci kademelerin sonunda sırası ile % 94,15 ve % 84,22 renk giderim verimi sağladığı; üçüncü dördüncü ve beşinci kademelerin sonunda renk giderim

verimlerinin % 80,72 ile % 81,76 arasında değiştiği saptanmıştır. Sonuç olarak *Aspergillus oryzae* peletlerinin 5. kademe sonunda CB giderim yüzdesinin yüksek kaldığı saptanmıştır (şekil 4.34). *A. oryzae* peletlerinin başlangıç LB ilavesinden sonra % 85,61; ikinci ve üçüncü kademelerin sonunda renk giderim verimlerinin sırası ile % 69,56 ve % 71,99 olduğu; dördüncü kademe sonunda renk giderim veriminin % 43'e beşinci kademe sonunda % 6,94'e azaldığı saptanmıştır. *A. oryzae* peletlerinin birinci kademededen itibaren LB giderim verimi CB giderim veriminden daha düşük olduğundan ortamda LB birikiminin meydana geldiği saptanmıştır. Kademeli renk giderim çalışmalarında, boyar madde yapıları arasındaki farklılıktan (şekil 3.4 ve şekil 3.5) dolayı, *A. oryzae* peletleri ile LB giderim veriminin CB giderim veriminden daha düşük olduğu düşünülmüştür. Bu denemede, 96 saatlik üremenin durağan fazında olan hücreler kullanılmıştır. Aktif hücrelerle, üremenin önemsiz olduğu renk giderim çalışmalarında, boyar madde yapısının önem kazandığı belirtilmektedir [94]. Taşıdığı  sülfonik asit grubundan dolayı çözünürlüğü iki sülfonik asit grubu taşıyan LB boyar maddesinin çözünürlüğünden daha yüksek olan CB boyar maddesinin pelet içerisine difüzyonunun LB boyar maddesinden daha kolay olabileceği düşünülmektedir. LB boyar maddesinin pelet içerisine difüzyonu daha düşük olduğundan 3. kademe boyar madde ilavesi ile yüzeydeki ya da yzeeye yakın bölgelerde boyar madde adsorpsiyonu sağlandıktan sonra 4. ve 5. kademelerde boyar madde ilavesinden sonra renk giderim veriminde belirgin bir azalma saptanmıştır.

Farklı boyar maddeler farklı moleküler yapılarına sahip olup, bir boyar maddeyi renksizleştiren bir fungus farklı moleküler yapıdaki başka bir boyar madde için kapasitesi farklılık gösterebilmektedir. Düşük pH değerlerinde, bir benzen halkası ve bir sülfonik asit grubu taşıyan Acid Orange 7 boyar maddesinin, iki benzen halkası ve üç sülfonik asit grubu taşıyan Acid Red 18 boyar maddesinden daha düşük verimle giderilebildiği; iki azo grubu taşıyan Reaktif Black 5'in giderim veriminin ise diğer boyar maddelere göre daha yüksek olduğu belirtilmiştir [102]. Elektron dağılımı ve yk yoğunluğundan dolayı boyar madde yapıları arasındaki küçük farklılıkların renk gideriminin çok fazla etkilediği rapor edilmiştir. [179]. *Trametes versicolor*'un 4 günlük miselleri ile renk gideriminde boyar madde yapısının önemli

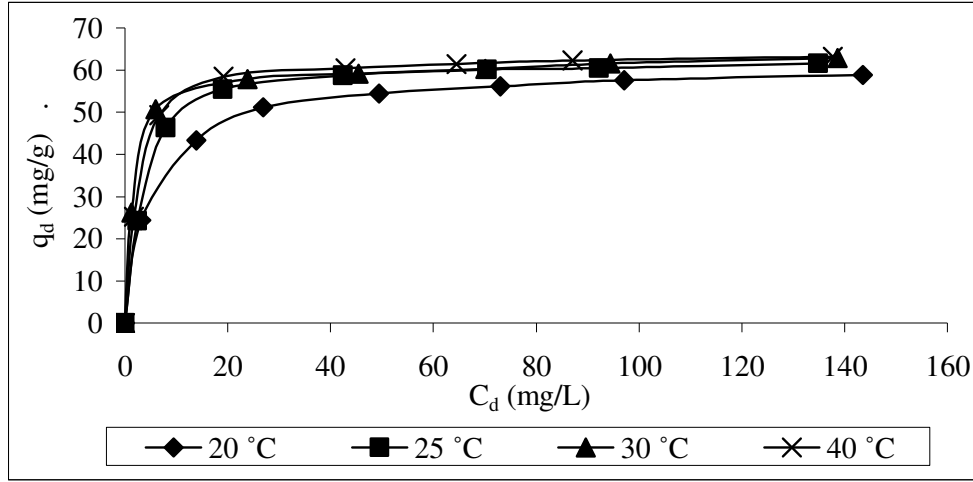
olduğu rapor edilmiştir [22]. *Phanerochaete chrysosporium*'un hidroksil, amino, asetamid ya da nitro gibi grupları taşıyan aromatik halkaların bu grupları taşımayan halkalardan daha etkin parçalayabildikleri rapor edilmiştir [158]. *Funalia trogii* peletlerinin 24 saat inkübasyon süresi ile 5 kademedede kullanılabilceği belirtilmiştir [101].

#### 4.4. DENGİ MODELLEMESİ

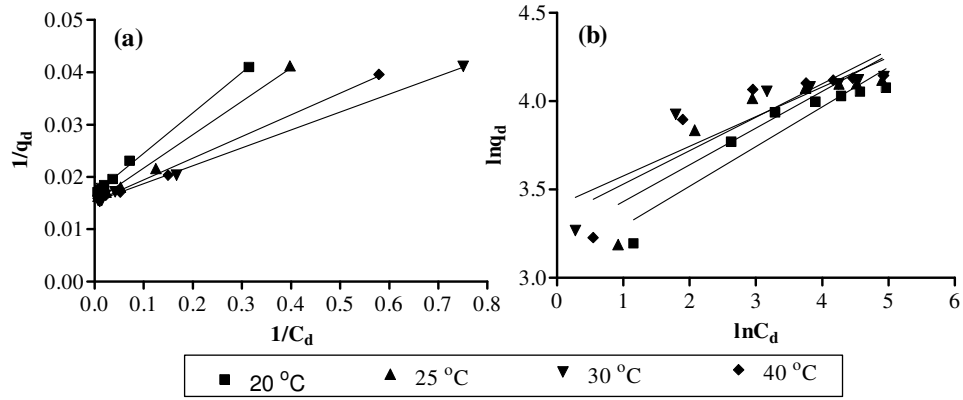
Bu kısımda adsorpsiyon dengesine sıcaklığın etkisini belirlemek amacı ile farklı sıcaklıklarda elde edilen verilerin Langmuir ve Freundlich izoterm modellerine uygunluğu belirlenmiştir.

##### 4.4.1. LB'nin İnaktif *A. oryzae*'ye Adsorpsiyonunda Sıcaklığa Göre Adsorpsiyon Dengesinin Modellenmesi

LB için adsorpsiyon izotermi adı verilen sonuç fonksiyonları, sabit sıcaklıkta, denge durumunda çözeltilde adsorplanmadan kalan çözünen derişimine ( $C_d$ ) karşı birim adsorplayıcı kütlelerinde çözünenin adsorplanan miktarı ( $q_d$ ) grafiğe geçirilerek elde edilmiş ve Şekil 4.35'de sunulmuştur. Sabit sıcaklıkta  $1/C_d$  verilerine karşı  $1/q_d$  verilerinin yerleştirilmesi ile LB için oluşturulan grafiklerin (Şekil 4.36.a) eğim ve kayma değerleri kullanılarak biyosorbentin tek tabaka adsorpsiyon kapasitesi olan  $Q^0$  ve Langmuir sabiti olan  $b$  değerleri elde edilmiştir. Sabit sıcaklıkta  $\ln C_d$  verilerine karşı  $\ln q_d$  verilerinin yerleştirilmesi ile LB için oluşturulan grafiklerin (Şekil 4.36.b) eğim ve kayma değerleri kullanılarak Freundlich izoterm sabitleri olan  $K_f$  ve  $n$  değerleri elde edilmiştir. Her iki modelin doğrusal grafikleri oluşturularak saptanan korelasyon katsayıları, Langmuir ve Freundlich izoterm sabitlerinin farklı sıcaklıklardaki karşılaştırması Çizelge 4.10'da sunulmuştur.



Şekil 4.35. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye LB'nin biyosorpsiyonunda deneysel denge izotermeleri (pH=2, Ç.H.=150rpm, X<sub>0</sub>=1g/L).



Şekil 4.36. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye LB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi.

Çizelge 4.10'dan görüldüğü gibi, LB boyar maddesinin inaktif *A. oryzae* ile gideriminde, 25 °C ve 40 °C'de elde edilen Q<sup>0</sup> değerlerinin eşit; 30 °C'de maksimum olduğu saptanmıştır. 30 °C'deki Q<sup>0</sup> değerinin 25 °C ve 40 °C'deki Q<sup>0</sup> değerine yakın olması, 25 °C–40 °C arasındaki sıcaklıklarda inaktif *A. oryzae* ile adsorpsiyonun sıcaklıkla fazla etkilenmediğini ve geniş sıcaklık aralığında renk gideriminin sağlanabileceğini göstermektedir. Boyar madde derişimi 100±5 mg/L olan ve 25 °C,



30 °C, ve 40 °C’de inkübe edilen ortamlardaki denge mikroorganizma boya alım kapasiteleri arasında da belirgin bir farklılık saptanamamış (sırası ile 58,79 mg/g, 59,23 mg/g ve 60,5 mg/g); 20 °C’deki denge mikroorganizma boya alım kapasitesinin daha düşük (54,40 mg/g) olduğu belirlenmişti (Şekil 4.21). 20 °C, 25 °C, 30 °C, ve 40 °C’de inkübe edilen ortamlardaki başlangıç boyar madde derişimlerinin yaklaşık 200 mg/L’ye artırılması ile denge mikroorganizma boya alım kapasiteleri sırası ile 58,85 mg/g, 61,55 mg/g, 62,82 mg/g ve 63,15 mg/g olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan boyar madde derişimlerinde,  $Q^0 > q_d$  olduğu için adsorpsiyonun tek tabakada meydana geldiği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.10. LB’nin inaktif *A. oryzae*’ye adsorpsiyonunda Langmuir ve Freunlich izoterm sabitlerinin farklı sıcaklıklardaki karşılaştırması

Sıcaklık °C	Freundlich				Langmuir		
	$K_F$ [(mg/g)(L/mg)] <sup>n</sup>	1/n	n	R <sup>2</sup>	Q <sup>0</sup> (mg/g)	b (L/mg)	R <sup>2</sup>
20	21,54	0,22	4,46	0,893	59,52	0,22	0,9984
25	25,16	0,21	4,81	0,7923	65,36	0,24	0,9911
30	30,29	0,17	5,97	0,813	65,79	0,44	0,9980
40	28,27	0,19	5,29	0,7949	65,36	0,37	0,9956

İzoterm eğrilerinin şekli, bir adsorpsiyon sisteminin “istemli” ya da “istemsiz” oluşu ile ilgili bilgi verebilmektedir. Bunun için boyutsuz bir sabit olan ayırma faktörü ya da denge parametresi “R<sub>L</sub>” tanımlanmıştır:

$$R_L = 1/(1+bC_0) \quad (4.1)$$

Burada R<sub>L</sub> izotermin şeklini gösteren boyutsuz ayırma faktörüdür. R<sub>L</sub>>1 ise izoterm istemsiz, R<sub>L</sub>=1 ise izoterm doğrusal, 0<R<sub>L</sub><1 ise izoterm istemli ve R<sub>L</sub>=0 ise izoterm geri dönüşümsüzdür. Çizelge 4.11’den görüldüğü gibi farklı sıcaklıklarda LB için 0<R<sub>L</sub><1 olduğu ve farklı sıcaklıklarda başlangıç boyar madde derişimi artışı ile R<sub>L</sub> değerinin azaldığı saptanmıştır. Bu durum, izotermin istemli olduğunu ve adsorpsiyonun yüksek başlangıç boyar madde derişimlerinde, düşük derişimlere göre

daha istemli olduğunu göstermektedir. En düşük  $R_L$  değerine optimum sıcaklık değeri olan 30 °C’de ulaşılmıştır. Benzer sonuçlar Akkaya [51] tarafından da rapor edilmiştir.

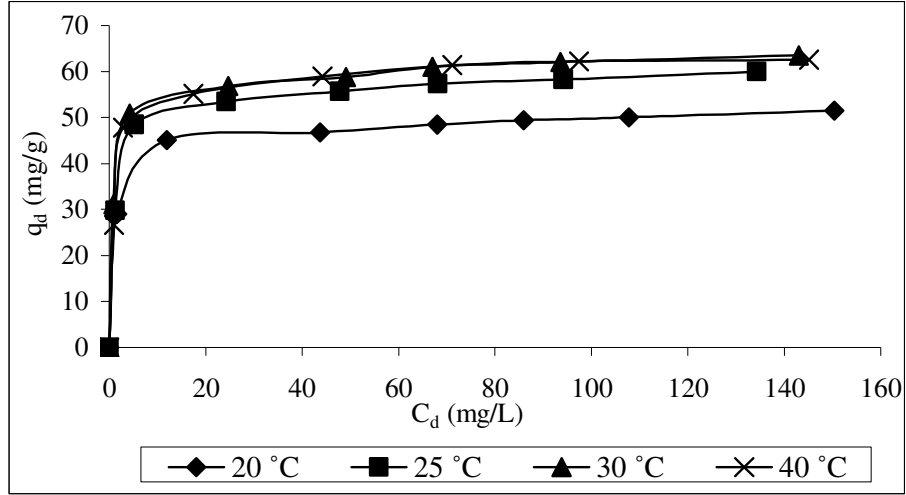
Çizelge 4.11. İnaktif *A. oryzae* ile LB gideriminde farklı sıcaklıklardaki  $R_L$  değerleri

20 °C		25 °C		30 °C		40 °C	
$C_0$ (mg/L)	$R_L$	$C_0$ (mg/L)	$R_L$	$C_0$ (mg/L)	$R_L$	$C_0$ (mg/L)	$R_L$
27,61	0,141	26,78	0,135	27,61	0,076	26,99	0,091
57,30	0,073	54,40	0,071	56,69	0,039	55,94	0,046
78,08	0,055	74,56	0,053	81,63	0,027	77,58	0,034
103,86	0,042	101,24	0,040	104,72	0,021	103,35	0,025
129,20	0,034	130,71	0,031	130,33	0,017	126,02	0,021
154,66	0,029	152,57	0,027	156,04	0,014	149,26	0,018
202,35	0,022	195,44	0,021	201,42	0,011	200,82	0,013

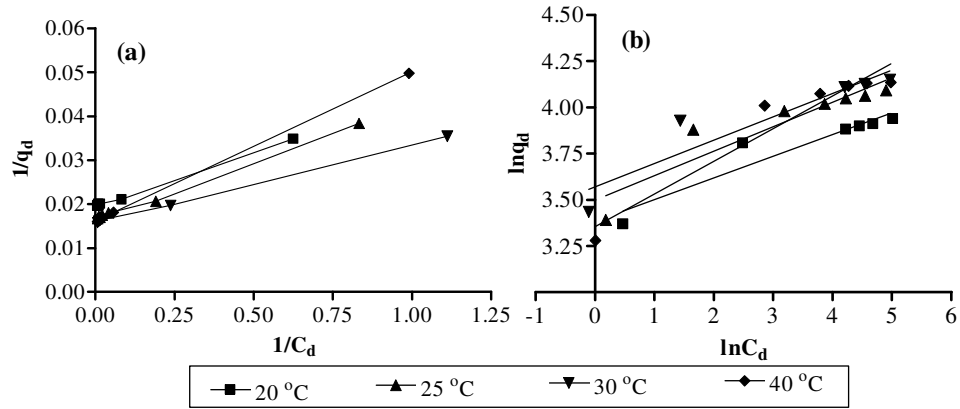
#### 4.4.2. CB’nin İnaktif *A. oryzae*’ye Adsorpsiyonunda Sıcaklığa Göre Adsorpsiyon Dengesinin Modellenmesi

CB için adsorpsiyon izotermi adı verilen sonuç fonksiyonları, sabit sıcaklıkta, denge durumunda çözültide adsorplanmadan kalan çözünen derişimine ( $C_d$ ) karşı birim adsorplayıcı kütlede çözünenin adsorplanan miktarı ( $q_d$ ) grafiğe geçirilerek elde edilmiş ve Şekil 4.37’de sunulmuştur. Sabit sıcaklıkta  $1/C_d$  verilerine karşı  $1/q_d$  verilerinin yerleştirilmesi ile CB için oluşturulan grafiklerin (Şekil 4.38.a) eğim ve kayma değerleri kullanılarak biyosorbentin tek tabaka adsorpsiyon kapasitesi olan  $Q^0$  ve Langmuir sabiti olan  $b$  değerleri elde edilmiştir. Sabit sıcaklıkta  $\ln C_d$  verilerine karşı  $\ln q_d$  verilerinin yerleştirilmesi ile CB için oluşturulan grafiklerin (Şekil 4.38.b) eğim ve kayma değerleri kullanılarak Freundlich izoterm sabitleri olan  $K_f$  ve  $n$  değerleri elde edilmiştir. Her iki modelin doğrusal grafikleri oluşturularak saptanan

korelasyon katsayıları, Langmuir ve Freundlich izoterm sabitlerinin farklı sıcaklıklardaki karşılaştırması Çizelge 4.12’de sunulmuştur.



