

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
BİYOTEKNOLOJİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ

ARITIMI YAPILMAMIŞ ATIKSULARDAN İZOLE EDİLEN MİKROORGANİZMALARLA
REACTIVE BLACK B ve KROM(VI) GİDERİMİ

Biyolog Meral YÜCE

Danışman Öğretim Üyesi
Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

ANKARA
2007

Arıtma Yapılmamış Atıksulardan İzole Edilen Mikroorganizmalarla Reaktif Boyarmadde ve Krom(VI) Giderimi

ÖZET

Boyarmadde ve krom(VI) içeren atıksuların arıtımında kullanım potansiyeline sahip karışık kültürler, saf kültürler ve bakteriyel ortaklığın elde edildiği tez çalışmasında, Reactive Black B ve krom(VI) içeren melaslı besiyerlerinde geliştirilen karışık kültürlerin farklı pH değerlerinde (6, 7, 8, 9), değişik RBB (33.2- 103.1 ppm) ve krom(VI) (19.9-127.6 ppm) konsantrasyonlarında biyobirikim kapasiteleri araştırılmıştır. Yaklaşık olarak 35 ppm RBB ve 50 ppm krom(VI) başlangıç konsantrasyonunda yapılan çalışmalarda optimum pH değeri 8 olarak tespit edilmiştir. Karışık kültürle en yüksek RBB giderimi 83.6 ppm RBB ve 77.3 krom(VI) içeren melaslı ortamda %68.2, en yüksek krom(VI) giderimi ise yine aynı koşullardaki besiyerinde %95.7 olarak bulunmuştur. Bakteriyel ortaklıkla en yüksek RBB giderimi 92.3 ppm RBB ve 78.6 ppm krom(VI) içeren melaslı ortamda %76.9, en yüksek krom(VI) giderimi ise aynı koşullardaki besiyerinde %100 olmuştur. Bakteriyel ortaklığın karışık kültürden daha etkili biyobirikim yaptığı sonucuna varılmıştır.

Anahtar kelimeler: Reaktif boya, Cr(VI) , Atıksu, Arıtım, Mikroorganizma, Tekstil

Reactive Dyes and Chromium(VI) Removal From Wastewater by Microorganisms Isolated From Untreated Textile Effluents

ABSTRACT

In the thesis in which mixed culture, pure culture and bacterial consortia that have potential to be used in the treatment of waste water containing reactive dye and chromium(VI) were obtained, the effect of different pH values (6, 7, 8 and 9) different concentrations of RBB (33.2- 103.1 ppm) and chromium(VI) (19.9-127.6 ppm) to the RBB and chromium(VI) bioaccumulation capacity of the microorganisms in media containing RBB and chromium(VI) were investigated. Optimal pH for growth of the consortia in media containing 35 ppm RBB and 50 ppm chromium(VI) was determined to be around 8. The maximum RBB bioaccumulation yield of mixtured culture was determined as 68.2% and maximum chromium(VI) bioaccumulation yield was determined as 95.7% in molasses media containing 83.6 ppm RBB and 77.3 ppm chromium(VI). A microbial consortia consisting of three bacteria isolated from tanning and textile wastewaters revealed high capacity to simultaneously bioaccumulate RBB and chromium(VI). The chromium(VI) bioaccumulation by the consortia was rapid in media containing molasses with or without reactive dye with a maximum chromium(VI) bioaccumulation yield was determined as 100% in molasses media containing 93.2 ppm RBB and 78.6 ppm chromium(VI). A slightly lower yield for the RBB bioaccumulation was measured with a maximum dye bioaccumulation of 79.6% in same condition. The ability of consortia to bioaccumulate dye and chromium(VI) was more efficient than the enriched culture.

Keywords: Reactive dye, Cr(VI), Wastewater, Treatment, Microorganism, Textile

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm; çalışmalarımın yönlendirilmesi ve sonuçlandırılmasında büyük emeği geçen tez danışmanım sayın Prof. Dr.Gönül DÖNMEZ'e, çalışmalarım sırasında beni maddi açıdan destekleyen TÜBİTAK Bilim Adamı Yetiřtirme Grubu'na, tezimin deney ve yazım aşamalarında yardım ve desteklerini esirgemeyen hocam Arř. Grv. Nur KOÇBERBER KILIÇ'a ve tüm laboratuvar arkadaşlarım, her koşulda yanımda olduğunu hissettiren abim Jeofizik Yüksek Müh. Bilal Barbaros YÜCE' ye, her konuda desteklerini gördüğüm ve tezimin hazırlandığı sürede gösterdikleri sabır, ilgi ve hoşgörüden dolayı anne ve babama sonsuz Őükran ve teőekkürlerimi sunarım.

Meral YÜCE

Ankara, Aralık Ocak 2007

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ	2
2.1. Tekstil Boyarmaddeleri.....	2
2.1.1. Tekstil boyarmadde türleri.....	2
2.1.1.1. Reaktif boyarmaddeler ve özellikleri.....	3
2.2. Tekstil Endüstrisi Atıksuları.....	3
2.2.1. Reaktif boyarmadde içeren tekstil atıksuları.....	4
2.3. Tekstil Boyarmaddelerini Atıksulardan Arıtma Yöntemleri.....	4
2.3.1. Fiziksel yöntemler.....	4
2.3.2. Kimyasal yöntemler.....	5
2.3.3. Biyolojik yöntemler.....	6
2.3.3.1. Anaerobik arıtım.....	6
2.3.3.2. Aerobik arıtım.....	6
2.4. Ağır Metaller.....	7
2.4.1. Krom.....	8
2.5. Ağır Metal Arıtım Yöntemleri.....	8
2.5.1. Kimyasal arıtım yöntemleri.....	8
2.5.2. Biyolojik arıtım yöntemleri.....	9
2.6. Mikroorganizmalarla Yapılan Biyobirikim ve Biyosorbsiyon Çalışmaları.....	11
3. MATERYAL ve YÖNTEM	15
3.1. Materyal.....	15
3.1.1. Atıksu.....	15
3.1.2. Reactive Black B ve krom(VI) solüsyonları.....	15
3.2. Yöntem.....	15
3.2.1. Karışık mikrobiyel kültür eldesi.....	15
3.2.2. Saf kültür eldesi.....	16
3.2.3. Karışık kültürlerle yapılan biyobirikim çalışmaları.....	16
3.2.4. Saf kültürlerle yapılan biyobirikim çalışmaları.....	16
3.2.5. Bakteriyel ortaklıkla yapılan biyobirikim çalışmaları.....	16
3.2.6. Analiz yöntemleri.....	17
3.2.6.1. Optik yoğunluğun belirlenmesi (OD).....	17
3.2.6.2. Kuru ağırlığın belirlenmesi.....	17