Şekil. 4.37. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye CB'nin biyosorpsiyonunda deneysel denge izotermi (pH=2, Ç.H.=150rpm,  $X_0=1$ g/L)



Şekil 4.38. İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye CB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi.

Çizelge 4.12’den görüldüğü gibi, CB boyar maddesinin inaktif *A. oryzae* ile gideriminde, en yüksek  $Q^0$  değeri 30 °C’de saptanmıştır. 25 °C ve 40 °C’deki  $Q^0$  değerlerinin 30 °C’deki  $Q^0$  değerine yakın olması, 25 °C - 40 °C aralığındaki

sıcaklıklarda inaktif *A. oryzae* ile CB giderimi sağlanabileceğini göstermektedir. 100±5 mg/L boyar madde içeren ve 25 °C, 30 °C, ve 40 °C’de inkübe edilen ortamlardaki denge mikroorganizma boya alım kapasiteleri arasında da belirgin bir farklılık saptanamamış (sırası ile 55,69 mg/g, 58,79 mg/g, 58,84 mg/g); 20 °C’deki denge mikroorganizma boya alım kapasitesinin daha düşük olduğu (48,47 mg/g) belirlenmişti (Şekil 4.21). 20 °C, 25 °C, 30 °C, ve 40 °C’de inkübe edilen ortamlardaki başlangıç boyar madde derişimlerinin yaklaşık 200 mg/L’ye artırılması ile denge mikroorganizma boya alım kapasiteleri sırası ile 51,40 mg/g, 59,91 mg/g, 63,45 mg/g ve 62,50 mg/g olduğu belirlenmiştir. Çalışmada kullanılan boyar madde derişimlerinde,  $Q^0 > q_d$  olduğu için adsorpsiyonun tek tabakada meydana geldiği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.12. CB’nin inaktif *A. oryzae*’ye adsorpsiyonunda Langmuir ve Freunlich izoterm sabitlerinin farklı sıcaklıklardaki karşılaştırması

Sıcaklık °C	Freundlich				Langmuir		
	$K_F$ [(mg/g)(L/mg)] <sup>n</sup>	1/n	n	R <sup>2</sup>	Q <sup>0</sup> (mg/g)	b (L/mg)	R <sup>2</sup>
20	29,51	0,12	8,53	0,8991	51,55	0,79	0,9978
25	33,08	0,13	7,55	0,8573	60,24	0,64	0,9968
30	35,56	0,13	7,93	0,8664	63,69	0,90	0,9991
40	28,61	0,17	5,65	0,9252	62,89	0,47	0,9998

İnaktif *A. oryzae*’ye LB ve CB adsorpsiyonunda en yüksek tek tabaka adsorpsiyon kapasitesilerinin 30 °C’de, sırası ile 65,79 mg/g ve 63,69 mg/g olduğu saptanmıştır. Her iki boyar madde için farklı sıcaklıklarda elde edilen korelasyon katsayılarının karşılaştırılması sonucunda, LB ve CB boyar maddelerinin inaktif *A.oryzae*’ye biyosorpsiyonunun Langmuir izoterm modeline uyum sağladığı saptanmıştır ( $R^2 > 0,99$ ) (Çizelge 4.10 ve Çizelge 4.12).

Çalışmada kullanılan boyar madde derişimlerinde, adsorpsiyonun Langmuir izoterm modeline uyum sağladığı; adsorpsiyonun tek tabakada meydana geldiği saptanmıştır. Başlangıç boyar madde derişiminin daha fazla artırılması ile Langmuir

ve Freundlich izoterm modellerinin kullanılmasında farklılık olabileceği düşünülmektedir. Ancak, tekstil fabrikası atık sularında 100 mg/L'nin üzerinde boyar madde bulunmasının mümkün olmadığı belirtildiğinden [175], daha yüksek boyar madde derişimleri çalışılmamıştır. Çalışmada başlangıç boyar madde derişiminin 100 mg/L'den 200 mg/L'ye artırılması sonucunda izoterm modellerinin kullanılmasında bir farklılık saptanamamış;  $Q^0$  değerinin  $q_d$  değerinden yüksek olduğu belirlenmiştir.

*Rhizopus arrhizus* ile 35 °C'de maksimum Remazol Black B giderimi sağlandığı, daha yüksek sıcaklıklarda yüzey aktivitesi azalmasına bağlı olarak adsorpsiyon veriminin azaldığı rapor edilmiştir [165]. Ayrıca, fizksel adsorpsiyon reaksiyonları genellikle ekzotermik olduğundan adsorpsiyon veriminin düşük sıcaklıklarda daha yüksek olduğu belirtilmektedir [66, 164]. Yapılan çalışmada, sıcaklık artışı ile biyosorbentin tek tabaka adsorpsiyon kapasitesinde belirgin bir farklılık saptanmadığından renk gideriminde etkin mekanizmanın fizksel adsorpsiyon olabileceği düşünülmüştür.

İnaktif *A. oryzae* ile farklı sıcaklıklarda CB giderimi için de izotermin şeklini gösteren boyutsuz ayırma faktörü  $R_L$  hesaplanmış; sonuçlar Çizelge 4.13'de sunulmuştur. Çizelge 4.13'den görüldüğü gibi farklı sıcaklıklarda, CB için  $0 < R_L < 1$  olduğu ve farklı sıcaklıklarda başlangıç boyar madde derişimi artışı ile  $R_L$  değerinin azaldığı saptanmıştır. Bu durum, izotermin istemli olduğunu ve adsorpsiyonun yüksek başlangıç boyar madde derişimlerinde, düşük derişimlere göre daha istemli olduğunu göstermektedir. En düşük  $R_L$  değerine optimum sıcaklık değeri olan 30 °C'de ulaşılmıştır. Benzer sonuçlar Akkaya [51] tarafından da rapor edilmiştir.

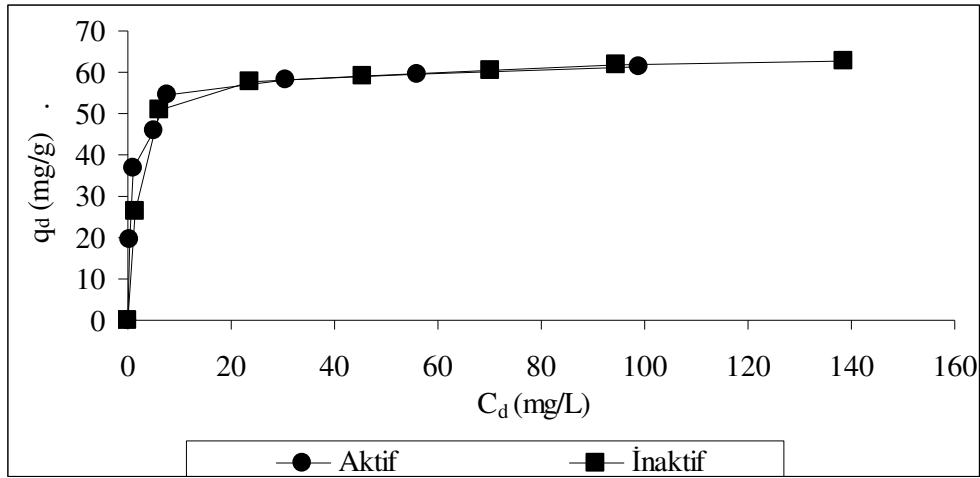
Çizelge 4.13. İnaktif *A. oryzae* ile CB gideriminde farklı sıcaklıklardaki  $R_L$  değerleri

20 °C		25 °C		30 °C		40 °C	
$C_0$ (mg/L)	$R_L$	$C_0$ (mg/L)	$R_L$	$C_0$ (mg/L)	$R_L$	$C_0$ (mg/L)	$R_L$
30,66	0,040	30,92	0,048	31,95	0,034	27,61	0,072
57,00	0,022	53,68	0,028	55,00	0,020	50,77	0,040
83,45	0,015	77,71	0,020	81,51	0,013	72,53	0,028
114,48	0,011	103,58	0,015	107,89	0,010	103,03	0,020
135,36	0,009	125,59	0,012	128,00	0,009	132,55	0,016
157,75	0,008	152,48	0,010	155,52	0,007	159,63	0,013
201,83	0,006	194,24	0,008	206,45	0,005	207,68	0,010

#### 4.4.3. LB ve CB'nin Aktif ve İnaktif *A. oryzae*'ye Adsorpsiyonunda İzotermilerin Karşılaştırılması

Aktif *A. oryzae* ile 30 °C'de sağlanan renk gideriminde, boyar madde derişimi yükselmesine bağlı olarak renk gideriminin dengeye ulaşması için gerekli olan inkübasyon süresinin uzadığı saptanmıştır (Çizelge 4.3). Çizelgede belirtilen inkübasyon süreleri sonundaki çözeltide kalan LB ve CB miktarına ( $C_d$ ) karşı denge anında birim mikroorganizma kütlelerinde giderilen boya miktarı ( $q_d$ ) grafikleri oluşturulmuş ve inaktif *A. oryzae*'nin 30 °C'deki adsorpsiyon izotermi ile karşılaştırılmış; sonuçlar sırası ile Şekil 4.39 ve Şekil 4.40'da sunulmuştur. Şekil 4.39'dan görüldüğü gibi, birim aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* kütlelerinde giderilen boyar madde derişimleri benzerlik göstermesine rağmen, inaktif hücrelerle sürdürülen çalışmada, başlangıç boyar madde derişiminin artışına bağlı olarak denge anında ortamda kalan boyar madde derişiminin aktif hücrelerle elde edilen bulgulardan oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Aktif hücrelerin kullanıldığı LB giderim çalışmalarında başlangıç boyar madde derişiminin 27,76 mg/L'den 198,50 mg/L'ye artırılması ile denge anında ortamda kalan boyar madde derişiminin 0,43 mg/L'den 99,01 mg/L'ye yükseldiği saptanmıştır. İnaktif hücrelerin kullanıldığı

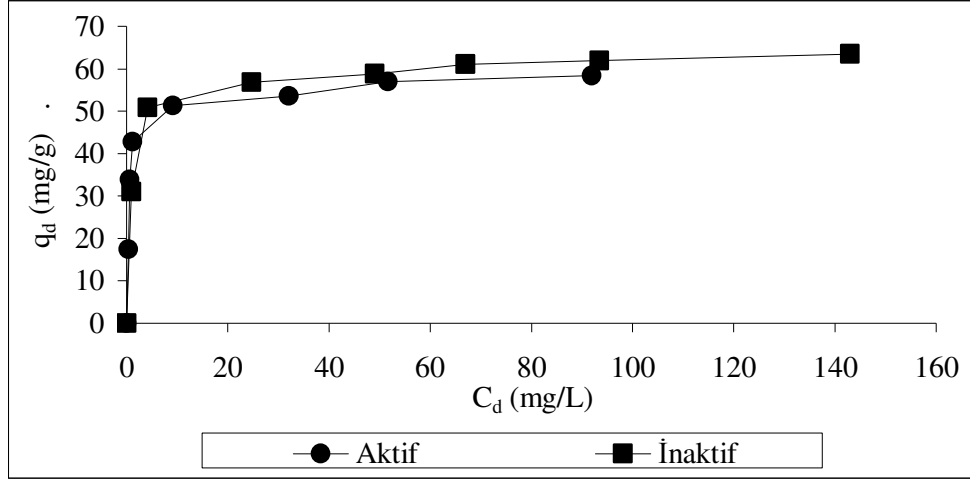
çalışmalarda ise başlangıç boyar madde derişiminin 27,61 mg/L'den 201,42 mg/L'ye artırılması ile denge anında ortamda kalan boyar madde derişiminin 1,32 mg/L'den 138,60 mg/L'ye yükseldiği saptanmıştır. Bu durum, aktif hücrelerle sürdürülen çalışmada, farklı LB derişimlerinde denge anında ortamdaki biyosorbent derişiminin üremeye bağlı olarak 1 g/L'den daha yüksek olması (Çizelge 4.3) ve buna bağlı olarak adsorplanan boyar madde derişiminin, 1g/L inaktif biyosorbent içeren ortamlardakinden daha yüksek olması ile açıklanmıştır.



Şekil 4.39. Aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* ile 30 °C'de LB gideriminde deneysel denge izotermelerinin karşılaştırması (Aktif *A. oryzae* için C<sub>0</sub>=27,76-198,5; inaktif *A. oryzae* için C<sub>0</sub>=27,61-201,42)

Şekil 4.40'dan görüldüğü gibi, birim aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* kütlelerinde giderilen CB miktarları benzerlik göstermesine rağmen, inaktif hücrelerle sürdürülen çalışmada, başlangıç boyar madde derişiminin artışına bağlı olarak denge anında ortamda kalan boyar madde derişiminin aktif hücrelerle elde edilen bulgulardan oldukça yüksek olduğu saptanmıştır. Aktif hücrelerin kullanıldığı CB giderim çalışmalarında başlangıç boyar madde derişiminin 26,51 mg/L'den 190,69 mg/L'ye artırılması ile denge anındaki ortamda kalan boyar madde derişiminin 0,41 mg/L'den 91,93 mg/L'ye yükseldiği saptanmıştır. İnaktif hücrelerin kullanıldığı çalışmalarda ise başlangıç boyar madde derişiminin 31,72 mg/L'den 210,85 mg/L'ye artırılması ile denge anındaki ortamda kalan boyar madde derişiminin 0,90 mg/L'den

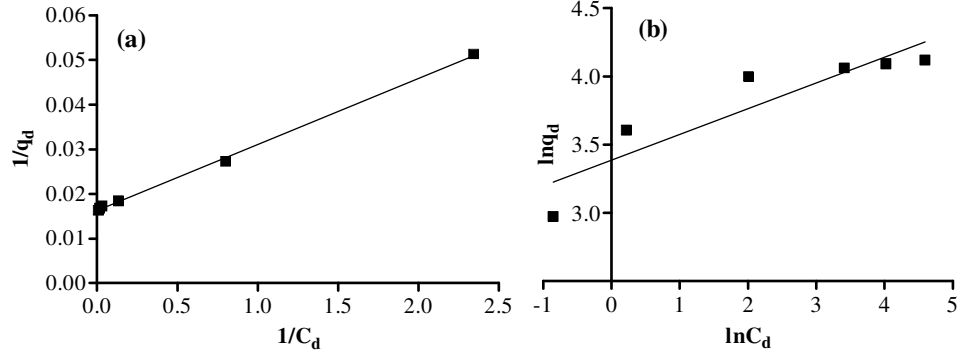
143,00 mg/L'ye yükseldiği saptanmıştır. Bu durum, aktif hücrelerle sürdürülen çalışmada, farklı CB derişimlerinde denge anında ortamdaki biyosorbent derişiminin üremeye bağılı olarak 1 g/L'den daha yüksek olması ve buna bağılı olarak adsorplanan boyar madde derişiminin, 1g/L inaktif biyosorbent içeren ortamlardakinden daha yüksek olması ile açıklanmıştır.



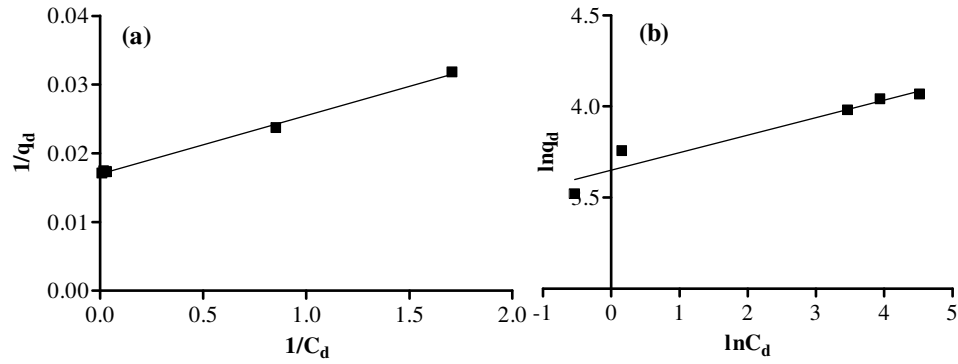
Şekil 4.40. Aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* ile 30 °C'de CB gideriminde deneysel denge izotermelerinin karşılaştırması (Aktif *A. oryzae* için C<sub>0</sub>=26,51 – 190,69 ; inaktif *A. oryzae* için C<sub>0</sub>=31,72 – 210,85)

Kısım 4.4.1 ve 4.4.2.'de belirtildiği şekilde, aktif *A. oryzae*'ye 30 °C'de LB ve CB adsorpsiyonunda doğrusal Langmuir ve Freundlich izoterm grafikleri oluşturulmuş ve sırası ile Şekil 4.41 ve 4.42'de sunulmuştur. Grafikler kullanılarak aktif *A. oryzae* için belirlenen izoterm sabitleri inaktif *A. oryzae* için 30 °C'de belirlenen izoterm sabitleri ile karşılaştırılmıştır. Boyar maddelerin 30 °C'de aktif ve inaktif *A. oryzae*'ye adsorpsiyonunda her iki modelin doğrusal grafiklerinden belirlenen korelasyon katsayıları, Langmuir ve Freundlich izoterm sabitleri LB ve CB için sırası ile Çizelge 4.14 ve Çizelge 4.15'de sunulmuştur.





Şekil 4.41. Aktif *Aspergillus oryzae*'ye LB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi (T=30 °C).



Şekil 4.42. Aktif *Aspergillus oryzae*'ye CB'nin adsorpsiyonunda (a) doğrusal Langmuir adsorpsiyon izotermi ve (b) doğrusal Freundlich adsorpsiyon izotermi (T=30 °C).

Çizelge 4.14'den görüldüğü gibi 30 °C'de aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae*'ye LB ve CB biyosorpsiyonunda  $R^2$  değerlerinin 1'e yakın olması izotermi Langmuir modeline yaklaştığını göstermektedir. Aktif ve inaktif *A. oryzae*'nin LB için tek tabaka adsorpsiyon kapasitesinin CB için saptanan tek tabaka adsorpsiyon kapasitesinden daha yüksek olduğu saptanmıştır. Her iki boyar madde için inaktif *A. oryzae*'nin tek tabaka adsorpsiyon kapasitesinin aktif *A. oryzae*'ye göre daha yüksek olduğu saptanmıştır. Aktif hücreler için saptanan langmuir izoterm sabiti b değerinin inaktif hücreler için saptanandan daha yüksek olması, aktif hücrelerle LB ve CB

gideriminde izotermin sıcaklık değişimlerine daha hasas olduğunu göstermektedir. Bir fungusun aktif ve inaktif formlarının boyar madde adsorplama kapasitelerinin ve afinitelerinin boyar madde yapısına göre değiştii belirtilmektedir [99].

Çizelge 4.14. LB ve CB'nin Aktif ve İnaktif *Aspergillus oryzae*'ye adsorpsiyonunda Langmuir ve Freunlich izoterm sabitleri (T=30 °C)

		Freundlich				Langmuir		
		$K_F$ [(mg/g)(mg/L)] <sup>n</sup>	1/n	n	R <sup>2</sup>	Q <sup>0</sup> (mg/g)	b (L/mg)	R <sup>2</sup>
<b>LB</b>	Aktif	29,50	0,19	5,30	0,8314	61,35	1,10	0,9987
	İnaktif	30,29	0,17	5,97	0,8130	65,79	0,44	0,9980
<b>CB</b>	Aktif	38,49	0,10	10,00	0,9311	58,82	2,00	0,9973
	İnaktif	35,56	0,13	7,93	0,8664	63,69	0,90	0,9991

Aktif *A. oryzae* ile 30 °C'de LB ve CB giderimi için de izotermin şeklini gösteren boyutsuz ayırma faktörü R<sub>L</sub> hesaplanmış, İnaktif *A. oryzae* ile 30 °C'de LB ve CB giderimi için saptanan R<sub>L</sub> sonuçları ile karşılaştırılmış ve Çizelge 4.15'de sunulmuştur. Çizelge 4.15'den görüldüğü gibi aktif ve inaktif *A. oryzae* ile 30 °C'de LB ve CB giderimi için 0<R<sub>L</sub><1 olduğu ve başlangıç boyar madde derişimi artışı ile R<sub>L</sub> değerinin azaldığı saptanmıştır. Bu durum, izotermin istemli olduğunu ve adsorpsiyonun yüksek başlangıç boyar madde derişimlerinde, düşük derişimlere göre daha istemli olduğunu göstermektedir. Benzer sonuçlar Akkaya [51] tarafından da rapor edilmiştir.

Çizelge 4.15. Aktif ve inaktif *A. oryzae* ile LB ve CB gideriminde 30 °C'deki  $R_L$  değerleri

LB	Aktif	$C_0$	27,76	52,24	78,19	103,80	128,50	154,57	198,50
		$R_L$	0,033	0,017	0,012	0,009	0,007	0,006	0,005
	İnaktif	$C_0$	27,61	56,69	81,63	104,72	130,33	156,04	201,42
		$R_L$	0,076	0,039	0,027	0,021	0,017	0,014	0,011
CB	Aktif	$C_0$	26,51	50,98	73,30	95,28	123,26	148,05	190,69
		$R_L$	0,019	0,010	0,007	0,005	0,004	0,003	0,002
	inaktif	$C_0$	31,95	55,00	81,51	107,89	128,00	155,52	206,45
		$R_L$	0,034	0,020	0,013	0,010	0,009	0,007	0,005

Literatürde yer alan, farklı aktif ya da inaktif biyosorbentlerin farklı boyar maddeler için tek tabaka boyama alım kapasitelerinin bu çalışmada aktif ve inaktif *Aspergillus oryzae* için tek tabaka LB ve CB alım kapasitesine yakın, daha düşük ya da daha yüksek olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.16). İnaktif *A. oryzae*'nin tek tabaka adsorpsiyon kapasitesi Çizelge 4.16'da belirtilen bazı çalışmalarda saptanmış olan tek tabaka adsorpsiyon kapasitesi değerlerinden daha düşük olmasına rağmen, tekstil atıksularında bulunan boyar madde derişimleri için yeterli bir adsorbent olduğu görülmektedir.

Çizelge 4.16. Literatürde yer alan, farklı aktif ve inaktif biyosorbentlerin, farklı boyar maddeler için tek tabaka boya alım kapasiteleri.

Biyosorbent	Boyar madde (çözünen)	Q <sup>o</sup> (mg/g)	Kaynak
İnaktif <i>Caulerpa lentillifera</i> (makro alg)	Astrazon Blue FGRL	49,26	175
Aktif Çamur	Maxilon Red	123,20	69
Yerfıstığı Kabuğu	Amaranth	14,90	180
	Sunset yellow	13,40	
	Fast Gren FCF	15,60	
Muz Kabuğu	Direct red	5,92	168
	Acid B Blue	4,42	
Portakal Kabuğu	Direct Red 23	10,70	60
	Direct Red 80	21,10	
İnaktif <i>Fomes fomentarius</i> (makro fungus)	Methylene Blue	232,73	15
	Rhodamine B	25,12	
İnaktif <i>Phellinus igniarius</i> (makro fungus)	Methylene Blue	204,38	15
	Rhodamine B	36,82	
İnaktif <i>Corynebacterium glutamicum</i>	Reactive Red 4	104,60	181
İnaktif <i>Enteromorpha prolifera</i> (makroalg)	Acid Blue 324	160,60	64
	Acid Red 337	210,00	
İnaktif <i>Spyrogyra rhizopus</i> (makroalg)	Acid Blue 290	1356,60	66
	Acid Red 324	367,00	
Şekerkamışı tozu (Tarımsal atık)	Basic Violet 10	13,90	55
	Basic Violet 1	50,40	
	Basic Gren 4	20,60	
İnaktif <i>Pithophora sp.</i> (alg)	Malachite Green	117,65	166
İnaktif <i>Trametes versicolor</i> (Beyaz çürükçül fungus)	Acid Green 27	90,90	99
	Acid Violet 7	54,60	
	İndigo Carmine	49,50	
Aktif <i>Trametes versicolor</i> (Beyaz çürükçül fungus)	Acid Green 27	104,20	99
	Acid Violet 7	53,50	
	İndigo Carmine	51,00	
Aktif <i>Penicillium oxalicum</i> (Küf mantarı)	Reactive Blue 19	159,00	94
	Reactive Red 241	122,00	
	Reactive Yellow 145	137,00	

#### 4.4.4. Serbest Enerji Değişimi

Standart serbest enerji ( $\Delta G$ ), adsorpsiyon prosesinin karakterini belirleyen bir parametredir. Prosesin Gibb's serbest enerji değişimi ile denge sabiti arasındaki ilişki eşitlik 4.2 ile gösterilmektedir.

$$\Delta G^0 = -RT \ln K_c \quad (4.2)$$

Burada R, evrensel gaz sabiti (8,314 J/mol.K); T, mutlak sıcaklık (K);  $K_c$ , denge sabitidir ve dengede adsorplanan boyar madde derişiminin dengede adsorplanmadan kalan boyar madde derişimine oranı ( $C_{ad,d}/C_d$ ) olarak tanımlanabilir [182]. Aktif *A. oryzae* ile LB ve CB boya larının 25–35 °C (298–308 K) arasındaki sıcaklıklardaki giderimi için  $K_c$  ve  $\Delta G^0$  değerleri Çizelge 4.17'de sunulmuştur. Mikroorganizma gelişiminin inhibe olduğu 40 °C'de serbest enerji değişimi hesaplanmamıştır.

Çizelge 4.17. Aktif *A. oryzae* ile LB ve CB boya larının giderimi için  $K_c$  ve  $\Delta G^0$  değerleri

	Sıcaklık (K)	$K_c$	$\Delta G^0$ (kJ/mol)
LB	298	8,34	-5,26
	303	75,83	-10,90
	308	29,47	-8,66
CB	298	6,67	-4,70
	303	119,62	-12,05
	308	90,02	-11,52

Adsorbent derişimi 1 g/L olduğu zaman  $K_c$ , doğrusal Langmuir izoterm model ( $C_d$ 'ye karşı  $C_d/q_d$ ) grafiğinin kayma noktasının ( $1/Q^0b$ ) tersine ( $Q^0b$ ) eşit olacağı belirtilmektedir [182]. İnaktif *A. oryzae* (1 g/L) ile 20–40 °C arasında değişen sıcaklıklarda LB ve CB giderimi için  $K_c$  ve  $\Delta G^0$  değerleri Çizelge 4.18'de sunulmuştur.

Çizelge 4.18. İnaktif *A. oryzae* ile LB ve CB boyalarının giderimi için  $K_c$  ve  $\Delta G^0$  değerleri

	Sıcaklık(K)	$K_c$	$\Delta G^0$ (kJ/mol)
LB	293	11,351	-5,918
	298	19,881	-7,407
	303	27,100	-8,312
	313	27,322	-8,608
CB	293	17,889	-7,026
	298	25,126	-7,987
	303	28,011	-8,395
	313	33,003	-9,099

Literatürde, genellikle fiziksel adsorpsiyon için serbest enerji değişiminin ( $\Delta G^0$ ) 0 kJ/mol ve -20 kJ/mol arasında; kimyasal adsorpsiyon için -80 kJ/mol ve -400 kJ/mol arasında değerler aldığı belirtilmektedir [183]. Çizelge 4.17 ve Çizelge 4.18'den görüldüğü gibi aktif ve inaktif *A. oryzae* ile farklı sıcaklıklarda LB ve CB giderimi için saptanan serbest enerji değişimleri fiziksel adsorpsiyon için belirtilen sınırlardadır.

#### 4.5. DESORPSİYON ÇALIŞMALARI

Boyar maddenin biyosorbente bağlanma şeklinin belirlenmesi amacı ile desorpsiyon çalışmalarının yapılması gerektiği vurgulanmaktadır [167]. Ayrıca bir biyosorbentin en önemli özelliklerinden biri rejenere edilebilirliği olduğu belirtilmektedir [1, 53]. Araştırmalar, metanol, etanol gibi bazı organik çözücüler, non-iyonik tween gibi bazı yüzey aktifler, NaOH çözeltisi kullanılarak biyokütlenin rejenere edilebileceğini göstermiştir [1, 53].

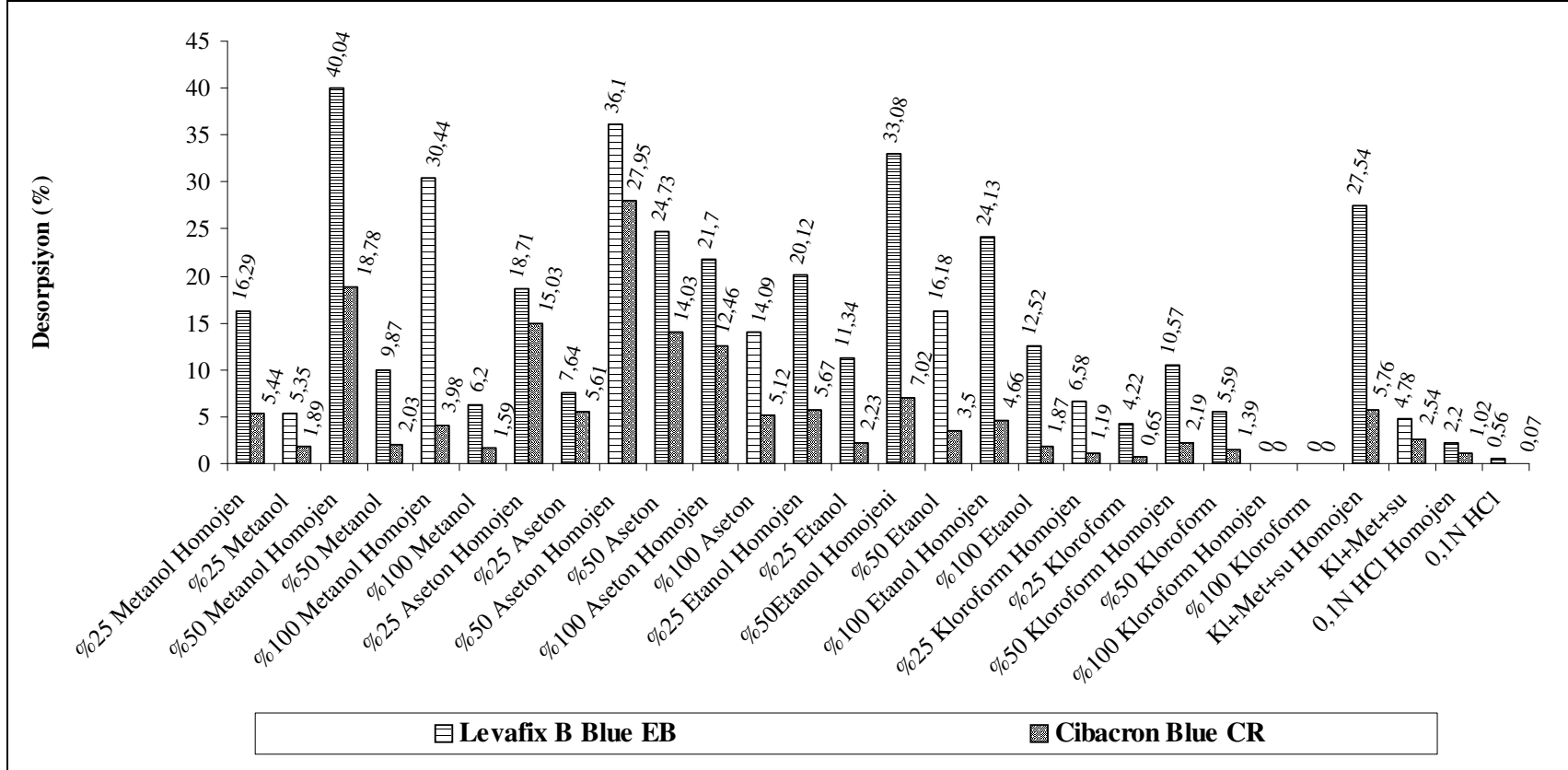
##### 4.5.1. LB ve CB Boyalarının Aktif *A. oryzae*'den Desorpsiyonunun İncelenmesi

LB ve CB'nin aktif *A. oryzae* hücrelerinden desorpsiyonunu araştırmak amacı ile boyar maddelerin adsorpsiyonundan sonra 0,1 N HCl, farklı oranlarda hazırlanmış organik çözücüler Kloroform-Metanol-Su (1:1:1) karışımı ve farklı derişimlerde

NaOH kullanılarak homojen edilmiş ve homojen edilmemiş peletlerde uygulanan desorpsiyon işleminden sonra belirlenen desorpsiyon verimleri Şekil 4.43 ve Şekil 4.44'de sunulmuştur. Şekil 4.43'den görüldüğü gibi, aktif *Aspergillus oryzae* hücrelerine boyar madde adsorpsiyonundan sonra değişik oranlarda farklı organik çözücüler kullanılarak yapılan desorpsiyon çalışması sonucunda, homojen edilmiş peletlerde daha yüksek desorpsiyon verimi sağlanmıştır. Pelet yapısının bozulması ile desorpsiyon veriminin artışı renk giderim verileri ile örtüşmektedir. Spor aşılması yapıldıktan sonra pelet oluşumu sırasında renk giderim veriminin arttığı saptanmıştır. Organik çözücülerle, LB için maksimum desorpsiyon verimi % 50 metanol ile % 40,00; CB için % 50 aseton ile % 27,95 verimle homojen edilmiş peletlerde sağlanmıştır. 0,1 N HCl ile belirgin bir desorpsiyon sağlanamamıştır (Şekil 4.43).