3.2.6.3. RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının belirlenmesi	17
3.2.7. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan kısaltmalar	17
4. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	19
4.1. Karışık Kültürle Yapılan Çalışmalar.....	19
4.1.1. Başlangıç pH değerinin karışık kültürün RBB ve krom(VI) biyobirikimine etkisi.....	19
4.1.2 Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık mikrobiyel kültürün biyobirikimine etkisi.....	20
4.1.3. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık mikrobiyel kültürün biyobirikimine tekli etkisi.....	20
4.1.4. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonunun karışık kültürün biyobirikimine birlikte etkisi.....	21
4.1.5. Artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık kültürün maksimum spesifik RBB ve krom(VI) alımına etkisi.....	22
4.2. Saf Kültürlerle Yapılan Biyobirikim Çalışmaları.....	24
4.2.1. RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının 14 numaralı suşun biyobirikim kapasitesi üzerine etkisi.....	26
4.3. Bakteriyel Ortaklıkla Yapılan Biyobirikim Çalışmaları.....	26
4.3.1. Farklı başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının bakteriyel ortaklığın biyobirikim kapasitesine etkisi.....	27
4.3.2. Fermentörde kesikli sistemde, başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonunun bakteriyel ortaklığın biyobirikimine birlikte etkisi.....	28
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	29
KAYNAKLAR.....	32
ÖZGEÇMİŞ.....	35

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1.Reactive Black B'nin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 3.2. Krom(VI) standardı.....	18
Şekil 3.3. Boya(Reactive Black B) standardı.....	18
Şekil 4.1. Başlangıç RBB konsantrasyonunun krom(VI) içermeyen ortamlardaki ve başlangıç krom(VI) konsantrasyonlarının RBB içermeyen melaslı besiyerlerindeki biyobirikime etkisi.....	20
Şekil 4.2. Karışık kültürün biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi 1	21
Şekil 4.3. Karışık kültürün biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi 2	22
Şekil 4.4. Artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında elden edilen, gram hücre başına biriktirilen krom(VI) miktarları.....	23
Şekil 4.5. Artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında elden edilen gram hücre başına biriktirilen RBB miktarları.....	24
Şekil 4.6. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının 14 numaralı suşun biyobirikimi üzerine etkisi.....	26
Şekil 4.7. Erlen çalışmalarında, bakteriyel ortaklığın biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi.....	27
Şekil 4.8. Fermentör çalışmalarında, bakteriyel ortaklığın biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi.....	28

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1. Boya veya krom gideriminde kullanılan mikroorganizmalar, gelişebildikleri krom(VI)/RBB konsantrasyonları ve giderim mekanizmaları.....	14
Çizelge 4.1. Başlangıç pH değerlerinin karışık kültürün maksimum RBB ve krom(VI) biyobirikimi üzerine etkisi.....	19
Çizelge 4.2. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının, saf kültürlerin biyobirikimi üzerine etkisi.....	25

SİMGELER DİZİNİ

C_0 : Başlangıç krom(VI) veya RBB konsantrasyonu (ppm).

C_{byb} : Mikroorganizmaların ortamdan uzaklaştırdığı krom(VI) veya RBB miktarı (ppm).

% BB: Biyobirikim verimi.

q_m : Mikrobiyel kütlenin gramı başına biriktirilen krom(VI) veya RBB derişimi (mg/g).

RBB: Reactive Black B

KOI: Kimyasal oksijen ihtiyac

BOI: Biyolojik Oksijen İhtiyacı

CrO_4^{2-} : Kromat

$Cr_2O_7^{2-}$: Dikromat

$CrCl_3$: Krom klorür

$K_2Cr_2O_7$: Potasyum dikromat

HCl: Hidroklorik asit

NaCl: Sodyumklorür

NaOH: Sodyumhidroksit

$(NH_4)_2SO_4$: Amonyumsülfat

KH_2PO_4 : Potasyumsülfat

Cr(VI): Krom(VI)

Cu(II): Bakır(II)

Ni(II): Nikel(II)

Cd(II): Kadmiyum(II)

Pb(II): Kurşun(II)

1. GİRİŞ

Günümüzde çevre kirliliği geleceğimizi tehdit altında bırakan önemli sorunlardan biri haline gelmiştir. Su kirliliği ise çevre kirliliğinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sanayileşmenin giderek artmasıyla birlikte, doğada kendi kendini temizleme olarak bilinen süreç, atık suyun temizlenerek yeniden kullanımını imkansız kılmakta ve dolayısı ile atıksuların arıtımında yeni teknolojilerin oluşturulması ve geliştirilmesiyle ilgili çalışmalar giderek önem kazanmaktadır.

Çağımızda endüstriyel atıksular kentsel atıklar ve kanalizasyon atıkları ile birlikte yüzey sularını kirleten önemli kaynaklar haline gelmiştir. Kentlerde ve endüstride kullanıldıktan sonra atılan suların tümü için “atıksu” deyimini kullanılmaktadır. Atıksular fiziksel, kimyasal ve biyolojik kirlilik gösterebilirler. Fiziksel kirlilik renk, koku, sıcak atıkların etkisi ile su kaynağının sıcaklığında yükselme, asılı maddeler ve köpüklenme ile kendini gösterir. Atıksuların kimyasal kirliliği ise içerdiği çözünmüş organik maddeler, toksik maddeler ve fosforlu bileşiklerden ileri gelir. Boyalar ve ağır metaller atıksulardaki başlıca kimyasal kirleticilerden sayılmaktadır.

Tekstil endüstrisi atıksuları, içerdiği boyarmaddelerin alıcı ortamlardaki ışık geçirgenliğini azaltmaları nedeniyle, bu ortamdaki bitkilerin fotosentez hızlarını ve dolayısıyla doğal yoldan oksijen üretiminin düşmesine yol açmaktadır. Ayrıca boyarmaddeler belirli derişimlerin üzerinde ve yapılarında içerdikleri metal iyonları ve klorür nedeniyle suda yaşayan canlılara toksik etki de yapmaktadır.

Tekstil, kağıt, deri gibi birçok endüstri, işleme süreçlerinde boya stoklarını ve ağır metalleri kullanılmaktadırlar. Krom, bakır, kobalt gibi ağır metaller güneşe maruz bırakılmış boyalarda rengin stabilizasyonu için kullanılmaktadırlar. Bu işletmelerden dış ortama verilen atık suların nehir, göl veya akarsulara arıtılmaksızın boşaltılması, çözünmüş oksijen miktarını azaltarak suda yaşayan canlılar için yaşam tehdidi oluşturmaktadır Yüksek derecede toksik olmaları bu tür atıksuların arıtılmalarını zorunlu kılar.

Boya ve ağır metal iyonlarının gideriminde kullanılan klasik arıtım teknikleri, yüksek kimyasal donanım giderleri ve arıtma veriminin düşük olması nedeniyle pratik ve ekonomik olmaktan uzaktır. Kimyasal yöntemlerle, çöktürülen ağır metal iyonlarının geri kazanımı mümkün olmayıp, oluşan çamur ise başlı başına bir kirlilik unsurudur.

Ağır metal iyonları çevredeki diğer kirleticiler gibi mikroorganizmalar tarafından parçalanamazlar. Fakat bazı mikroorganizmalar ağır metallerle karşı direnç göstermektedir. Mikroorganizmalar bu direnci biyobirikim yolu ile yapabilmektedir. Biyobirikim mikroorganizmaların bu tür maddeleri membrana bağlı proteinler aracılığı ile hücre içine almaları ve burada daha az toksik forma indirgeyip biriktirmeleriyle gerçekleşmektedir.