Metanol ile muamele edilmiş biyokütlenin yüksek boyar madde adsorplama kapasitesine sahip olduğu; metanolün boyar madde ve biyokütle arasındaki hidrofobik/hidrofilik etkileşimi etkileyebileceği belirtilmiştir [179].

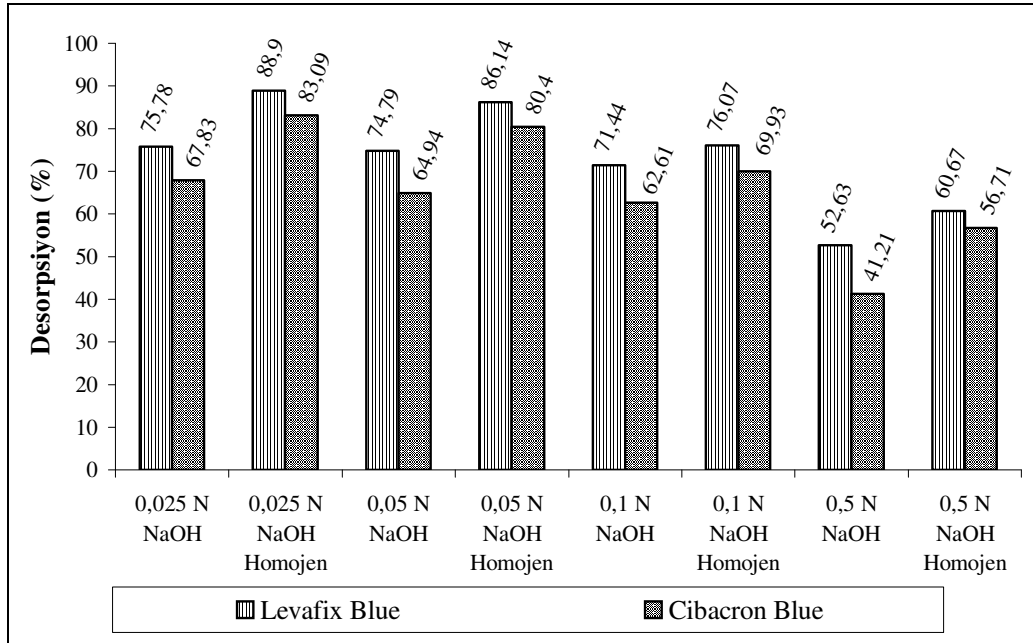
Renk giderim mekanizmasının açıklanmasında desorpsiyon çalışmaları önemli rol oynamaktadır. Mikrobiyol biyokütle ile renk giderimi sağlandıktan sonra, asit, baz ya da farklı organik çözücüler kullanılarak uygulanan desorpsiyon işleminden sonra boyar maddenin fungal biyokütleden ayrılarak ortama geri verilmesinin renk gideriminde temel mekanizmanın adsorpsiyon olduğunu gösterdiği belirtilmektedir [96]. Ancak enzimatik parçalanmanın söz konusu olduğu durumlarda, boyar maddenin kromofor yapısı bozulmuş olacağından desorpsiyon işleminden sonra ortamda boyar maddenin saptanamadığı ya da çok düşük miktarda saptanabildiği belirtilmektedir [101]. Adsorpsiyon ile renk gideriminden sonra hücre yüzeyinden iyonların desorpsiyonla uzaklaştırılması mümkün olmasına rağmen, biyoakümülyasyondan sonra mümkün olmadığı ve biyosorbentin desorpsiyon ile rejenerasyonun biyosorpsiyonun pratik uygulamaları açısından oldukça önemli olduğu vurgulanmaktadır [105].



Şekil 4.43. *Aspergillus oryzae* aktif hücreleri ile LB ve CB boyar maddelerinin adsorpsiyonundan sonra 0,1 N HCl, farklı oranlarda hazırlanmış organik çözücüler ve Kloroform-Metanol-Su (1:1:1) karışımı ile homojen edilmiş ve edilmemiş peletlerden sağlanan desorpsiyon yüzdeleri.



Şekil 4.44'den görüldüğü gibi, aktif *Aspergillus oryzae* hücrelerine LB ve CB adsorpsiyonundan sonra farklı derişimlerde NaOH ile yüksek desorpsiyon verimi sağlanmış; homojen edilmiş peletlerden sağlanan desorpsiyon yüzdesinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Homojen edilmiş peletlerden LB ve CB için maksimum desorpsiyon yüzdesinin 0,025 N NaOH ile sağlandığı ve sarasıyla % 88,90 ve % 83,09 olduğu saptanmıştır. NaOH ile yüksek oranda desorpsiyon sağlanması, aktif *A. oryzae* ile renk gideriminde temel mekanizmanın fiziksel adsorpsiyon olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.44. *Aspergillus oryzae* aktif hücreleri ile LB ve CB boyar maddelerinin adsorpsiyonundan sonra farklı derişimlerde NaOH kullanılarak homojen edilmiş ve homojen edilmemiş peletlerden sağlanan desorpsiyon yüzdeleri.

Literatürde, *Aspergillus foetidus* büyüyen hücreleri ile giderilen reaktif boyar maddelerin 0,1 N NaOH ile % 85'inin geri kazanılmasının renk gideriminde adsorpsiyonun temel mekanizma olduğunu gösterdiği belirtilmektedir [83]. Homojen edilmiş peletlerden daha yüksek oranda desorpsiyon sağlanması, boyar maddenin hiflere adsorplandığını ve büyüyen peletlerin içerisinde bulunduğunu göstermektedir. *Cunninghamella polymorpha* ile DB-60 renk giderimi sağlandıktan sonra ortamdan

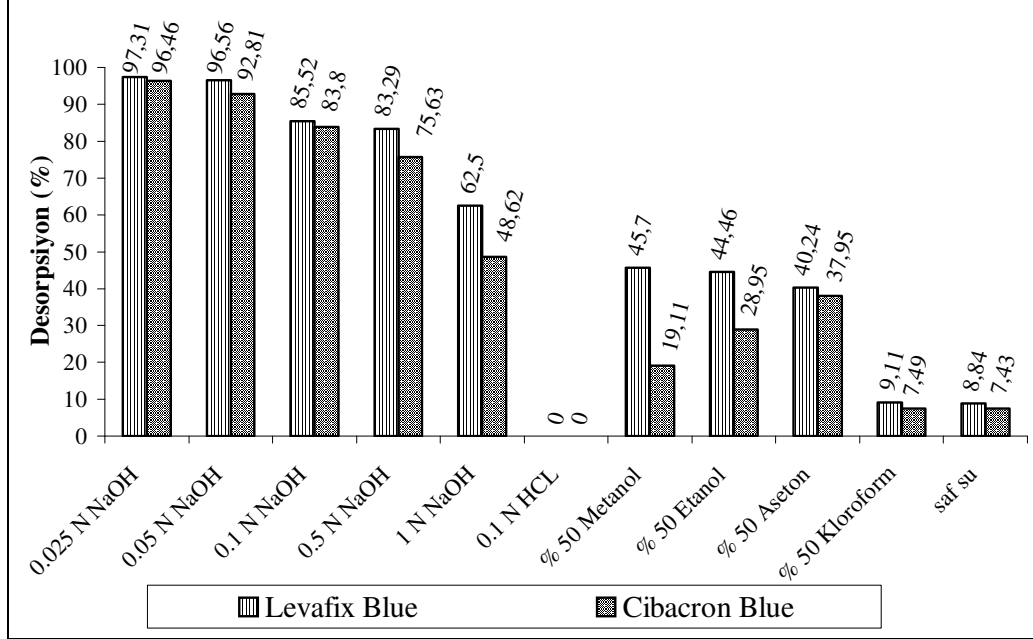
ayrılan fungus peletleri 1-bütanol ile muamele edilmesi ile giderilen boyar maddenin tamamının geri alındığı, bu bulgunun, boyar maddenin fungus tarafından parçalanmadığını, fungal hücrelere sorplandığını gösterdiği belirtilmiştir [96].

#### 4.5.2. LB ve CB Boyalarının İnaktif *A. oryzae*'den Desorpsiyonunun İncelenmesi

İnaktif biyokütleyle kimyasal adsorpsiyon fiziksel adsorpsiyon ya da iyon değişimi gibi mekanizmalarla renk giderimi sağlanabilmektedir. *A. oryzae* inaktif hücreleri ile adsorpsiyon sağlandıktan sonra adsorpsiyonun doğasını belirlemek amacı ile desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Biyokütlerdeki amino, karboksil, fosfat ve lipid fraksiyonlarının boyar madde biyosorpsiyonunda önemli rol oynadığı rapor edilmiştir [6]. Organik çözücüler, asit ya da baz kullanılarak desorpsiyon sağlanmasının inaktif biyokütleyle fiziksel adsorpsiyonu [105]; desorpsiyon sağlanamamasının ise kimyasal adsorpsiyonu gösterdiği belirtilmektedir [184].

LB ve CB'nin inaktif *A. oryzae* hücrelerinden desorpsiyonunu araştırmak amacı ile boyar maddelerin adsorpsiyonundan sonra 0,1 N HCl, farklı derişimlerde NaOH ve % 50'lik organik çözücüler kullanılarak uygulanan desorpsiyon işleminden sonra belirlenen desorpsiyon verimleri Şekil 4.45'de sunulmuştur. Şekil 4.45'den görüldüğü gibi, inaktif *A. oryzae* hücrelerine boyar madde adsorpsiyonundan sonra organik çözücülerle sağlanan desorpsiyon veriminin farklı derişimlerde NaOH çözeltileri ile sağlanan desorpsiyon veriminden daha düşük olduğu saptanmıştır. Stok boya adsorplamış mikroorganizma çözeltileri hazırlandıktan sonra, 8,84 mg/L LB ve 7,43 mg/L CB'nin su ile desorplandığı; desorpsiyon başlangıcında, ortamlarda boya adsorplamış stok mikroorganizma çözeltisinde bulunan 8,84 mg/L LB ya da 7,43 mg/L CB olduğu belirlenmiştir. 0.1 N HCl ile desorpsiyon başlangıcında ortamda bulunan 8,84 mg/L LB ya da 7,43 mg/L CB'nin desorpsiyon sonunda ortamda saptanamaması, ortam pH'sının azalmasıyla su ile desorplanan boyar maddelerin yeniden biyokütleyle adsorplandığını göstermektedir. % 50 kloroform ile desorpsiyon sağlanamadığı belirlenmiştir. LB ve CB boyar maddeleri için maksimum desorpsiyon yüzdesinin 0,025 N NaOH çözeltisi ile sağlandığı ve sırasıyla % 97,31

ve % 96,48 olduğu saptanmıştır. İnaktif hücelere LB ve CB adsorpsiyonundan sonra yüksek verimle desorpsiyon sağlanması boyar maddelerinin *A. oryzae* inaktif hüceleri ile renk giderimindeki temel mekanizmanın fiziksel adsorpsiyon olduğunu göstermiştir (Şekil 4.45).



Şekil 4.45. *Aspergillus oryzae* inaktif hüceleri ile LB ve CB boyar maddelerinin adsorpsiyonundan sonra 0,1 N HCl, farklı derişimlerde NaOH ve % 50'lik organik çözücüler kullanılarak sağlanan desorpsiyon verimi.

Kömür türevi adsorbentlerden boyar madde desorpsiyonu için saf su, 0,1 N NaOH ve 0,1 N HCl kullanıldığı zaman % 2'nin altında desorpsiyon verimi sağlandığı, dolayısıyla renk giderim mekanizmasının kuvvetli kimyasal adsorpsiyon olduğu rapor edilmiştir [184].

İnaktif hücelere maksimum renk giderimi pH 2'de saptanmıştır. Boyar madde çözeltisindeki negatif yüklü boyar madde anyonları düşük pH'da pozitif yük taşıyan hücre yüzeyi tarafından elektrostatik çekim kuvveti ile adsorplanmaktadır. 0,1 N HCl kullanıldığı zaman (asidik koşullar), her iki boyar madde için de desorpsiyon sağlanamamıştır. Farklı derişimlerde NaOH kullanıldığı zaman (bazik koşullarda) yüksek oranda desorpsiyon sağlanmıştır (Şekil 4.45). Ortam pH'sının

artması ile adsorbent yüzeyindeki negatif yüklü bölge sayısı arttığından; adsorbent yüzeyindeki negatif yüklü bölgeler ve anyonik boyar madde arasındaki elektrostatik itme kuvvetinden dolayı desorpsiyon sağlanmıştır. Arami ve ark. [60], portakal kabuğu ile maksimum boyar madde adsorpsiyonunun pH 2’de; maksimum desorpsiyonun ise pH 12’de meydana geldiğini; desorpsiyonun yüksek pH’da negatif yüklü hale gelen biyokütle ve boyar madde anyonları arasındaki elektrostatik itme kuvveti ile meydana geldiğini rapor etmişlerdir. pH’sı yüksek ortamlarda hümik asidin çözünürlüğü arttığından, 0,1 N NaOH kullanılarak *Rhizopus arrhizus* biyokütlesinden % 90’ın üzerinde verimle hümik asit desorpsiyonu sağlandığı rapor edilmiştir [140].

Organik çözücülerle, LB ve CB için maksimum desorpsiyon yüzdeleinin sırası ile % 50 metanol ve % 50 aseton ile sağlandığı ve sırası ile % 45,70 ve % 37,95 olduğu saptanmıştır. Literatürde, organik çözücülerle % 32 - % 40 desorpsiyon sağlanmasının, sorpsiyonun “fiziksel sorpsiyon” olduğunu gösterdiği belirtilmektedir [184].

#### 4.6. LB VE CB BOYALARININ AKTİF VE İNAKTİF *A. oryzae* İLE GİDERİM MEKANİZMASINDA ADSORPSİYONUN ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

##### 4.6.1. LB ve CB Boyalarının Aktif *A. oryzae* ile Giderim Mekanizmasında Adsorpsiyonun Etkinliğinin Araştırılması

Canlı hücrelerle renk gideriminin mikrobiyal hücrelere adsorpsiyon ya da biyolojik parçalanma yolu ile gerçekleştiği belirtilmiştir [73-75) . Ayrıca literatürde hücre içerisine akümülyasyonla renk gideriminin de gerçekleştiği belirtilmektedir [103].

*Makroskobik - mikroskobik gözlemler ve spektrofotometrik analizler:* Uygun pH, sıcaklık, ve çalkalama hızında inkübasyon başlangıcından 24 saat sonra pelet

oluşumu belirginleşmeye başlamıştır. Peletlerin oluştuğu andan itibaren renkli görüldüğü, inkübasyonun 120 saate kadar çıkarılması ile peletlerin rengini kaybetmediği gözlenmiştir. Ayrıca, spektrofotometrik analizler sonucunda kültür sıvısında boyar maddenin maksimum absorpsiyon gösterdiği dalga boyunda absorpsiyon artışı saptanmamıştır. Renk gideriminden sonra fungal peletlerin makroskobik ve mikroskobik incelenmesi sonucunda, fungal hücrelerin renkli görünmesi adsorpsiyon ve/veya absorpsiyonu gösterdiği belirtilmektedir [96]. Biyokütlenin renk giderimi sağlanırken renkli görünüş daha sonra renksizleşmesinin, renk gideriminde iki prosesin (biyolojik adsorpsiyon ve biyolojik parçalanma) gerçekleştiğini gösterdiği belirtilmektedir [72, 125]. Renk giderim çalışmaları sırasında sıvı ortamda farklı renk oluşumu gözlenmemiştir. Bazı beyaz çürükçül fungus izolatlarının renk giderim çalışmaları sırasında sıvı ortamlarda boyar madde yapısının bozulmasına bağlı olarak farklı renk oluşumlarına yol açtığı rapor edilmiştir [160]. Makroskobik, mikroskobik gözlemler ve spektrofotometrik analizler, renk giderimindeki temel mekanizmanın enzimatik parçalanma olmadığını göstermiştir.