Daha önce bu konu ile ilgili yapılan çalışmalar; *Phormidium sp.*, *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Synechococcus sp.*, *Ganoderma sp.*, *Eichhornia crassipes*, *Bacillus coagulans*, *Saccharomyces cerevisia*, *Rhodobacter sphaerodites*, *Neurospora crassa*, *Phanerochaete chrysosporium*, *Chlorella miniata*, *Providencia sp.*, *Candida tropicalis*, gibi mikroorganizmaların biyolojik arıtımda kullanılabileceğine işaret etmektedir (Srinath vd 2002, Aksu 2003, Şahin ve Öztürk 2004, Sadettin ve Dönmez 2005, Mohanty vd 2005, Revenkar ve Lele 2006).

Bu çalışmanın amacı, tekstil ve deri atık sularındaki yüksek boya ve krom(VI) konsantrasyonlarına dirençli olan mikroorganizmaları izole etmek ve bu mikroorganizmaları boya ve ağır metal içeren endüstriyel atık suların biyolojik arıtımında kullanmak suretiyle, pratik ve ekonomik olması öngörülen alternatif bir arıtım tekniği oluşturmaktır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Tekstil Boyarmaddeleri

Boyarmadde bir materyale kendiliğinden veya uygun reaksiyon maddeleri sayesinde renk veren organik maddelerdir. Renk, madde üzerine düşen ışınların absorpsiyon, yansımaya değerleri ile ilgili olarak ortaya çıkar (Aksu ve Tezer 2005).

Boyarmaddeler iki ana bileşenden oluşurlar. Birincisi renk veren kromofor gurupları ikincisi boyayı ipliğe bağlayan fonksiyonel guruplardır. Kromofor organik bir molekül içinde renkli görünümü sağlayan atom, atom grubu veya elektronlardır. Boyarmadde içinde yer alan ve kromofor içeren aromatik halkalı bileşiklere kromojen denir (Kocaer vd 2002, Aksu 2004).

Tekstil sanayinde boyanın ipliğe adsorbe olması, tekstil ipliğine ve boyanın tipine göre değişir. Adsorpsiyonun derecesi zaman, sıcaklık, pH ve yardımcı kimyasallar gibi çeşitli faktörlerin etkisi altındadır (Kocaer 2002).

Boyarmaddeler genel olarak karmaşık yapıda, sentetik, yüksek molekül ağırlıklı ve organik bileşiklerdir. Kimyasal yapıları itibari ile ısıya, suya ve birçok kimyasala direnç gösterebilirler ve kompleks sentetik yapılarından dolayı renk giderimi oldukça zordur. Dahası bu atıkların canlılar için zehirli ve kanserojen oldukları kanıtlanmıştır (Fu vd 2001).

2.1.1 Tekstil boyarmadde türleri

Tekstil endüstrisinde kullanılan boyarmaddeler çözünürlüklerine, kimyasal yapılarına, uygulandıkları elyaf türüne ve boyama özelliklerine göre dört ana sınıfa ayrılırlar (Aksu 2004).

➤ Çözünürlük özelliklerine göre boyarmaddeler

- Suda çözünmeyen boyarmaddeler
- Suda çözünen boyarmaddeler: Anyonik, katyonik ve zwitter iyon karakterli boyarmaddeler
- Substratta çözünen boyarmaddeler: Organik çözücülerde çözünen boyarmaddeler, geçici çözünürlüğü olan boyarmaddeler, polikondensasyon boyarmaddeleri, elyaf içinde oluşturulan boyarmaddeler ve pigmentler bu gruba girerler.

➤ Kimyasal yapılarına göre boyarmaddeler

Arilmetin boyarmaddeleri, nitro ve nitroza boyarmaddeler, azo boyarmaddeler ve polimetin boyarmaddeler bu gruba girerler.

➤ Uygulandıkları elyaf türüne göre boyarmaddeler

- Selülozik esaslı elyaf (pamuklu, keten vb.) boyamada kullanılan boyarmaddeler: Direkt boyarmaddeler, azoik boyarmaddeler, küp boyarmaddeler, reaktif boyarmaddeler ve kükürt boyar maddeler.

- Protein esaslı elyaf (deri) boyamada kullanılan boyarmaddeler: Asit boyarmaddeler, metal kompleks boyarmaddeler, krom boyarmaddeler ve reaktif boyarmaddeler.
- Sentetik esaslı elyaf boyamada kullanılan boyarmaddeler: Dispers boyarmaddeler, asit boyarmaddeler ve katyonik bazik boyarmaddeler bu gruba dahildirler.

➤ Boyama özelliklerine göre boyarmaddeler

Bazik katyonik boyarmadde, direkt boyarmaddeler, mordan boyarmaddeler, küp boyarmaddeler, metal kompleks boyarmaddeler, pigment boyarmaddeleri ve asit boyarmaddeleri.

2.1.1.1. Reaktif boyarmaddeler ve genel özellikleri

Boyanacak elyaf yapısındaki fonksiyonel gruplar ile gerçek kovalent bağ oluşturabilen reaktif gruplar içeren boyarmaddelerdir. Gerçek kovalent bağ nedeniyle elyaf üzerine kuvvetle tutunurlar. Reaktif grup molekülün renkli kısmına bağlıdır. Bütün reaktif boyarmaddelerde ortak özellik; hepsinin renkli yapıyı veren kromofor grup yanında, bir reaktif grup birde moleküle çözünürlük özelliği kazandıran grubu taşımasıdır (Clarke vd 1981).

Reaktif boyarmaddeler ülkemizde en çok tüketilen boyarmaddelerdir. Reaktif grupların reaktifliklerine göre yüksek reaktifliğe sahip boyarmaddeler ve düşük reaktifliğe sahip boyarmaddeler olmak üzere iki sınıfta toplanırlar. Yüksek reaktifliğe sahip boyarmaddeler vinilsülfon, diklorotriazin, difloroprimidin gibi reaktif grup içeren boyarmaddelerdir. Bu tip boyarmaddelerle düşük sıcaklıklarda; düşük reaktifliğe sahip boyarmaddelerle yüksek sıcaklıklarda boyama işlemi gerçekleştirilir. Yüksek reaktifliğe sahip boyarmaddelerle düşük reaktifliğe sahip boyarmaddelere oranla daha hızlı boyama sağlanır ve aynı zamanda kimyasal madde ve enerji tüketimi daha azdır. Düşük reaktifliğe sahip boyarmaddelerle boyama işleminde ise hidroliz tehlikesinin daha az olması nedeniyle boyarmadde kaybı daha azdır (Sumathi ve Manju 2000, Aksu ve Tezer 2005).

Suda çözünen reaktif boyalar arıtımda en çok problem yaratan guruplardan biridir. Çünkü kullanılan klasik arıtım teknikleri bu boyalar üzerinde çok fazla etkili değildir. Alkali ortamda ve yüksek sıcaklıkta gerçekleştirilen boyama işlemi sırasında bu boyaların %40'ı koton fiberlere tutunmaz ve boya atığı olarak kalır. Çünkü boyama sırasında boyarmaddenin reaktif grubu yalnız selüloz makromoleküllerinin hidrosil grubuyla değil, aynı zamanda suyun hidrosil gruplarıyla da reaksiyona girer ve hidrolize uğrar. Hidrolize uğrayan boyarmadde de atıksuya karışır ve boyama verimi düşer.