*Renk gideriminin sağlandığı büyüme evresi:* Aktif hücrelerle yapılan renk giderim çalışmaları, renk gideriminin fungusun logaritmik büyüme evresinde meydana geldiğini göstermektedir. Ayrıca peletlerle sağlanan renk giderim veriminin spor aşılansarak sağlanan renk giderim veriminden daha düşük olması rengin pelet oluşumu sırasında giderildiğini göstermektedir. Aksu ve Dönmez [76], boya iyonlarının biyoakümülyasyonunun hücre büyümesi ile paralel olarak arttığını ve mikrobiyal büyüme sonunda boya biyoakümülyasyonunun maksimuma ulaşması hücre içi akümülyasyonu gösterdiğini belirtmişlerdir.

*Ortam bileşenleri:* LB ve CB gideriminde optimum glikoz miktarı 10 g/L ve optimum amonyum dihidrojen fosfat miktarı 1 g/L olduğu belirlenmiştir. Karbon ya da azot sınırlı koşullarda renk giderim veriminde azalma saptanmıştır. Lignin peroksidaz, mangan peroksidaz, lakkaz gibi renk giderimini sağlayan enzimler genellikle karbon ve/veya azot sınırlı ortamlarda sentezlendiği literatürde belirtilmektedir [86, 157, 158].

Makroskobik ve mikroskobik gözlemler, spektrofotometrik analizler, renk gideriminin sağlandığı büyüme evresi ve karbon ya da azot sınırlı ortamlarda renk giderim veriminin düşmesi, renk giderimindeki temel mekanizmanın enzimatik parçalanma olmadığını; adsorpsiyon ya da akümülyasyonun temel mekanizma olabileceğini göstermiştir.

*İnaktif hücrelerle sağlanan renk giderimi:* Hızlı adsorpsiyonu enzimatik parçalanmanın izlediği renk gideriminde, boyar madde derişimine bağı aktif hücre adsorpsiyon kapasitesi inaktif hücre adsorpsiyon kapasitesinden daha yüksek olduğu belirtilmektedir [99, 185]. Ancak bulgulara göre, aktif ve inaktif hücreler için yaklaşık  $Q^0$  değerlerinin saptanması aktif hücrelerle renk gideriminde adsorpsiyonun temel mekanizma olduğunu; LB ve CB'nin *A. oryzae* hücrelerinin aktif bölgelerine bağlanarak giderildiğini göstermiştir.

Buharla (121°C, 30 dk.) öldürülen *Penicillium oxalicum* peletlerinin, boya adsorpsiyon kapasitesinin canlı peletlerin adsorpsiyon kapasitesi ile karşılaştırıldığında % 25 azalmasının renk gideriminde temel mekanizmanın pasif adsorpsiyonu gösterdiği belirtilmiştir [94].

*Desorpsiyon Çalışması:* Desorpsiyon çalışmaları renk giderim mekanizmasının açıklanmasında önemli rol oynamıştır. Aktif *A. oryzae* ile LB ve CB gideriminde adsorpsiyonun temel mekanizma olduğundan emin olmak ve adsorpsiyon tipine karar vermek amacı ile desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Biyosorpsiyondan sonra hücre yüzeyindeki iyonların desorpsiyonu ile geri alınabileceği ancak biyoakümülyasyondan sonra geri alınamayacağı rapor edilmiştir [105]. Adsorplanan boyar maddenin tamamının desorpsiyon işlemi ile geri alınması, boyar maddenin fungus tarafından parçalanmadan sorplandığını [96] geri alınamamasının ise boyar madde gideriminin büyük oranda mikrobiyal metabolizmaya bağı olduğunu gösterdiği rapor edilmiştir [101]. Renk gideriminin fungusun üssel büyüme evresinde meydana geldiği; fungus renk giderimini sağlayabilmesi için kolay kullanabileceği bir karbon kaynağına ihtiyaç duyduğu ve 0,1 N NaOH ile % 85 boyar madde desorpsiyonu sağlandığı; bu bulgular ışığında,

boyar maddenin herhangi bir dönüşüm geçirmeden fungal peletlere adsorplandığı sonucuna varıldığı rapor edilmiştir [83]. Bu çalışmada, LB ve CB için maksimum desorpsiyon veriminin homojen edilmiş peletlerde gözlemlendiği; 0,025 N NaOH ile, sırasıyla % 88,9 ve % 83,09 olduğu belirlenmiştir. NaOH ile yüksek oranda desorpsiyon sağlanması, aktif *A. oryzae* ile renk gideriminde temel mekanizmanın fizisel adsorpsiyon olduğunu göstermektedir.

#### 4.6.2. LB ve CB Boyalarının İnaktif *A. oryzae* ile Giderim Mekanizmasında Adsorpsiyonun Etkinliğinin Araştırılması

LB ve CB'nin inaktif *A. oryzae*'ye adsorpsiyonunda 30 °C optimum sıcaklık olarak belirlenmiştir. Renk gideriminin düşük sıcaklıkta gerçekleştiğinin belirlenmesiyle, renk gideriminde temel mekanizmanın fiziksel adsorpsiyon olabileceği düşünülmüştür. Fiziksel adsorpsiyon reaksiyonları genellikle ekzotermik olduğundan adsorpsiyon veriminin düşük sıcaklıklarda daha yüksek olduğu belirtilmektedir [66, 164].

İnaktif hücrelerle renk giderimi sağlandıktan sonra LB ve CB boyar maddeleri için 0,025 N NaOH çözeltisi kullanılarak, sırasıyla % 97,31 ve % 96,48 desorpsiyon verimi sağlanmıştır. Literatürde, organik çözücüler, asit ya da baz kullanılarak desorpsiyon sağlanmasının inaktif biyokütleyle fiziksel adsorpsiyonu [105]; desorpsiyon sağlanamamasının ise kimyasal adsorpsiyonu gösterdiği belirtilmektedir [184]. Çalışma bulgularının literatür bilgileri ile karşılaştırılması sonucunda inaktif *A. oryzae* ile renk gideriminde de temel mekanizmanın fiziksel adsorpsiyon olduğu sonucuna varılmıştır.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmanın ilk aşamasında aktif *Aspergillus oryzae* ile Levafix Brilliant Blue EB (LB) ve Cibacron Blue CR (CB) boyalarının giderimine ve mikroorganizmanın gelişimine başlangıç pH'sı (3,0–6,0), sıcaklık (25 °C-40 °C), başlangıç boyar madde derişimi (25 mg/L-200 mg/L), başlangıç spor miktarı ( $1 \times 10^7$ - $25 \times 10^7$ ), çalkalama hızı (100 rpm-175 rpm), glikoz derişimi (1 g/L-15 g/L) ve amonyum dihidrojen fosfat derişimi (0,1 mg/L-2,0 mg/L) etkisi incelenmiş; optimum başlangıç pH'sı 5, sıcaklık 30 °C, başlangıç boyar madde derişimi yaklaşık 100 mg/L, başlangıç spor miktarı  $5 \times 10^7$  adet, çalkalama hızı 150 rpm, glikoz derişimi 10 g/L, amonyum dihidrojen fosfat derişimi 1 g/L olarak belirlenmiştir. LB ve CB giderimine pelet yaşının (24 saat–96 saat) etkisi incelenmiş; LB gideriminde 84 saat CB gideriminde 72 saat optimum pelet yaşı olarak belirlenmiştir. LB ve CB pelet oluşumu sırasında daha yüksek verimle giderildiğinden spor aşılmasının pelet kullanımına göre daha uygun bir yöntem olduğu belirlenmiştir. Optimizasyon çalışmalarındaki makroskobik ve mikroskobik gözlemler, spektrofotometrik analizler, renk gideriminin sağlandığı büyüme evresi ve karbon ya da azot sınırlı ortamlarda renk giderim veriminin düşmesi, renk giderimindeki temel mekanizmanın enzimatik parçalanma olmadığını; adsorpsiyon ya da akümülyasyonun temel mekanizma olabileceğini göstermiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında, inaktif *A. oryzae* ile LB ve CB boyalarının giderimine başlangıç pH'sı (2,0–5,0), sıcaklık (20 °C-45 °C), başlangıç boyar madde derişimi (25 mg/L-200 mg/L), biyosorbent derişimi (0,5 mg/L-3,0 mg/L) ve çalkalama hızının (100 rpm-175 rpm) etkisi incelenmiş; optimum başlangıç pH'sı 2, sıcaklık 30 °C, başlangıç boyar madde derişimi yaklaşık 80 mg/L ve biyosorbent derişimi 1 g/L olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda, birim mikroorganizma kütleğinde giderilen boya derişiminin 1 saat içerisinde dengeye ulaştığı saptanmıştır.

Üçüncü aşamada, 96 saatlik aktif *A. oryzae* peletleri ile kademeli LB ve CB giderimi çalışılmıştır. 194,12 mg/L LB 24 saat ara ile 4 kademedeki ortama eklendiği zaman ise renk giderim veriminin % 79,97 olduğu saptanmıştır. Spor aşılansarak



sürdürülen çalışmada, 198,50 mg/L LB ortama tek kademede ilave edildiği zaman % 51,21 renk giderim verimi sağlanmıştır. 196,18 mg/L CB 24 saat ara ile ortama 4 kademede eklendiği zaman renk giderim veriminin % 94,10 olduğu; spor aşılınarak sürdürülen çalışmada, 190,69 mg/L CB ortama tek kademede ilave edildiği zaman % 53,00 renk giderim verimi sağlanmıştır. Aktif *A. oryzae* peletlerine kademeli boya ilavesi ile yüksek derişimde boyar maddenin yol açtığı mikrobiyal toksisite probleminin üstesinden gelinmiştir.

Çalışmanın dördüncü aşamasında inaktif *A. oryzae* ile LB ve CB gideriminde, adsorpsiyon dengesine sıcaklığın etkisini belirlemek amacı ile farklı sıcaklıklarda (20 °C-40 °C) elde edilen denge verilerine Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri uygulanmış; her iki modelin doğrusal grafikleri oluşturularak korelasyon katsayıları ve izoterm sabitleri belirlenmiştir. Langmuir izoterm modeli için saptanan regresyon katsayılarının 1'e yakın olduğu ve çalışılan sıcaklıklarda  $Q^0 > q_d$  olduğu belirlenmiş; LB ve CB'nin inaktif *A. oryzae*'ye biyosorpsiyonunun Langmuir izotermine uyum sağladığı, adsorpsiyonun tek tabakada meydana geldiği sonucuna varılmıştır. İnaktif *A. oryzae*'nin maksimum tek tabaka LB ve CB adsorpsiyon kapasitelerinin optimum koşullarda sırası ile 65,79 mg/g ve 63,69 mg/g olduğu belirlenmiştir. Yapılan çalışmada, sıcaklık artışı ile biyosorbentin tek tabaka adsorpsiyon kapasitesinde artış saptanmadığından inaktif *A. oryzae* ile renk gideriminde etkin mekanizmanın fiziksel adsorpsiyon olabileceği düşünülmüştür. Aktif *A. oryzae* ile LB ve CB gideriminde optimum koşullarda elde edilen denge verilerine Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri uygulanmış; LB ve CB'nin aktif *A. oryzae*'ye biyosorpsiyonunun Langmuir izotermine uyum sağladığı, adsorpsiyonun tek tabakada meydana geldiği sonucuna varılmıştır. Optimum koşullarda, aktif *A. oryzae*'nin LB ve CB için tek tabaka adsorpsiyon kapasitesinin sırası ile 61,35 mg/g ve 58,82 mg/g olduğu saptanmıştır. Aktif ve inaktif hücreler için yaklaşık  $Q^0$  değerlerinin saptanması aktif hücrelerle renk gideriminde adsorpsiyonun temel mekanizma olduğunu; LB ve CB'nin *A. oryzae* hücrelerinin aktif bölgelerine bağlanarak giderildiğini göstermiştir. Aktif ve inaktif *A. oryzae* ile farklı sıcaklıklarda LB ve CB giderimi için saptanan serbest enerji değişimleri, genellikle fiziksel adsorpsiyon için belirtilen sınırlarda olduğu saptanmıştır.

Son aşamada, aktif ve inaktif *A. oryzae* ile LB ve CB gideriminde adsorpsiyon tipine karar vermek amacı ile desorpsiyon çalışmaları yapılmıştır. Homojenize edilmiş ve edilmemiş aktif hücrelerden LB ve CB desorpsiyonu araştırılmış; maksimum desorpsiyon verimin homojen peletlerden 0,025 N NaOH ile LB için % 88,9, CB için % 83,09 olduğu saptanmıştır. NaOH ile yüksek oranda desorpsiyon sağlanması, aktif *A. oryzae* ile renk gideriminde temel mekanizmanın “fiziksel adsorpsiyon” olduğunu göstermektedir. Homojenize edilmiş peletlerden daha yüksek oranda desorpsiyon sağlanması, boyar maddenin hiflere adsorplandığını ve büyüyen peletlerin içerisinde bulunduğunu göstermektedir. İnaktif *A. oryzae*’den maksimum LB ve CB desorpsiyon yüzdesi 0,025 N NaOH çözeltisi ile belirlenmiş ve sırasıyla % 97,31 ve % 96,48 olduğu saptanmıştır. İnaktif hücrelere LB ve CB adsorpsiyonundan sonra yüksek verimle desorpsiyon sağlanması boyar maddelerinin *A. oryzae* inaktif hücreleri ile renk giderimindeki temel mekanizmanın “fiziksel adsorpsiyon” olduğunu göstermiştir.

Antrakinin yapıları anyonik LB ve CB’nin aktif ve inaktif *A. oryzae* ile etkin, toksik ürün oluşumuna yol açmadan güvenli ve hızlı giderimi sağlanmıştır. Aktif ve inaktif *A. oryzae* ile farklı yapılardaki boyar maddelerin giderimi de araştırılarak tekstil atıksularının arıtımında yaygın olarak kullanımının sağlanabileceği düşünülmektedir. Adsorbentin rejenere edilebilir olması, ekotoksik etkiye sahip boyar maddenin konsantre edilerek kontrol altına alınmasını sağlayacağı; mikroorganizmalarla renk gideriminde genellikle karşılaşılan bir sorun olan çamur oluşumunu azaltacağı düşünülmektedir. Boyar madde gideriminde yaygın olarak kullanılan birçok fungus türünden daha çabuk ürediğinden, üreme sırasında vitamin, amino asit gibi özel besin ihtiyaçları olmadığından, renk giderimi ılımlı sıcaklıklarda gerçekleştiğinden ve rejenere edilebilir olduğundan *A. oryzae*’nin tekstil fabrikası atık sularının arıtımında endüstriyel ölçekte ekonomik bir adsorbent olarak kullanılabilmesi düşünülmektedir.

Endüstriyel ölçekte biyosorpsiyon uygulanmasında canlı ya da ölü biyokütle kullanımına karar verilmesi gerekmektedir. Ölü biyokütle kullanımı ile atık toksisitesi ve besin ihtiyacı problemlerini ortadan kaldırmakta; ortam koşulları

büyüme ve mikrobiyal populasyon oluşumu için elverişli olmadığı zamanlarda önem kazanmaktadır. Canlı biyokütle kullanımı ise biyosorpsiyondan önce biyokütle üretimi sağlayıp, üretim ortamından ayırma, kurutma, işleme (öğütme ya da parçalama) ve saklama gibi ön işlemlerin uygulanmasının zor olduğu durumlarda önem kazanmaktadır.