2.2. Tekstil Endüstrisi Atıksuları

Tekstil endüstrisinden çıkan atıksular içerdikleri çok sayıda kimyasal ve özellikle boyarmaddelerden dolayı, arıtılması zor olan endüstriyel atıksulardır. Farklı organik maddeler, çözülmüş tuzlar, ağır metaller, bulanıklık ve değişen pH' larda dış ortama bırakılan bu sular, yüksek derecede boyanmış ve renkli oldukları için birinci derecede arıtıma ihtiyaç duyan atıksulardır. Biyolojik oksijen ihtiyaçları (BOİ) düşük, kimyasal oksijen ihtiyaçları (KOİ) yüksektir. Böbreklerde, akciğerlerde, beyinde ve merkezi sinir sisteminde hasara neden olurlar (Brasquet vd 2002).

Alıcı ortama verilen renkli atık sular alıcı ortamdaki ışık geçirgenliğini azaltırlar ve fotosentetik aktiviteyi sekteye uğrattırlar. Boyarmaddelerin bazı sucul organizmalarda birikmesi toksik ve kanserojenik ürünlerin meydana gelmesine de neden olabilir (Yeşilada vd 2002). Bu nedenle boyarmadde içeren tekstil sularının renk giderimi ekolojik açıdan büyük önem arz etmektedir.

Sentetik boyarmaddeler tekstil sanayi dışında, deri, kağıt üretimi, gıda teknolojisi, saç boyama ve kozmetik gibi endüstriyel alanlarda da sıklıkla kullanılırlar. Dünyada üretilen boya miktarı tam olarak bilinmese de 100.000 den fazla boya çeşidi olduğu ve her yıl yaklaşık 700.000 ton boya atığı oluştuğu tahmin edilmektedir (Clarke vd 1981, Lee vd 2006).

Ülkemizde Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği'nde, deşarj standartlarında renkle ilgili parametre olmamasından dolayı, bu atıksuların arıtımında daha çok KOI (Kimyasal Oksijen İhtiyacı) ve BOI (Biyolojik Oksijen İhtiyacı) giderimi amaçlanmaktadır. Buna karşın ABD ve AB ülkelerinde renkle ilgili kesin deşarj sınırlamaları getirilmesinden dolayı son yıllarda tekstil atıksularının arıtılmasında bütün arıtma teknolojileri, renk giderimi üzerine yoğunlaşmıştır (Aksu 2004).

2.2.1. Reaktif boyarmadde içeren tekstil atıksuları

Bu maddeler atıksularda renk kirliliğinin yanı sıra ışık geçirgenliğine engel olarak sudaki yaşamın fotosentetik aktivitesini etkilerler. Reaktif boyarmaddelerin çoğunun toksik etkisi yoktur, sadece suyun renginin değişmesine, tadının ve kokusunun bozulmasına neden olurlar. Ancak özellikle siyah boyarmaddelerle yapılan işlemler sonucu atıksuya zehirli arilamin gruplarının karıştığı tespit edilmiştir. Ayrıca bazı reaktif boyarmaddelerde (turkuaz, parlak yeşil, mavi) moleküler yapılarında taşıdıkları bakır elementinden dolayı suda yaşayan canlılar için toksiktirler. Bu maddelerle işlem yapılırken, boyarmaddelerin kumaşa iyi tutunmasını sağlamak amacıyla boyama banyosuna yüksek miktarda eklenen tuz da kirliliğe neden olmaktadır (Lee 1996, Aksu 2004).

2.3. Tekstil Boyarmaddelerini Atıksulardan Arıtma Yöntemleri

Tekstil endüstrilerinde boyamada ve diğer işlemlerde kullanılan bu organik ve inorganik formdaki bileşiklerin çeşitliliğine bağlı olarak, ortaya çıkan atıksuların özellikleri de farklı olmaktadır. Kompleks kimyasal yapılarına ve sentetik kökenlerine bağlı olarak boyarmaddelerin giderilmesi oldukça zor bir işlemdir. Boyalı atıksuların karakterizasyonu da boyaların kimyasal yapılarındaki farklılıklardan ve boyama işlemlerinin değişim göstermesinden dolayı oldukça zordur.

Günümüzde boyarmaddelerin arıtımı büyük ölçüde fiziksel ve kimyasal yöntemlerle gerçekleştirilmektedir. Ancak bu yöntemlerin maliyeti oldukça yüksektir ve ortaya çıkan büyük miktardaki konsantr çamurun bertarafı problemlere neden olmaktadır. Bu nedenle büyük hacimli atık sulardaki boyarmaddelerin etkili ve ekonomik bir şekilde giderilmesi için biyolojik sistemler gibi alternatif sistemlere gereksinim vardır (Kocac 2002).

Tekstil boyarmaddesi içeren atıksuların arıtımında sıklıkla kullanılan yöntemler aşağıda kısaca açıklanmaya çalışılmıştır.

2.3.1. Fiziksel yöntemler

Arıtımda kullanılan fiziksel yöntemleri dört başlık altında toplamak mümkündür (Robinson vd 2004, Crini 2005).

- Adsorbsiyon
- İyon değişimi
- Aktif karbon yöntemi

- Elektrokinetik koagülasyon

Adsorbsiyon ve iyon değişim yöntemi renk gideriminin iki temel mekanizmasıdır. Bu mekanizma boya sorbent interaksyonu, sorbent yüzey alanı, partikül büyüklüğü, pH ve zaman gibi fizikokimyasal faktörlerden etkilenir.

Aktif karbon yöntemi: En sık kullanılan yöntemlerden biridir. Katyonik mordant ya da asidik boya gidermede oldukça etkilidir. Performansı karbona ve atık suyun karakteristiğine bağlıdır. Pahalıdır ama yeniden aktive edilerek kullanılır. Özellikle biyolojik artırcıların etki etmediği kimyasallar için aktif karbon yöntemi popüler bir yöntemdir.

Elektrokinetik koagülasyon: Yöntemin kendisi ekonomik olmasına rağmen arıtım sonrası ortaya çıkan çamur maliyeti yükseltir. Boyayı gidermek için demir sülfat ve demir kloritlere ihtiyaç duyulur ki bunlarda oldukça pahalı kimyasallardır.

2.3.2. Kimyasal yöntemler

Arıtımda kullanılan kimyasal yöntemleri üç başlık altında toplamak mümkündür (Robinson vd 2004, Crini 2005).

:

- Oksidatif yöntemler:

- Fenton ajanları
- Ozonlama
- Fotokimyasal yöntem
- Sodyumhipoklorit
- Elektrokimyasal yıkım

- Kimyasal flokleştirme ve çöktürme

Oksidasyonla boya molekülündeki aromatik halka yapısı kırılır ve atık sularındaki boyarmadde giderilir. Oksidasyon boyarmaddelerin gideriminde en çok kullanılan yöntemlerden biridir, çünkü basit bir işlemdir. Oksitleyici ajan olarak hidrojen peroksit kullanılır. Hidrojen peroksit UV ile aktif hale getirilerek serbest OH radikallerinin oluşması sağlanır. OH radikalleri organik maddeyi okside ederek parçalanmasını sağlarlar.

Fenton ajanları: Çözünen veya çözünmeyen boya etkili bir şekilde dekolorize eder. Biyolojik yaşama uygun olmayan atık suların arıtımı için uygun bir yoldur. Ancak en büyük dezavantajı çamur üretimidir. Ortaya çıkan çamur konsantrasyonunda maddeler ürettiği için tekrar arıtma ihtiyacı duyar.

Ozonlama: Ozonla oksidasyon kronik hidrokarbonları ve aromatik hidrokarbonları degrade edebilir. Gaz fazında olduğu için çevreye atık su veya çamur bırakmaz. Boyaların kromofor guruplarının oluşturduğu toksik özellikleri azaltır. Kimyasal oksijen ihtiyacını düşürür. Ozonun dezavantajı yarı ömrünün çok kısa olması ve maliyetinin yüksek olmasıdır.

Fotokimyasal yöntem: Bu yöntemle boya molekülleri karbondioksit ve suya kadar parçalanırlar. Degradasyon sonucu yüksek miktarda serbest radikal oluşur ve bunlar organik atıkları okside ederler. Her boya için etkili bir hidrojen peroksit konsantrasyonu vardır.

Sodyumhipoklorit : Klor boyalardaki amino guruplarına etki eder ve azo bağlarını koparır. Ancak karsinogen ya da aromatik aminler salgılandığı için bu yöntem çok nadir kullanılır. Alıcı ortamda olumsuz etkiler yaratır. Fiziksel ve kimyasal yöntemler sadece atık su hacminin düşük olduğu durumlarda kullanılırdılar.

2.3.3. Biyolojik yöntemler

Biyolojik arıtım fiziksel ve kimyasal arıtmaya nazaran çok daha ekonomik bir yöntemdir. Fungal renk giderimi, mikrobiyel parçalanma, ölü ve canlı hücrelerle yapılan adsorbsiyon ve biyoremediasyon gibi biyolojik parçalama yöntemleri atık suların biyolojik arıtımında en çok kullanılan yöntemlerdir. Biyolojik arıtım aerobik veya anaerobik şartlarda gerçekleştirilir.

2.3.3.1. Anaerobik arıtım

Anaerobik arıtım oksijensiz ortamda gerçekleştirilen arıtma aşamalarından oluşur. Organik maddelerin oksijensiz ortamda metan, karbondioksit ve suya dönüştürüldüğü bir süreçtir. Bu yöntemle tekstil atıklarının % 60-70'inde bulunan ve klasik yollarla arıtılmayan azo boyalar ve diğer çözünür boyalar dekolorize edilirler. Bu işlem oksidasyon redüksiyon mekanizmaları ile gerçekleşir. Anaerobik sistemin büyük bir avantajı biyogaz üretimidir. Oluşan biyogaz ısı ve güç kaynağı olarak yeniden kullanılabilir ve enerji maliyetini düşürür. Birçok atıksu çeşidi için uygulanabilmesi, enerji gerektirmemesi, hatta fazladan enerji üretebilmesi, düşük teknolojiyle çalışabilmesi ve maliyetinin düşük olması gibi avantajlara sahiptir. Alet ve teçhizat donanımı açısından aerobik arıtmaya göre daha ucuzdur. Aerobik ya da diğer çeşit arıtımların uygulandığı sistemlerde anaerobik arıtma en azından bir ön arıtım olarak uygulanmalıdır. Çünkü anaerobik parçalanma sonucu oluşan bazı aromatik aminler sitotoksik, mutajenik ve kanserojen etkili olabilirler. Aromatik aminler halka yapısının açılması ve hidroksilasyonla aerobik ortamda mineralize olabilmektedir. Böylece boyarmadde içeren atıksuların kombine anaerobik aerobik sistemlerle arıtılması sonucu ilk basamakta etkili bir renk giderimi sağlanmakta ve anaerobik ortamda dirençli olan aromatik aminler aerobik basamakta giderilebilmektedir (O'neill vd 2000).

2.3.3.2. Aerobik arıtım

Aerobik arıtımda en sık kullanılan yöntem aktif çamur yöntemidir. Aktif çamur sistemi dengeleme, havalandırma, çöktürme ve dezenfeksiyon süreçlerinden oluşur. Aktif çamur kolloidal çözülmüş maddelerin mikroorganizmalar ile çökebilir biyolojik floklara dönüştürüldüğü süreçtir ve bu süreçte havalandırma havuzu içindeki mikroorganizmaların askıda tutulması esastır. Biyolojik arıtma ünitesi, havalandırma sonucu organik maddelerin askıda büyüyen mikroorganizmalar tarafından parçalanması prensibiyle çalışır. Mikroorganizmaların organik maddeleri oksitlemesi sonucu organik maddeler ya okside olur ya da biyokütleyle dönüşür. Gereken arıtma veriminin sağlanması için oluşan biyokütlenin bir kısmı çöktürme kademesinde fazla çamur olarak sistemden atılırken, bir kısmı havalandırma ünitesine geri verilir. Aktif çamur sürecinde bakteriler en önemli mikroorganizmalardır, çünkü organik maddelerin parçalanmasından sorumludurlar. Bu sistemde genellikle filamentli bakteriler kullanılır.

Suda iyi çözünen bazik, direkt ve bazı azo boya atıklarının olması durumunda mikroorganizmalar bu tür bileşikleri biyolojik olarak indirgeyememekle birlikte boyanın bir kısmını adsorbe ederek atıksuyun rengini almakta ve böylece renk giderimi sağlanabilmektedir. Flok halindeki bakteriyel kültür devamlı karıştırılan ve havalandırılan bir havuzda atık su ile beslenerek organik maddeler karbondioksit ve suya kadar parçalanırlar. Atıksu, mikroorganizmaların çoğalması için gerekli temel besin maddelerinden olan azot ve fosfor yönünden fakir ise bu maddeler aktif çamur sistemine eklenmek zorundadır. Organik yükü fazla olan atık sular için doğrudan aktif çamur kullanmak aşırı enerji ihtiyacından dolayı mümkün değildir. Bu durumda aktif çamur yöntemi anaerobik arıtmadan sonra ikinci kademe olarak kullanılmaktadır.

Azo boyarmaddeler gibi sentetik boyaların aerobik şartlar altında mikrobiyel parçalanmaya karşı dirençli olmasının nedeni boya malzemelerinin, kimyasal ve ışık kaynaklı oksidatif etkiler sonucu, renklerinin solmasını önleyecek şekilde üretilmeleridir. Boyarmaddelerin aerobik biyodegradasyonunu zorlaştıran diğer bir faktör ise molekül ağırlıklarının yüksek olması sebebiyle, hücre zarından geçişlerinin zor olmasıdır (Burkinshaw ve Willmott 1994).