Aktif ve inaktif *A. oryzae* ile sürekli sistemlerde boyar madde gideriminin denenmesi gerekmektedir. Tekstil fabrikalarında kullanılan boyar maddelerin giderimi için ilk kez bu çalışmada kullanılan *A. oryzae*'nin aktif ve inaktif formlarının sürekli sistemlerdeki renk giderim yeteneği araştırılarak teknolojik olarak kullanılabilirliğinin ortaya konulması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

- [1] Fu, Y. and Viraraghavan, T. “Fungal Decolorization of Dye Wastewaters: a Review”, *Bioresource Technol.*, **79**: 251-262, (2001).
- [2] Wong, P.K. and Yuen P.Y. “Decolorization and Biodegradation of Methyl Red by *Klebsiella pneumoniae* RS-13”, *Water Res.*, **30**: 1736-1744, (1996).
- [3] Pagga, U. and Brown, D. “The Degradation of Dyestuffs : Part II Behaviour of Dyestuffs in Aerobic Bidegradation Tests”, *Chemosphere*, **15**: 479-491, (1986).
- [4] Rodriguez, E., Pickard, M.A. and Duhalt, R.V. “Industrial Dye Decolorization by Laccases from Ligninolytic Fungi”, *Curr. Microbiol.*, **38**: 27-32, (1999).
- [5] Başer, İ. ve İnanıcı, Y. “Boyarmadde Kimyası”, Marmara Üniv.Teknik Eğitim Fak.Yayın No: 2, İstanbul, s.47-52, 103-115, (1990).
- [6] Mishra, G. and Tripathy, M. “A Critical Review of the Treatment for Decolorization of Textile Effluent”, *Colourage*, **40**: 35-38, (1993).
- [7] Gemeay, A.H., El-Ghrabawy, G.R. and Zaki, A.B. “Kinetics of the Oxidative Decolorization of Reactive Blue-19 by Acidic Bromate in Homogeneous and Heterogeneous Media”, *Dyes Pigments*, article in pres, (2006).
- [8] Banat, I.M., Nigam, P., Singh, D. and Marchant, R. “Microbial Decolorization of Textile-Dye-Containing Effluents: A Rewiew”, *Bioresource Technol.*, **58**: 217-227, (1996).
- [9] Papic, S., Koprivanac, N. and Metes, A. “Optimizing Polymer Induced Flocculation Process to Remove the Active Dyes from Wastewater”, *Environ. Technol.*, **21**: 97–105, (2000).
- [10] Birhanli, A. and Ozmen, M. “Evaluation of the Toxicity and Teratogenity of Six Commercial Textile Dyes Using the Frog Embryo Teratogenesis Assay-Xenopus”, *Drug Chem. Toxicol.*, **1**: 51–65, (2005).
- [11] Apohan, E. and Yesilada, O. “Role of White Rot Fungus, *Funalia trogii* in Detoxification of Textile Dyes”, *J. Basic Microb.*, **45**: 99–105, (2005).
- [12] Dogan, E., Yesilada, E., Ozata, L. and Yologlu, S. “Genotoxicity Testing of Four Textile Dyes in Two Crosses of *Drosophila* Using Wing Somatic Mutation and Recombination Test”, *Drug Chem. Toxicol.*, article in pres, (2006).

- [13] Robinson, T., Chandran, B. and Nigam, P. “Studies on the Production of Enzymes by White-Rot Fungi for the Decolourisation of Textile Dyes”, *Enzyme Microb. Tech.*, **29**: 575–579, (2001).
- [14] Crini, G. “Non-Conventional Low-Cost Adsorbents for Dye Removal: a Review”, *Bioresource Technol.*, **97**: 1061–1085, (2006).
- [15] Maurya, N.S., Mittal, A.K., Cornel, P. and Rother, E. “Biosorption of Dyes Using Dead Macro Fungi: Effect of Dye Structure, Ionic Strength and pH”, *Bioresource Technol.*, **97**: 512–521, (2006).
- [16] Zollinger, H. “Color Chemistry”, VCH, Weinheim, Germany, 496 s., (1991).
- [17] Shreve, R.N. and Brink, J.A. “Chemical Process Industries”, McGraw-Hill Book Company, 867s., (1977).
- [18] Al-Degs, Y., Khraisheh, M.A.M., Allen, S.J. and Ahmad, M.N. “Effect of Carbon Surface Chemistry on the Removal of Reactive Dyes from Textile Effluent”, *Water Res.*, **34(3)**: 927-935, (2000).
- [19] Özcan, Y. “Tekstil Elyaf ve Boyama Tekniği”, İstanbul Üniv. Yayın No:2557, s.311–335, (1978).
- [20] Spadaro, J.T. and Renganathan, V. “Peroxidase-Catalyzed Oxidation of Azo Dyes: Mechanism of Disperse Yellow 3 Degradation”, *Arch. Biochem. Biophys.*, **312(1)**: 301-307, (1994).
- [21] Young, L. and Yu, J. “Ligninase-Catalysed Decolorization of Synthetic Dyes”, *Water Res.*, **31(5)**: 1187-1193, (1997).
- [22] Wong, Y. and Yu, J. “Laccase-Catalyzed Decolorization of Synthetic Dyes”, *Water Res.*, **33(16)**: 3512-3520, (1999).
- [23] Slokar, Y.M. and Le Marechal, A.M. “Methods of Decoloration of Textile Wastewaters”, *Dyes Pigments*, **37**: 335-356, (1997).
- [24] Pak, D. and Chang, W. “Decolorizing dye Wastewater with Low Temperature Catalytic Oxidation”, *Water Sci. Technol.*, **40**: 115-121, (1999).
- [25] Raghavacharya, C., “Colour removal from industrial effluents - a comparative review of available technologies”, *Chem. Eng. World* 32: 53-54, (1997).
- [26] Balcioglu, I.A., Arslan, I. and Sacan, M.T. “Homogenous and Heterogenous Advanced Oxidation of Two Commercial Reactive Dyes”, *Environ. Technol.*, **22**: 813-822, (2001).

- [27] Kaptan, D., Pagano, S.M. ve Tünay, O. “Tekstil Endüstrisi Atık Sularında Fenton Prosesi ile Renk Giderimi”. 8. Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Sempozyumu, 18-20 Eylül, 205-212, (2002).
- [28] Verma, P., Baldrian, P. and Nerud, F. “Decolorization of Structurally Different Synthetic Dyes using Cobalt (II)/Ascorbic Acid/Hydrogen Peroxide System”, *Chemosphere*, **50**: 975-979, (2003).
- [29] Lin, S.H. and Lin, C.M. “Treatment of Textile Waste Effluents by Ozonation and Chemical Coagulation”, *Water Res.* **27**:1743-1748, (1993).
- [30] Xu, Y. and Lebrun, R.E. “Treatment of Textile Dye Plant Effluent by Nanofiltration Membrane”, *Separ. Sci. Technol.* **34**: 2501-2519, (1999).
- [31] Ince, N.H. and Gonenc, D.T. “Treatability of a Textile Azo Dye by UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>”, *Environ. Technol.*, **18**: 179-185, (1997).
- [32] Gahr, F., Hermanutz, F. and Opperman, W. “Ozonation an Important Technique to Comply with New German Law for Textile Wastewater Treatment”, *Water Sci. Technol.*, **30**: 255-263, (1994).
- [33] Peralto-Zamora, P., Kunz, A., Gomez de Morales, S., Pelegrini, R., Capos M.P., Reyes, J. and Duran, N. “Degradation of Reactive Dyes I. A Comparative Study of Ozonation, Enzymatic and Photochemical Processes”, *Chemosphere*, **38**: 835-852, (1999).
- [34] Groff, K.A. and Byung, R.K., “Textile wastes”, *J.WPCF*, **6**: 872-876, (1989).
- [35] Lopez, A., Ricco, G., Ciannarella, R., Rozzi, A., Di Pinto, A.C. and Possino, R. “Textile Wastewater Reuse: Ozonation of Membrane Concentrated Secondary Effluent”, *Water Sci. Technol.*, **40**: 99-105, (1999).
- [36] Ölmez, T., Kabdaşlı, I. ve Tünay, O., “Tekstil Endüstrisi Reaktif Boya Banyolarında Ozon ile Renk Giderimine Etki Eden Faktörlerin Belirlenmesi”. 8. Endüstriyel Kirlenme Kontrolü Sempozyumu, 18-20 Eylül, , İstanbul, 191-197, (2002).
- [37] Yang, Y., Wyatt, D.T. and Bahorsky, M. “Decolorization of Dyes Using UV/H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Photochemical Oxidation”, *Text. Chem. Color.*, **30**: 27-35, (1998).
- [38] Ogutveren, U.B. and Kaparal, S. “Colour Removal from Textile Effluents by Electrochemical Destruction”, *J. Environ. Sci. Health*, **29**: 1-16, (1994).

- [39] Pelegrini, R., Peralto-Zamora, P., de Andrade, A.R., Reyers, J. and Duran, N. "Electrochemically Assisted Photocatalytic Degradation of Reactive Dyes", *App. Catal. B-Environ.* **22**: 83-90, (1999).
- [40] Tünay, O., Kabdashı, I., Eremektar, G. and Orhon, D. "Color Removal From Textile Wastewaters", *Water Sci. Technol.*, **34(11)**: 9-16, (1996).
- [41] Misra, G. and Tripathy, M. "A Critical Review of the Treatments for Decolourization of Textile Effluent", *Colourage*, **40**: 35-38, (1993).
- [42] Lopez, C., Mielgo, I., Moreira, M.T., Feijoo, G. and Lema J.M. "Enzymatic Membrane Reactors for Biodegradation of Recalcitrant Compounds. Application to Dye Decolourisation", *J. Biotechnol.*, **99**: 249-257, (2002).
- [43] Ckhakraborty, S., Purkait, M.K., DasGupta, S., De, S. and Basu, J.K. "Nanofiltration of Textile Plant Effluent for Color Removal and Reduction in COD", *Separat. and Purific. Tech.*, **AIP00**: 1-11, (2002).
- [44] Hosono, M., Arai, M., Yamamoto, I., Shimizu, K. and Sugiyama, M. "Decoloration and Degradation of Azo Dye in Aqueous Solution of Super Saturated with Oxygen by Irradiation of High-Energy Electron Beams", *Appl. Radiat. Isotopes*, **44**: 1199-1203, (1993).
- [45] Dabrowski, A. "Adsorption, from Theory to Practice", *Adv. Colloid Int. Sci.*, **93**: 135–224, (2001).
- [46] Nigam, P., Armour, G., Banat, I.M., Singh, D. and Marchant, R. "Physical Removal of Textile Dyes from Effluents and Solid-State Fermentation of Dye-Adsorbed Agricultural Residues", *Bioresource Technol.*, **72**: 219-226, (2000).
- [47] Poots, V.J.P. and McKay, J.J. "The Removal of Acid Dye from Effluent Using Natural Adsorbents II Wood", *Water Res.* **10**: 1067-1070, (1976).
- [48] Gupta, G. S., Prasad, G. and Singh, V. N. "Removal of Chrome Dye from Aqueous Solutions by Mixed Adsorbents: Fly Ash and Coal", *Water Res.*, **24(1)**: 45-50, (1990).
- [49] Babel, S. and Kurniawan, T.A. "Low-Cost Adsorbents for Heavy Metals Uptake from Contaminated Water: a Review", *J. Hazard. Mater.*, **97**: 219–243, (2003).
- [50] Ramakrishna, K.R. and Viraraghavan, T. "Dye Removal Using Low Cost Adsorbents", *Water Sci. Technol.*, **36**: 189–196, (1997).

- [51] Akkaya, G. “Supranol Red 3BW (Acid Red 2749 Boyasının *Dicranella varia*’ya Biyosorpsiyonuna Ortam Koşullarının Etkisinin Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üniversitesi-Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 93 s, (2005).
- [52] Ozer, A. “Atık Sulardaki Ağır Metal İyonlarının *Rhizopus arrhizus* ve *Schizomeris leibleinii* Kültz’e Adsorpsiyonunun Farklı Reaktör Tiplerinde İncelenmesi”, Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi-Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ, 269 s, (1994).
- [53] Aksu, Z. “Application of Biosorption for the Removal of Organic Pollutants: a Review”, *Process Biochem.*, **40**: 997-1026, (2005).
- [54] Shawabkeh, R.A. and Tutunji, M.F. “Experimental Study and Modeling of Basic Dye Sorption by Diatomaceous”, *Appl. Clay Sci.*, **24**: 111-120, (2003).
- [55] Ho, Y.S., Chiu, W.T. and Wang, C.C. “Regression Analysis for the Sorption Isotherms of Basic Dyes on Surcane Dust”, *Bioresource Technol.*, **96**: 1285-1291, (2005).
- [56] Bhattacharyya, K.G. and Sarma, A. “Adsorption Characteristics of the Dye, Brilliant Green, on Neam Leaf Powder”, *Dyes Pigments*, **57**: 211-222, (2003).
- [57] Inthorn, D., Singtho, S., Thiravetyan, P. and Khan, E. “Decolorization of Basic, Direct and Reactive Dyes by Pre-treated Narrow Leaved Catteil (*Thpha angustifolia* Linn)”, *Bioresource Technol.*, **94**: 299-306, (2004).
- [58] Robinson, T., Chandran, B. and Nigam, P. “Effect of Parameters of Three Waste Residues, Wheat Straw, Corncobs and Barley Husks on Dye Adsorption”, *Bioresource Technol.*, **85**: 119-124 (2002).
- [59] Robinson, T., Chandran, B. and Nigam, P. “Removal of Dyes from a Synthetic Textile Dye Effluent by Biosorption on Apple Pomace and Wheat Straw”, *Water Res.*, **36**: 2824–2830, (2002).
- [60] Arami, M., Limaee, N.Y., Mahmoodi, N.M. and Tabrizi, N.S., “Removal of Dyes from Colored Textile Wasrewater by Orange Peel Adsorbent: Equilibrium and Kinetic Studies”, *J. Colloid Interf. Sci.*, **288**: 371-376, (2005).
- [61] Yoo, E.S., Libra, J. and Wiesmann, U. “Reduction of Azo Dyes by *Desulfovibrio desulfuricans*”, *Water Sci. Technol.*, **41**: 39-46, (2000).



- [62] Yu, J., Wang, X. and Yue, P.L. "Optimal Decolorization and Kinetic Modeling of Synthetic Dyes by *Pseudomonas* Strains", *Water Res.*, **35**: 3579-3586, (2001).
- [63] Jingi, L. and Houtian, L. "Degradation of Azo Dyes by Algae", *Environ. Pollut.*, **75**: 273-278, (1992).
- [64] Ozer, A., Akkaya, G. and Turabik, M. "The Biosorption of Acid Red 337 and Acid Blue 324 on *Enteromorpha prolifera* : The Application of Nonlinear Regression Analysis to Dye Biosorption", *Chem. Eng. J.*, **112**: 181-190, (2005).
- [65] Ozer, A., Akkaya, G. and Turabik, M. "The Removal of Acid Red 274 from Wastewater: Combined Biosorption and Biocoagulation with *Spirogyra rhizopus*", *Dyes Pigments*, **71**: 83-89, (2006).
- [66] Ozer, A., Akkaya, G. and Turabik, M. "Biosorption of Acid Blue 290 (AB 290) and Acid Blue 324 (AB 324) Dyes on *Spirogyra rhizopus*", *J. Hazard Mater.*, article in pres, (2006).
- [67] Shin, K.S., Oh, I.K. and Kim, C.J. "Production and Purification of Remazol Brilliant Blue R Decolorizing Peroxidase from the Culture Filtrate of *Pleurotus ostreatus*", *Appl. Environ. Microb.*, **63**: 1744-1748, (1997).
- [68] Wunch, K.G., Feibelman, T. and Bennett, J.W. "Screening for Fungi Capable of Removing Benzo[a]pyrene in Culture", *Appl. Microbiol. Biot.*, **47**: 620-624, (1997).
- [69] Basibuyuk, M. and Forster, C.F. "An Examination of the Adsorption Characteristics of a Basic Dye (Maxilon Red BL-N) on to Live Activated Sludge System", *Process Biochem.*, **38**: 1311-1316, (2003).
- [70] Chu, H.C. and Chen, K.M. "Reuse of Activated Sludge Biomass: I: Removal of Basic Dyes from Wastewater by Biomass", *Process Biochem.*, **37**: 595-600, (2002).
- [71] Otero, M., Rozada F., Calvo, L.F., Garcia A.I. and Moran A. "Kinetic and Equilibrium Modelling of the Methylene Blue Removal from Solution by Adsorbent Materials Produced from Sewage Sludges", *Biochem. Eng. J.*, **3678**: 1-10, (2003).

- [72] Dong, X.J., Du, Z.I. and Zhu, C. “Decolorization of Direct Black 22 by *Aspergillus ficuum*”, J. Environ. Sci., **13**: 472-475, (2001).
- [73] Knapp, J. S. and Newby, P. S., “The Microbiological Decolorization of an Industrial Effluent Containing a Diazo Linked Chromophore”, Water Res., **29**: 1807–1809, (1995).
- [74] Sani, R.K. and Banerjee, U.C. “Decolorization of Triphenylmethane Dyes and Textile and Dye-stuff Effluent by *Kurthia* sp.”, Enzyme Microb. Technol., **24**: 433–437, (1999).
- [75] Chen, K., Wu, J., Liou, D. and Hwang, S.J. “Decolorization of the Textile Dyes by Newly Isolated Bacterial Strains”, J. Biotechnol., **101**: 57–68, (2003).
- [76] Aksu, Z. and Donmez, G., “Combined Effects of Molasses Sucrose and Reactive Dye on the Growth and Dye Accumulation Properties of *Candida tropicalis*”, Process Biochem., **40**: 2443-2454 (2005).
- [77] Aksu, Z. “Application of Biosorption For the Removal of Organic Pollutants: a Review”, Process Biochem., **40**:997-1026, (2005).
- [78] Yang, Q., Yang, M., Pritsch, K., Yediler, A., Hagn, A., Schloter, M. and Kettrup, A. “Decolorization of Synthetic Dyes and Production of Manganese-Dependent Peroxidase by new Fungal Isolates”, Biotechnol. Lett., **25**: 709–713, (2003).
- [79] El-Rahim, W.M. and Moawad, H. “Enhancing Bioremoval of Textile Dyes by Eight Fungal Strains from Media Supplemented with Gelatine Wastes and Sucrose”, J. Basic Microb., **43**: 367-375, (2003).
- [80] Volesky, B. “Sorption for the Next Century”, International Biohydrometallurji Symposium, El Escorial, Spain, 20-23, (1999),
- [81] Fu, Y. and Viraraghavan, T. “Removal of Congo Red from an Aqueous Solution by Fungus *Aspergillus niger*”, Adv. Environ. Res., **7**: 239-247, (2002).
- [82] Mittal, A.K., and Gupta, S.K. “Biosorption of Cationic Dyes by Dead Macro Fungus *Fomitopsis carnea*: Batch Studies”, Water Sci. Technol, **34**: 157-181, (1996).
- [83] Sumathi, S. and Manju, B.S. “Uptake of Reactive Textile Dyes by *Aspergillus foetidus*”, Enzyme Microb. Tech., **27**: 347-355, (2000).

- [84] Fu, Y. and Viraraghavan, T. “Dye Biosorption Sites in *Aspergillus niger*”, *Bioresource Technol.*, **82**: 139-145, (2002).
- [85] Zhang, F., Knapp, J.S. and Kapley, K.N. “Decolourisation of Cotton Bleaching Effluent with Wood Rotting Fungus”, *Water Res.*, **33**: 919-928, (1999).
- [86] Zhen, Z. and Yu, J. “Stresses on Immobilized *Phanerochaete chrysosporium* Hypha in Submerged Cultures for Ligninase Production”, *Can. J. Chem. Eng.*, **76**: 784–789, (1998).
- [87] Sumathi, S. and Phatak, V. “Fungal Treatment of Bagasse Based Pulp and Paper Mill Wastes”, *Environ. Technol.*, **19**: 93-98, (1999).
- [88] Soares, C.H.L. and Duran, N. “Degradation of Low and High Molecular Mass Fractions Fractions of Kraft el Effluent by *Trametes villosa*”, *Environ. Technol.*, **19**: 883-891, (1998).
- [89] Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R. and Nigam, P. “Remediation of Dyes in Textile Effluent: a Critical Review on Current Treatment Technologies with a Proposed Alternative”, *Bioresource Technol.*, **77**: 247-255, (2001).
- [90] Asma, D., Kahraman, S., Cing, S. and Yesilada, O., “Adsorptive Removal of Textile Dyes from Aqueous Solutions by Dead Fungal Biomass”, *J. Basic Microbiol.*, **46(1)**: 3–9, (2006).
- [91] Bustard, M, McMullan, G. and McHale, A.P. “Biosorption of Textile Dyes by Biomass Derived from *Kluyveromyces marxianus* IMB3”, *Bioproc. Eng.*, **19**: 427-430, (1998).
- [92] Fu, Y and Viraraghavan, T. “Column Studies for Biosorption of Dyes from Aqueous Solutions on Immobilised *Aspergillus niger* Fungal Biomass”, *Water S.A.*, **29(4)**: 465-472, (2003).
- [93] Assadi, M.M., and Jahangiri, M.R. “Textile Wastewater Treatment by *Aspergillus niger*”, *Desalination*, **141**: 1-6, (2001).
- [94] Zhang, S.J., Yang, M., Yang, Q.X., Zhang, Y., Xin, B.P. and Pan, F. “Biosorption of Reactive Dyes by the Mycelium Pellets of a New Isolate of *Penicillium oxalicum*”, *Biotechnol. Lett.*, **25**: 1479–1482, (2003).
- [95] Rao, J.R. and Viraraghavan, T. “Biosorption of Phenol from an Aqueous Solution by *Aspergillus niger* Biomass”, *Bioresource Technol.*, **85**: 165-171, (2002).

- [96] Sugimori, D., Banzawa, R., Kurozumi, M. and Okura, I. "Removal of Disperse Dyes by the Fungus *Cunninghamella polymorpha*", J. Biosci. Bioeng., **87(2)**: 252-254, (1999).
- [97] Deng, S., Yu, G. and Ting, Y.P. "Production of a Bioflocculant by *Aspergillus parasiticus* and its Application in Dye Removal Colloids and Surfaces", B: Biointerfaces, **44**: 179–186, (2005).
- [98] Meehan, C., Banat, I.M., McMullan, G., Nigam, P., Smyth, F. and Marchant, R. "Decolorization of Remazol Black B Using a Thermotolerant Yeast *Kluyveromyces marxianus* IMB3", Environ. Int., **26**: 75-79, (2000).
- [99] Wang, Y. and Yu, J. "Adsorption and Degradation of Synthetic Dyes on the Mycelium of *Trametes versicolor*", Water Sci. Technol., **38**: 233-238, (1998).
- [100] Yesilada, O., Cing, S. and Asma, D. "Decolourisation of the Textile Dye Astrazon Red FBL by *Funalia trogii* Pellets", Bioresource Technol., **81**: 155-157, (2002).
- [101] Yesilada, O., Asma, D., and Cing, S. "Decolorization of Textile Dyes by Fungal Pellets", Process Biochem., **38**: 933- 938, (2003).
- [102] Renganathan, S., Thilagaraj, W.R., Miranda, L.R., Gautam, P. and Velan, M. "Accumulation of Acid Orange 7, Acid Red 18 and Reactive Black 5 by Growing *Schizophyllum commune*", Bioresource Technol. article in pres, (2005).
- [103] Aksu, Z. "Reactive Dye Bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*", Process Biochem., **100**: 1-8, (2003).
- [104] Dönmez, G., "Bioaccumulation of the Reactive Textile Dyes by *Candida tropicalis* Growing in Molasses Medium", Enzyme Microb. Tech., **30**: 363–366, (2002).
- [105] Kadukova, J. and Vircikova, E. "Comparison of Differences Between Copper Bioaccumulation and Biosorption", Environ. Int., **31**: 227-232, (2005).
- [106] Nyanhongo, G.S., Gomes, J., Gubitz, G.M., Zvauya, R., Read, J. and Steiner, W. "Decolorization of Textile Dyes by Laccase form a Newly Isolated Starin of *Trametes modesta*", Water Res., **36**: 1449-1456, (2002).

- [107] Chivukula, M. and Renganathan, V. “Phenolic Azo Dye Oxidation by Laccase from *Pyricularia oryzae*”, Appl. Environ. Microb., **61**: 4374-4377, (1995).
- [108] Swamy, J. and Ramsay, J.A. “The Evaluation of White Rot Fungi in the Decoloration of Textile Dyes”, Enzyme Microb. Tech., **24**: 130–137, (1999).
- [109] Itoh, K., Kitadae, Y. and Yatome, C. “Oxidative Biodegradation of an Anthraquinone Dye, Pigment Violet 12 by *Coriolus versicolor*”, B. Environ. Contam. Tox., **60**: 786-790, (1998).
- [110] Unyayar, A., Mazmanci, M.A., Atacag, H., Erkurt, E.A. and Coral, G. “A Drimaren Blue X3LR dye Decolorizing Enzyme from *Funalia trogii*: One Step Isolation and Identification”, Enzyme Microb. Tech., **36**: 10–16, (2005).
- [111] Schliephake, K., Mainwaring, D.E., Lonergan, G.T., Jones, K.I. and Baker, W.L. “Transformation and Degradation of the Disazo Dye Chicago Sky Blue by a Purified Laccase from *Pycnoporus cinnabarinus*”, Enzyme Microb. Biotech., **27**: 100-107, (2000).
- [112] Kahraman, S.S. and Gurdal, I.H. “Effect of Synthetic and Natural Culture Media on Laccase Production by White Rot Fungi”, Bioresource Technol., **82**: 215-217, (2001).
- [113] Mazmancı, M.A., “Beyaz Çürükçül Fungus *Funalia trogii* Kullanılarak Diazo Boyar Madde Reaktif Black 5’in Renk Giderimi” ME. Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Mersin, 127 s.(2003).
- [114] Eichlerova, I., Homolka, L. and Nerud, F. “Synthetic Dye Decolorization Capacity of White Rot Fungus *Dichomitus squalens*”, Bioresource Technol., article in pres, (2005).
- [115] Mazmanci, M.A., Unyayar, A. and Ekiz, H.I. “Decolorization of Methylene Blue by White Rot Fungus *Coriolus versicolor*”, Fresen. Environ. Bull., **11**: 1-5, (2002).
- [116] Ollika, P., Alhonmaki, V.M., Leppanen, T., Glumoff, T., Rajjola, T. and Suominen, I. “Decolorization of Azo, Triphenylmethane, Heterocyclic and Polymeric Dyes by Lignin Peroxidase Isozymes from *Phanerochaete chrysosporium*”, Appl. Environ. Microbiol., **59**: 4010-4016, (1993).

- [117] Cha, C.J., Doerge, D.R. and Cerniglia, C.E. “Biotransformation of Malachite Green by the Fungus *Cunninghamella elegans*”, *Appl. Environ. Microbiol.*, **67(9)**: 4358-4360, (2001).
- [118] Zhang, F. and Yu, J. “Decolourisation of Acid Violet 7 with Complex Pellets of White Rot Fungus and Activated Carbon”, *Bioprocess Eng.*, **23**: 295-301, (2000).
- [119] Heinfling, A., Bergbauer, M. and Szewzyk, U. “Biodegradation of Azo and Phthalocyanine Dyes by *Trametes versicolor* and *Bjerkandera adusta*”, *Appl. Microbiol. Biot.*, **48**: 261–266, (1997).
- [120] Sahoo, D.K. and Gupta, R. “Evaluation of Ligninolytic Microorganisms for Efficient Decolorization of a Small Pulp and Paper Mill Effluent, *Process Biochem.*, **40**: 1573–1578, (2005).
- [121] Souza, J.V.B., da Silva, E.S., da Silva, F.T. and Paiva, T.C.B. “Fungal Treatment of a Delignification Effluent from a Nitrocellulose Industry”, *Bioresource Technol.*, **96**: 1936–1942, (2005).
- [122] Pnadey, A., Socol, C.R. and Mitchell, D. “New Developments in Solid State Fermentation: I-bioprocesses and Products”, *Process Biochem.*, **35**: 1153-1169, (2000).
- [123] Soares, G.M.B., Amorim, M.T.P. and Hrdina, R. “Studies on the Biotransformation of Novel Disazo Dyes by Laccase”, *Process Biochem.*, **37**: 581-587, (2002).
- [124] Ramalho, P.A., Cardoso, M.H., Cavaco-Paulo, A. and Ramalho, M.T. “Characterization of Azo Reduction Activity in a Novel Ascomycete Yeast Strain”, *Appl. Environ. Microb.*, **70**: 2279–88, (2004).
- [125] Lucas, M.S., Amaral, C., Sampaio, A., Peres, J.A. and Dias, A.A. “Biodegradation of the Diazo Dye Reactive Black 5 by a Wild Isolate of *Candida oleophila*”, *Enzyme Microb. Tech.*, article in pres, (2005).
- [126] Martins, M.A., Cardoso, M.H., Queiroz, M.J, Ramalho, M.T. and Oliveira-Campos, A.M. “Biodegradation of Azo Dyes by the Yeast *Candida zeylanoides* in Batch Aerated Cultures”, *Chemosphere*, **38**: 2455–2460, (1999).

- [127] Yu, Z. and Wen, X. “Screening and Identification of Yeasts for Decolorizing Synthetic Dyes in Industrial Wastewater”, *Int. Biodet. Biodegr.*, **56**: 109-114, (2005).
- [128] Zheng, Z., Levin, E.L., Pinkham, J.L. and Shetty, K. “Decolorization of Polymeric Dyes by a Novel *Penicillium* isolate”, *Process Biochem.*, **34**: 31-37, (1999).
- [129] Cing, S. and Yesilada, O. “Astrazone Red Dye Decolorization by Growing Cells and Pellets of *Funalia trogi*”, *J. Basic Microbiol.*, **44**: 263-269, (2004).
- [130] Kurtzman, C.P., Smiley M.J., Robnett C.J., and D.T. Wicklow. (31 Mart 2006) “DNA Relatedness Among Wild and Domesticated Species of the *Aspergillus flavus* group.” *Mycologia* 78(6):955-959. (1986) Erişim: [www.epa.gov](http://www.epa.gov). [3 Nisan 2006]
- [131] Kohn, E., 1884 (23 Haziran 2005) “*Aspergillus oryzae*” (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/>) [3 Nisan 2006]
- [132] Pazouki, M. and Panda, T. “Understanding the Morphology of Fungi”, *Bioprocess Eng.*, **22**:127-143, (2000).
- [133] Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. “Brock, Biology of Microorganisms”, 8<sup>th</sup> Edition, Prentice Hall, USA, 986 s., (1997).
- [134] Berry, D.R. “Physiology of Industrial Fungi”, Blacwell Scientific Publications, London, UK., 285 s. (1988).
- [135] Gigras, P., Sahai, V. and Gupta, R. “Statistical Media Optimization and Production of ITS  $\alpha$ -amylase from *Aspergillus oryzae* in a Bioreactor”, *Curr. Microbiol.*, **45**: 203-208, (2002).
- [136] Tung, T.Q., Miyata, N. and Iwahori, K. “Growth of *Aspergillus oryzae* During Treatment of Cassava Starch Processing Wastewater with High Content of Suspended Solids”, *J. Biosci. Bioeng.*, **97(5)**: 329–335, (2004).
- [137] Nasser, S., Assadi, M.M., Sepehr, M.N., Rostami, K., Shariat, M. and Nadafi, K. “Chromium Removal from Tanning Effluent Using Biomass of *Aspergillus oryzae*”, *Pakistan J. Biological Sci.*, **5**: 1056-1059, (2002).
- [138] Fu, Y. and Viraraghavan, T. “Removal of a Dye from an Aqueous Solution by Fungus *Aspergillus niger*”, *Water Qual. Res. J. Can.*, **35**: 95-111, (2000).

- [139] Mahony, T.O., Guibal, E. and Tobin, J.M. “Reactive Dye Biosorption by *Rhizopus arrhizus* Biomass”, *Enzyme Microb. Techn.*, **31**: 456–463, (2002).
- [140] Zhou, J.L. and Banks, C.J. “Mechanism of Humic Acid Color Removal from Natural Waters by Fungal Biomass Biosorption”, *Chemosphere*, **27**: 607–620, (1993).
- [141] Banks, C.J. and Parkinson, M.E. “The Mechanism and Application of Fungal Biosorption to Color Removal from Raw Waters”, *J. Chem. Technol. Biotech.*, **54**: 192–196 (1992).
- [142] Ataçağ H. “Bir Azo Boyar Maddesi Olan Reaktif Black 5’in Anaerobik-Aerobik ve Aerobik-Anaerobik Biyolojik Parçalanma Koşullarının Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Mersin Üni.-Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 87 s. (2000).
- [143] Chang, J.S. and Lin, C.Y. “Decolorization Kinetics of a Recombinant *Escherichia coli* Strain Harboring Azo-Dye-Decolorizing Determinants from *Rhodococcus* sp.”, *Biotech. Lett.*, **23**: 631-636, (2001).
- [144] Bhatt, N., Patel, K.C., Keharia, H. and Madamwar, D. “Decolorization of Diazo-Dye Reactive Blue 172 by *Pseudomonas aeruginosa* NBAR12”, *J. Basic Microbiol.*, **45(6)**: 407–418, (2005).
- [145] Hu, T.L. “Decolorization of Reactive Azo Dyes by Transformation with *Pseudomonas luteola*”, *Bioresource Technol.*, **49**: 47–51, (1994).
- [146] Kahraman, S., Asma, D., Erdemoglu, S. and Yesilada, O. “Biosorption of Copper (II) by Live and Dried Biomass of the White Rot Fungi *Phanerochaete chrysosporium* and *Funalia trogii*”, *Eng. Life. Sci*, **5(1)**: 72-77, (2005).
- [147] Pearce, C. I., Lloyd, J. R. and Guthrie, J. T. “The Removal of Colour from Textile Wastewater Using Whole Bacterial Cells: a Review”, *Dyes Pigments*, **58**: 179–196, (2003).
- [148] Selvam, K., Swaminathan, K. and Chae, K.S. “Microbial Decolorization of Azo Dyes and Dye Industry Effluent by *Fomes lividus*” *World J. Microb. Biot.*, **19**: 591–593, (2003).