Boyarmaddelerin aerobik olarak parçalanabileceği düşüncesi doğrultusunda yapılmış çalışmalar da mevcuttur. Odunsu bitkilerde bulunan, yapısal bir polimer olan lignini parçalayabilen ve ksenobiyotik maddelerin parçalanması amaçlı çalışmalarda yaygın olarak kullanılan beyaz çürükçül küf *Phanerochaete chrysosporium*'un, lignin peroksidaz ve manganzeze bağlı peroksidaz gibi enzimleri kullanarak, boya maddeleri parçalayabildiği bilinmektedir (Robinson vd 2001, Palma ve Paul 2004). Ancak beyaz küflerin, ligninolitik enzimlerinin düşük pH değerlerinde (pH 4.5- 5) aktif olması ve atıksularda bulunma ihtimali düşük olan tiamin ile veratril maddelerine ihtiyaç duyması gibi dezavantajları vardır (Kaptan ve Kargı 2000).

2.4. Ağır Metaller

Yoğunlukları 5 g/cm³'den yüksek olan metallerdir (Nies 1999). Çeşitli endüstrilerden, belediyelerden gelen atık suların içindeki metaller su ve toprak kirliliğinin başlıca nedenleridir. Zehirleyici özelliklerine rağmen ağır metaller taşıdıkları teknolojik önem nedeni ile endüstride geniş ölçüde kullanılırlar. Ağır metal kirliliği içeren atık sular genellikle maden endüstrileri, metal endüstrileri ve sanayi kuruluşlarında kullanılırlar.

Metaller canlıların yaşam süresinde önemli roller üstlenirler. Bazı metaller, örneğin sodyum, potasyum, kalsiyum, demir, krom canlı vücudunda belirli görevler üstlenen ve mikronutrientler olarak adlandırılan guruba girerler. Redoks tepkimelerinde kullanılırlar, elektrostatik interaksyonlarda molekülleri stabilize ederler, enzimlerin yapısal bileşeni olarak görev alırlar, osmotik basıncın düzenlenmesinde etkilidirler. Bazı metallerin ise yararlı hiçbir etkisi olmadığı gibi bazı canlı gurupları üzerinde tahribatlara, hastalıklara neden olurlar. Bu metaller, gerekli olan bazı yararlı metallerin bağlanma bölgelerinde engel oluşturarak, ligand interaksyonunu inhibe ederler. Ancak her iki guruptaki metaller de yüksek konsantrasyonlarda hücre membranına zarar verirler, enzim spesifitesini değiştirirler, hücresel fonksiyonları durdurabilirler ve DNA'nın yapısını bozabilirler. Ağır metalin yarattığı toksisite ağır metalin türünden, konsantrasyonundan, ortam pH'ından ya da metal iyonlarının çözünürlüğünden kaynaklanabilir.

Nikel (Ni) gümüüşmsü beyaz renkli sert bir metaldir. Nikel bileşikleri kolay çözünmezler. Suda çözünebilir tuzları; klorür, sülfat ve nitrattır. Nikel bileşiklerinin solunması sonucunda solunum borusunda tahribat, immunolojik değişim, alveolar hücre sayısında artış gözlenir. Deri absorpsiyonu sonucunda alerjik deri hastalıklarına yol açar. Nikel işinde çalışanlarda astım, burun ve gırtlak kanseri vakalarına rastlanmıştır. Kadmiyuma uzun süreli maruziyetten en fazla etkilenen organ böbreklerdir. Yapılan araştırmalar böbrekte biriken kadmiyumun böbrek fonksiyonlarını bozduğunu göstermiştir.

Kurşun (Pb), civa (Hg), bakır (Cu), çinko (Zn) gibi ağır metaller suda çok az miktarda bulunurlar. Bunların hepsi su hayvanları için toksiktir. Çoğu 1 ppm sınırında öldürücüdür. Kurşun farklı enzim sistemleri ile etkileşim göstermesi nedeni ile birçok organ ve sistem kurşun birikimi için odak noktayı oluşturur. Duyu ve motor sinirlerinin iletişim hızında azalmaya ve geri dönüşümü olmayan beyin hasarlarına neden olur.

Çinko (Zn) normal miktarlarda bazı enzimatik reaksiyonlar için gereklidir ve birçok proteinde yapısal element olarak bulunur. Bakır bazı enzimlerde bulunur ve pek çok omurgasızın kan proteininde solunum pigmenti halinde mevcuttur. Çinko ve bakır balıklarda aşırı salgılanmaya neden olur ve balıklara zararlı olan bazı mikroorganizmaları öldürürler. Ağır metaller balıklarda solungaç üzerine çökerler ve salgıyı pıhtılaştırırlar ve bu durumda oksijen alımını zorlaştırırlar.

2.4.1. Krom

Krom biyolojik sistemlerde bulunan en toksik ve mutajenik metal iyonudur (Hussein vd 2004). Alerjilere, yaralara, solunum yolu hastalıklarına ve egzemaya neden olabilir (Petrilli ve DeFlora 1977). Bu toksisitenin nedeni sülfat iyonu kanalları yardımıyla membranı kolayca geçebilen heksavalent krom iyonlarıdır. Membranı geçen iyonlar redüksiyon tepkimelerine katılarak çeşitli reaktif ara ürünlerin oluşmasına neden olurlar. Bu ara ürünler de hücre organellerine, proteinlere ve nükleik asitlere zarar verirler.

Krom çok farklı formlarda bulunabilmesine rağmen en yaygın ve kararlı formları, üç değerlikli krom(III) ve altı değerlikli krom(VI) türleridir. Krom(VI), krom(III)' e göre daha stabil ve 1000 kez daha toksiktir (Beszedits 1988, Morales ve Urbina 2005). Krom, çevrede doğal olarak trivalan (+3) formuyla Cr_2O_3 şeklinde bulunmaktadır (Muter vd 2002). Krom(III) yeraltı suyunda çok az çözünmekte ve toprak tarafından kuvvetlice tutunmaktadır. Krom(III)'ün çözünürlüğünün yok denecek kadar az olması, çevrede yaratacağı toksik etkiyi de en aza indirmektedir. Buna rağmen krom(VI) yüksek derecede çözünür olmakla birlikte oksijen ile birleşerek kromat (CrO_4^{2-}) veya dikromat ($Cr_2O_7^{2-}$) iyonu şeklinde bulunmaktadır. Taşınabilirliği de krom(III)'e göre çok daha fazladır. Krom(VI) çok güçlü bir oksitleyici ajandır ve organik madde varlığında krom(III)'e indirgenmektedir. Bu indirgenme asit içeren topraklarda olduğu gibi, asitli çevrelerde daha hızlı olmaktadır. Krom(VI), prokaryotik ve ökaryotik hücrelerin membranlarından kolayca geçebilmektedir (Cervantes vd 2001). Bu özellikleri ile oldukça toksiktir; insanlarda akciğer kanserine, kromat ülserine, nazal septum delinmesine ve böbrek hasarına neden olmaktadır (Bhide vd 1996, Chirwa vd 1999).

Krom(III) proteinler ve nükleik asitlerle etkileşime girebilmektedir. Krom klorür ($CrCl_3$) ile yapılan çalışmalarda, nükleik asit sentezinin başlamasında gecikme ve böylece nükleik asit içeriğinde azalma belirlenmiştir. Potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ile yapılan deneylerde de hücre bölünme süresinin uzadığı kaydedilmiştir. Potasyum dikromat, DNA sentezini fazlasıyla etkilemekte ve etkisini muhtemelen DNA polimerazı etkileyerek yapmakta, ikili sarmal DNA ile etkileşime girmektedir. İkili sarmal DNA, bazlar arasındaki H bağları ve buradaki negatif yüklü fosfatların karşılıklı olarak birbirini itme kuvveti ile kararlı formda tutulmaktadır. Krom klorürdeki Cr(III), negatif yüklü fosfat gruplarına bağlanmaktadır. Böylece negatif yüklü fosfatlar nötralize olmakta, Cr(III)'ün artırılmasıyla DNA' da bazlar arasındaki zayıf H bağları kopmakta, DNA kararlı yapısını kaybetmekte ve erime sıcaklığı düşmektedir.

2.5. Ağır Metal Arıtım Yöntemleri

Ağır metal içeren atıksuların arıtımı genelde işletmenin kapasitesine, kullanılan kimyasallara, prosese, arıtma tesisine, atık su debisine ve karakteristiklerine bağlıdır. Ağır metal iyonlarının gideriminde kullanılan klasik arıtım teknikleri yüksek kimyasal donanım giderleri ve arıtma veriminin düşük olması nedeni ile pratik ve ekonomik olmaktan çok uzaktır. Öte yandan kimyasal yöntemlerle çöktürülen ağır metal iyonlarının geri kazanımı mümkün olmayıp, oluşan çamurda başlı başına bir problemdir. Bu yüzden daha ekonomik ve pratik olan biyolojik arıtım yöntemi üzerinde çalışmalara ağırlık verilmektedir

Fiziksel arıtım işlemleri adsorbsiyon temeline dayanırken, kimyasal arıtım metal iyonunu çökebilene bir bileşik şekline dönüştürme ilkesine dayanır. Ağır metal arıtımında kullanılan bazı kimyasal yöntemler aşağıda sıralandığı gibidir.

2.5.1. Kimyasal arıtım yöntemleri

Kimyasal arıtım yöntemlerini dört başlık altında toplamak olasıdır:

- İndirgeme çökeltme
- Yükseltgeme çökeltme
- Nötralizasyon çökeltme
- İyon değişimi

İndirgeme çökeltme yöntemi: Bu yöntemle yüksek değerlikli metal iyonları çökelebilen bir şekline indirgendikten sonra nötralize edilirler. Çöktürmede karıştırma, flokülasyon, koyulaştırma ve süzme işlemleri yapılır. Bu yöntem özellikle kromlu atıkların arıtımında kullanılır.

Yükseltgeme çökeltme yöntemi: Bu yöntemde indirgenmiş metal kararlı, yükseltgenmiş ve çözünmeyen formlarına dönüştürülür. Bu yöntem özellikle demirli ve manganlı atıkların arıtımında kullanılır.

Nötralizasyon çökeltme yöntemi: Bakır, krom, çinko, nikel, demir ve kadmiyum gibi ağır metal iyonları ortama kireç, soda ve/veya NaOH katılarak nötralize edilirler, daha sonra hidroksitler halinde çöktürülerek atıksulardan uzaklaştırılırlar.

İyon değişimi yöntemi: Ağır metal iyonlarının elektrostatik kuvvet ile fonksiyonel grup halinde katı yüzey üzerinde tutularak ortamdaki farklı türdeki iyonlarla değiştirilmesi ilkesine dayanır.

2.5.2. Biyolojik arıtım yöntemleri

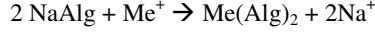
Tüm mikroorganizmaların yüzeyi çeşitli anyonik yapıların varlığından dolayı negatif yüklüdür. Bu durum mikroorganizmalara metal katyonlarına bağlanma özelliği kazandırır. Mikroorganizmaların, metal gideriminde biosorbent olarak kullanımı yüksek performans ve düşük sorban maliyeti nedeni ile cazip bir alternatif oluşturur.

Mikroorganizmalarda metal alım kinetiği 2 basamaktan oluşur. İlk basamak pasif giderim adımı alır, organizma yüzeyinde fiziksel adsorbsiyon ya da iyon değişimi ile gerçekleşir. Fiziksel adsorbsiyonda Van der Waals kuvvetleri olarak bilinen ikincil kuvvetler yüzeye tutunmayı sağlar. Adsorbsiyonun çok yaygın olan bu türünde, hemen tüm katılar adsorblayıcı olabildikleri gibi tüm sıvı ve gazlarda adsorblanan olabilirler. İyon değişiminde ise ağır metal iyonlarının elektrostatik kuvvet ile fonksiyonel grup halinde katı yüzeyine tutularak, ortamdaki farklı türdeki iyonlarla yer değiştirmesi söz konusudur. Pasif giderim basamağı çok hızlıdır ve mikroorganizma metal ile etkileştikten sonra denge oluşur (Brady ve Tobin 1995).

Mikroorganizmalar ağır metallerle hücre membranından karşılıklı taşınım, hücre duvarlarında biyosorbisyon ve hücre dışı kapsüllerle tutunma, çökeltme, kompleks oluşumu ve oksidasyon redüksiyon mekanizmalarında içerisinde bulunduğu bir dizi mekanizmayla reaksiyon verirler (Aksu ve Dönmez 2000).

Mikroorganizmanın sulu ortamdaki hücre yüzeyine metal adsorblanmasını açıklamaya çalışan çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür:

- Metal iyonları hücre yüzeyindeki negatif yüklü reaksiyon alanları ile kompleks oluşturarak veya pozitif yüklü reaksiyon alanları ile yer değiştirerek adsorblanabilirler. Bu olaya iyonik adsorbsiyon adı da verilir. Hücre duvarındaki polisakkaritler; sülfat, amino ve karboksil gurupları içerir. Algal polisakkaritlerin çoğu, örneğin kahverengi ve kırmızı deniz alglerinin yapısal bileşeni; Na^+ , K^+ , Ca^{2+} ve Mg^{2+} gibi metal katyonlarının tuzlarından oluşmaktadır. Çift değerlikli metal iyonları polisakkaritlerin aynı yüklü iyonlarıyla yer değiştirir. Kendisi de iyi bir adsorbent olan, alg yapısındaki sodyum aljinatının metal iyonu ile yer değiştirmesi aşağıdaki mekanizma ile oluşur (Tsezos ve Volesky 1981).



- Önerilen ikinci hipotez ise bazı mikroorganizmaların, hücrelerinin dış zarlarından uzanan polimerler sentezleyebildikleri, bu polimerlerin çözültiden metal iyonlarını bağlayabilme yeteneğine sahip olduklarıdır (Tsezos ve Volesky 1981, Norberg ve Persson 1984).
- Hücre duvarındaki proteinler metali bağlamak üzere aktif bölgeler oluştururlar. Ağır metallerin proteinlere karşı kuvvetli ilgisi vardır. Proteindeki peptid bağlarının azot ve oksijeni, hidroksil, amino, fosfat gibi gurupları, iyonların metal iyonlarıyla yer değiştirmesi için uygundur (Crist vd 1981, Tsezos ve Volesky 1981).
- Bazı mikroorganizmaların yüzeyinde yüksek molekül ağırlıklı polifosfatlar ya da kimyasal olarak bunlara benzeyen gruplar, metali, kompleksler halinde kendilerine bağlarlar. Örneğin *Citrobacter* sp. hücrelerinde bulunan organik fosfattan inorganik fosfatı serbest bırakan fosfataz enzimi, ağır metalin hücreye bağlı metal fosfatı olarak çökmesini sağlar (Macaskie ve Dean 1987).