- [149] Ambrosio, S.T., Campos, A. and Takaki G.M. “Decolorization of Reactive Azo Dyes by *Cunninghamella elegans* UCP 542 under co-Metabolic Conditions”, *Bioresource Technol.*, **91**: 69–75, (2004).
- [150] Ozyurt, M. and Atacag, H. “Biodegradation of Azo Dyes: a Review” *Fresen. Environ. Bull.*, **12(11)**: 1294-1302, (2003).
- [151] Atacag, H. and Ozyurt, M. “Aerobic and Anaerobic Consecutive Treatments of the Azo Dye Reactive Black 5 by *Bacillus subtilis*” *Fresen. Environ. Bull.*, **14(9)**: 841-843; (2005).
- [152] Atacag, H., Ozyurt, M. and Taner, F. “Anaerobic and Aerobic Consecutive Treatments of Reactive Black 5 Azo Dye by *Bacillus subtilis*” *Fresen. Environ. Bull.*, **13(2)**: 112-117, (2004).
- [153] Stolz, A. “Basic and Applied Aspects in the Microbial Degradation of Azo Dyes”, *Appl. Microbiol. Biotech.*, **56**: 69–80, (2001).
- [154] Chang, J., Chou, C. and Chen, S. “Decolorization of Azo Dyes with Immobilized *Pseudomonas luteola*”, *Process Biochem.*, **36**: 757–763, (2001).
- [155] Jin, B., Leeuwen, J. and Patel, B. “Mycelial Morphology and Fungal Protein Production from Starch Processing Wastewater in Submerged Cultures of *Aspergillus oryzae*”, *Process Biochem.*, **34**: 335–340, (1999).
- [156] Knapp, J.S., Zhang, F.M. and Tapley, K.N. “Decolourisation of by Wood-Rotting Fungus”, *J. Chem. Tech. Biot.*, **69**: 289-296, (1997).
- [157] Tatarko, M. and Bumpus, J.A. “Biodegradation of Congo Red by *Phanerochaete chrysosporium*”, *Water Res.*, **32**: 1713-1717, (1998).
- [158] Spadaro, J.T., Gold, M.H. and Renganathan, V. “Degradation of Azo Dyes by the Lignin-Degrading Fungus *Phanerochaete chrysosporium*”. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**: 2397–2401, (1992).
- [159] Ryu, B.H. and Weon, Y.D. “Decolorization of Azo Dyes by *Aspergillus sojae* B-10”, *J. Microbiol. Biotech.*, **2**: 215-219, (1992).
- [160] Santos, A.Z.D., Neto, J.M.C., Regina, C., Tavares, G. and Costa, S.M.G. “Screening of Filamentous Fungi for the Decolorization of a Commercial Reactive Dye”, *J. Basic Microbiol.*, **44 (4)**: 288–295, (2004).
- [161] Ledin, M. “Accumulation of Metals by Microorganisms - Processes and Importance for Soil Systems”, *Earth Sci. Reviews*, **51**: 1–31, (2000).

- [162] Shuttleworth, K. and Unz, R. "Sorption of Heavy Metals to the Filamentous Bacterium *Thiothrix* Strain A1", Appl. Environ. Microbiol., **59(5)**: 1274–1282, (1993).
- [163] Ozer, A., Ozer, D. and Ozer, A. "The Adsorption of Copper(II) Ions on to Dehydrated Wheat Bran (DWB): Determination of the Equilibrium and Thermodynamic Parameters", Process Biochem., **39**: 2183–2191, (2004).
- [164] Ozer, A., Ozer, D., Dursun, G. and Bulak, S. "Cadmium(II) Adsorption on *Cladophora crispata* in Batch Stirred Reactors in Series", Waste Manage., **19**: 233-240, (1999).
- [165] Aksu, Z. and Tezer, S. "Equilibrium and Kinetic Modelling of Biosorption of Remazol Black B by *Rhizopus arrhizus* in a Batch System: Effect of Temperature", Process Biochem., **36**: 431-439, (2000).
- [166] Kumar, K.V., Ramamurthi, V. and Sivanesan, S. "Biosorption of Malachite Green, a Cationic Dye onto *Pithophora* sp. a Fresh Water, Algae" Dyes Pigments, **69**: 74-79, (2006).
- [167] Annadurai, G., Chellapandian, M. and Krishnan, M.R.V. "Adsorption Of Reactive Dye on Chitin", Environ. Monit. Assess., **59**: 111–119, (1999).
- [168] Namasivayam, C., Prabha, D. and Kumutha, M. "Removal of Direct Red and Acid Brilliant Blue by Adsorption on to Banana Pith", Bioresource Technol., **64**: 77-79, (1998).
- [169] Malik, P.K. "Dye Removal from Wastewater Using Activated Carbon Developed from Sawdust: Adsorption Equilibrium and Kinetics", J. Hazad. Mater., **B113**: 81–88, (2004).
- [170] El Zawahry, M.M. and Kamel, M.M. "Removal of Azo and Anthraquinone Dyes from Aqueous Solutions by *Eichhornia crassipes*", Water Res., **38**: 2967-2972, (2004).
- [171] Kapoor, A., Viraraghavan, T. and Cullimore, D.R. "Removal of Heavy Metals Using the Fungus *Aspergillus niger*", Bioresource Technol., **70**: 95-104, (1999).
- [172] Mohan, S.V. and Karthikeyan, J. "Removal of Lignin and Tannin Colour from Aqueous Solution by Adsorption onto Activated Charcoal", Environ. Pollut., **97(1-2)**: 183-187, (1997).

- [173] Bhainsa, K.C. and D'Souza, S.F. "Biosorption of Uranium(VI) by *Aspergillus fumigatus*", Biotechnol. Techniq., **13**: 695–699, (1999).
- [174] Benguella, B. and Benaissa, H. "Cadmium Removal from Aqueous Solutions by Chitin: Kinetic and Equilibrium Studies", Water Res., **36**: 2463–2474, (1999).
- [175] Marungrueng, K. and Pavasant, P. "Removal of Basic Dye (Astrazon Blue FGRL) Using Macroalga *Caulerpa lentillifera*", J. Environ. Manage., **78**: 268–274, (2006).
- [176] Ozer, A., Ozer, D. and Ekiz, H.I. "The Equilibrium and Kinetic Modelling of the Biosorption of Copper(II) Ions on *Cladophora crispata*", Adsorption, **10**: 317–326, (2004).
- [177] Uslu, G. and Tanyol, M. "Equilibrium and Thermodynamic Parameters of Single and Binary Mixture Biosorption of Lead (II) and Copper (II) Ions onto *Pseudomonas putida*: Effect of Temperature", J. Hazard. Mater., article in pres, (2006).
- [178] Sudha, B.R. and Abraham, T.E., "Biosorption of Cr (VI) from Aqueous Solution by *Rhizopus nigricans*", Bioresource Technol., **79**: 73-81 ) 2001).
- [179] Brahim-Horn, M.C., Lim, K.K., Liang, S.L. and Mou, D.G. "Binding of Textile Azo Dyes by *Myrothecium verrucaria*", J. Ind. Microbiol., **10**: 31–36, (1992).
- [180] Gong, R., Ding, Y., Li, M., Yang, C., Liu, H. and Sun, Y. "Utilization of Powdered Peanut Hull as Biosorbent for Removal of Anionic Dyes from Aqueous Solution", Dyes Pigments, **64**: 187-192, (2005).
- [181] Won, S.W., Choi, S.B. and Yun, Y.S. "Interaction Between Protonated Waste Biomass of *Corynebacterium glutamicum* and Anionic Dye Reactive Red 4", Colloid Surface A., **262**: 175-180, (2005).
- [182] Aksu, Z. And Cagatay, S.S. "Investigation of Biosorption of Gemazol Turquoise Blue-G Rective Dye by Dried *Rhizopus arrhizus* in Batch and Continuous Systems", Seperation Purification Technol., **48**: 24-35, (2006).
- [183] Ozcan, A., Oncu, E.M. and Ozcan A.S., "Adsorption of Acid Blue 193 From Aquous Solutions Onto DEDMA-Sepiolite", J. Hazard. Mater., **B129**: 244-252, (2006).

- [184] Mohan, S.V., Rao, N.C. and Karthikeyan, J. “Adsorptive Removal of Direct Azo Dye from Aqueous Phase onto Coal Based Sorbents: a Kinetic and Mechanistic Study”, *J. Hazard. Mater.*, **B90**: 189-204, (2002).
- [185] Walker, G.M. and Weatherley, L.R. “Biodegradation and Biosorption of Acid Anthraquinone Dye”, *Environ. Pollut.*, **108**: 219-223, (2000).

## ÖZGEÇMİŞ

### 1. GENEL

<b>Soyadı, Adı: ERKURT ATAÇAĞ Hatice</b>		Doğum Tarihi: 15.09.1975
Telefon:0324- 3610001/7104	Faks: 0324-3610032	e-posta: hatacag@mersin.edu.tr

### 2. EĞİTİM

Öğrenim Dönemi	Derece	Üniversite	Öğrenim Alanı
1993-1997	Lisans	Ege Üniversitesi	Biyoloji
1997-2000	Yüksek Lisans	Mersin Üniversitesi	Çevre Mühendisliği
2000-	Doktora	Mersin Üniversitesi	Çevre Mühendisliği

### 3. AKADEMİK DENEYİM

Görev Dönemi	Ünvan	Bölüm	Üniversite
1998-	Araştırma Görevlisi	Çevre Mühendisliği	Mersin Üniversitesi

### 4. BİLİMSEL ETKİNLİKLERİ

#### AKADEMİK YAYINLARI

##### A) Ulusal Bildiriler:

1. Fadime Taner, Mustafa Özyurt, Figen Eşme, Tansu Öncel ve Hatice Ataçağ, “o-krezol, m-krezol, p-krezol, benzil alkol, hidrokinon, n-butanol, t-butanol, 2-butanol, n-butil asetat, asetik asit, glikoz ve gallik asidin’in anaerobik parçalanmalarının araştırılması”,XI. KÜKEM ve Biyoteknolojisi Kongresi, Özel sayısı 23 (2), 163-170, (1999).
2. Fadime Taner, Hatice Ataçağ ,Tansu Öncel, M. Ali Mazmancı, Bülent Halisdemir ve Mustafa Özyurt, “Reaktif Orange 16 Azo Boyar Maddenin

*Bacillus subtilis* ve *Micrococcus luteus* ile Anaerobik Biyolojik Yıkımının Araştırılması”,Ulusal Sanayi-Çevre Semp. ve Sergisi , 25-27 Nisan 2001 Mersin

3. Hatice Ataçağ, Mustafa Özyurt, Fadime Taner, Emrah A. Erkurt., “Reaktif Black 5’in Aerobik-Anaerobik Koşullarda Biyolojik Parçalanması” XII. Biyoteknoloji Kongresi Bildiri Kitabı Sayfa 132-136, 17-21 Eylül 2001
4. Emrah A. Erkurt, Ali Ünyayar, M Ali Mazmancı, Hatice Ataçağ “Drimarene Blue X3LR’nin Renk Gideriminden Sorumlu *Funalia trogii* Enziminin Araştırılması” XIII. Biyoteknoloji Kongresi, 25-29 Ağustos 2003, Çanakkal, 226-231.
5. Halil Kumbur, Mustafa Özyurt, H. Duygu Özsoy, Zafer Özer, Hatice Ataçağ, “Mersin İlinde Güneş Enerji Sistemlerinde Olası Su Kirliliği Problemleri”, Türkiye’de Çevre Kirlenmesi Öncelikleri Sempozyumu IV, 9-10 Ekim 2003, Gebze, 89-94.
6. Hatice Ataçağ Erkurt, Mustafa Özyurt, Ayla Özer ve Emrah A. Erkurt “Levafix Brown E2R ve Cibacron Red C2G’nin *Aspergillus oryzae* ile Renk Gideriminde Ortam Bileşenlerinin Araştırılması” 14. Biyoteknoloji Kongresi. 31 Ağustos- Eylül 2005, Osmangazi Üni. Eskişehir (Poster)
7. Ali Ünyayar, Emrah A. Erkurt, M. Ali Mazmancı, Hatice Ataçağ, Zınar Aslan, Levent Özyazıcıoğlu “Beyaz Çürükçül Funguslar Kullanılarak Tekstil Endüstrilerinde Sıkça Kullanılan Bazı Boyar Maddelerin Renk Gideriminin Araştırılması”. 14. Biyoteknoloji Kongresi. 31 Ağustos- Eylül 2005, Osmangazi Üni. Eskişehir (Poster)

**B) Uluslararası Bildiriler:**

1. Ali Ünyayar, Mehmet A. Mazmancı, Emrah A. Erkurt, Hatice Ataçağ  
“Decolorization of the azo dye Drimaren Blue X3LR by the crude filtrate of  
*Funalia trogii*”. Diffuse Pollution Conference, 2003, Dublin, Poster Paper,  
88-92.
2. Ali Ünyayar, M. Ali Mazmancı, Emrah A. Erkurt and Hatice Ataçağ Erkurt  
“Reactive Dye Decolorization by Some White Rot Fungi Under Static  
Conditions” European Ecological Congress 8-13 Kasım 2005, Kuşadası,  
İzmir.

**C) Uluslararası Yayınlar:**

- 1- Mustafa Özyurt, Hatice Ataçağ “Biodegradation of Azo Dyes: A Review”  
Fresen. Environ. Bull., 1 (11), 1294-1302 (2003).
- 2- Hatice Ataçağ, Mustafa Özyurt, Fadime Taner “Anaerobic and Aerobic  
Consecutive Treatments of Reactive Black 5 Azo Dye by *Bacillus subtilis*”  
Fresen. Environ. Bull., 13 (2), 112-1117 (2004).
- 3- Ali Ünyayar, Mehmet A. Mazmancı, Hatice Ataçağ, Emrah A. Erkurt and  
Gökhan “A Drimaren Blue X3LR dye decolorizing enzyme from *Funalia  
trogii* :one step isolation and identification” Enzyme Microb. Tech., 36, 10-  
16 (2005).
- 4- Mustafa Özyurt, Ayla Özer and Hatice Ataçağ “Decolourisation of setopers  
black RD-ECO by *Aspergillus oryzae*” Fresen. Environ. Bull., 14 (6), 531-  
535 (2005).

- 5- Ali Ünyayar, Mehmet A. Mazmancı, Emrah A. Erkurt, Hatice Ataçağ, and A. Murat Gizir “Decolorization kinetics of the azo dye Drimarene Blue X3LR by laccase” *React. Kinetic Catal. Lett.* 86 (1), 99-107 (2005).
- 6- Hatice Ataçağ and Mustafa Özyurt “Aerobic and anaerobic consecutive treatments consecutive treatments of the azo dye reactive black 5 by *Bacillus subtilis*” *Fresen. Environ. Bull.*, 14 (9), 841-843 (2005).
- 7- Ali Ünyayar, Murat Demirbilek, Melisa Türkoğlu, Ayla Celik, Mehmet A. Mazmancı, Emrah A. Erkurt, Serpil Ünyayar, Özlem Cekic, Hatice Ataçağ “Evaluation of Cytotoxic and Mutagenic Effects of *Coriolusversicolor* and *Funalia trogii* Extracts on Mammalian Cells”, *Drug Chem. Toxicol.*, 1, 69–83, (2006).

## **PROJELER**

1. “Beyaz Çürükçül Funguslardan Elde Edilen Enzimlerin Tekstil Boyar Maddelerinin Renk Gideriminde Kullanılması”, Yürütücü: Ali ÜNYAYAR, TÜBİTAK, Proje No: TBAG-2044 (101T045) (2001- 2005)

## **KURSLAR**

1. Arıtma Tesisi İşletilmesi, Planlanması ve Yönetimi, TÜBİTAK, M.A.M. Tekstil Enstitüsü, SAGEM Müdürlüğü, 22-24 Aralık 1997, Bursa.
2. Enzim Saflaştırılmasında Temel Yöntemler (Uygulamalı), TÜBİTAK, M.A.M Gen Mühendisliği ve Biyoteknoloji Araştırma Enstitüsü, 6-10 Kasım 2000, Gebze.