Metal alımında ikinci basamak metabolik aktiviteye dayanan, daha yavaş ve aktif giderim adımı alan hücre içi giderim basamağıdır (Ting and Lawson 1991). Bu aşamada kimyasal adsorbsiyon devreye girer. Kimyasal adsorbsiyonda yüzeye tutunan parçacıklar, adsorblayan yüzeydeki fonksiyonel gruplar ile kimyasal etkileşime girerler. Kimyasal adsorbsiyon fiziksel adsorbsiyona göre daha spesifiktir, sadece bazı katılar adsorblayıcı, bazı gaz ve sıvılar da adsorblanan olabilmektedir. Bu aşamada metal iyonlarının, hücre zarından stoplazmaya geçişi sağlanır (Dursun vd 2003).

Genelde ölü organizmalarla yapılan adsorbsiyon işlemine biyosorbsiyon denir. Biyosorbsiyon aslında fiziksel ve kimyasal adsorbsiyon, iyon değişimi, kompleksleşme gibi birçok pasif giderim proseslerini adlandırmada kullanılan ortak bir terimdir (Aksu 2003). Biyosorpsiyon metabolizma bağımlı bir süreç olduğu için hem ölü hem de canlı hücrelerde gerçekleşebilir. Ölü ve canlı hücrelerin metal alabilme kapasiteleri karşılaştırıldığında çoğu durumda organizmanın iyon adsorblama yeteneğinin ölü durumda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ölü organizmalar sorbent olarak kullanıldığında rejenere edilip yeniden kullanılmaları da mümkün olmaktadır. Bu yöntemle sürekli olarak geniş hacimli atıklar arıtılabilir. Öte yandan bazı öldürme tekniklerinin biyokütlenin biyosorbsiyon kapasitesini arttırdığı da kanıtlanmıştır (Brady ve Tobin 1995). Biyosorbsiyonun bazı avantajları:

- Biyomas tekrar kullanılabilir.
- Toksikiteden etkilenmeksizin ağır metal giderimi yapılabilir.
- Kısa sürede sonuç alınabilir.
- Belki toksik olabilecek ikincil atıkların oluşması engellenebilir.

Biyosorbsiyon yapabilen hücreler ağır metallerin etkilerinden korunmak için bazı mekanizmalar geliştirmişlerdir, bu mekanizmalar aşağıdaki gibidir (Bruins vd 1999).

- Metalin hücre içine alınmaması: Hücre duvarında, zarda veya duvar proteinlerinde meydana gelen değişimler metalin hücreye girişini engeller. *E. coli*' deki porin denilen zar proteinlerinin yapısının değişmesi ile birlikte bakırın hücre içine alınmaması buna örnek olarak gösterilebilir. Bu durum sıklıkla tek gen mutasyonu ile açıklanmaktadır. Bu mutasyonla zarın geçirgenliği azalır. Ayrıca metallerin dış zara veya hücre proteinlerine spesifik olmayan şekilde bağlanması da geçirgenliği azaltır. Bakterilerin doğal olarak bulundukları ekstrasellüler polisakkarit kısım metal iyonlarını biyolojik olarak tutmakta ve onları hücre bileşenleri ile etkileşimden korumaktadır.
- Metallerin hücreden aktif olarak taşınması: Metaller aktif taşıma yoluyla hücre dışına pompalanırlar, bu mekanizma plazmit veya kromozom kökenli olabilir. Dışarı pompalama sistemi ATP'ye bağımlı ve ATP' den bağımsız olarak gerçekleşir. ATP bağımlı sistemlerde hidrolizle enerji elde edilirken, ATP'

den bağımsız sistemlerde zar potansiyeli metal geçişi için kullanılır. Örneğin *E. coli*'de Ar ATP bağımlı sistemle pompalanırken, *Staphylococcus aureus*'da Ar, zar potansiyeli yardımıyla geçer.

- Metalin proteinlere bağlanması ile hücre içinde tutulması: Bu mekanizma ile ağır metallerin hücre içinde bir yerde birikmesi sağlanırken, hücresel organellerle etkileşmesi önlenir.
- Metallerin hücre dışında tutulması: *Saccharomyces cerevisia* büyük miktarda glutasyonu boşaltarak Ni adsorbsiyonunu azaltır. Mayanın taşıdığı metilglioksal geni metallerin yoğun olduğu bölgelerde ekstrasellüler glutasyon maddesi oluşturur. Toksik metal bu komplekslere tutunur ve hücreye giremez. Funguslarda Cu direnci sağlanırken metal oksalat kompleksleri oluşturmak üzere hücre dışına oksalat salgılandığı ispatlanmıştır.
- Metalin daha az toksik forma dönüştürülmesi: Bu sistem hücre içinde ve enzimatik yollarla gerçekleşir. Direnç gram negatif ve gram pozitiflerde benzer genler tarafından sağlanır. *Bacillus cereus RC607* suşundaki direnç ile ilgili olan mer A geninin *Clostridium butiricum*'daki mer A genleri ile nükleotit sekanslarının benzerliği %76.8'den %100'e kadar değişmektedir. Mer A genleri plazmit veya kromozom kökenli olabilirler.

Biyobirikim sadece canlı hücrelerle gerçekleşen adsorbsiyon işlemidir. Biyobirikimde metaller membran içinde veya dışında çökme, kompleksleşme gibi bir takım yüzey reaksiyonları ile tutunurlar. Canlı hücrelerin kullanılması biyosorbsiyonda uygulanan bazı yöntemlerin kullanılmasını gerektirmez, dolayısıyla daha pratik bir yöntemdir. Ancak hücrelerin devamlı gelişmesi sağlanmalıdır (Preetha ve Viruthagari 2006). Atıksularda yer alan ve klasik yöntemlerle arıtılamayan maddelere karşı direnci fazla olan mikroorganizmaların bu kirleticileri hücre yapısına alarak biriktirme yeteneğinden yararlanması temeline dayanan bir yöntemdir. Genellikle arıtım yapay besin ortamlarında gerçekleşir. Böylelikle bu tür atıksularda gelişip üreyebilen mikroorganizmaların üreme verimi artırılır, dolayısıyla bünyelerinde biriktirdikleri kirlenici derişimi artar (Aksu 2003).

2.6. Mikroorganizmalarla yapılan biyobirikim ve biyosorbsiyon çalışmaları

Thacker vd (2006) tarafından yapılan çalışmada kimyasal endüstri bölgelerinden izole edilen bir bakteri biyokimyasal metodlar ve 16S rRNA analizi ile teşhis edilerek *Providencia sp.* olduğu tanımlandı. Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC) için yapılan çalışma sonucu bakteriyel izolatın gelişebildiği $K_2Cr_2O_7$ miktarı 1000 ppm olarak tespit edildi. Besiyeri pH'ı 7 olarak ayarlanan ve 37 °C'de gerçekleştirilen denemelerde bakteriyel izolatın 100- 300 ppm başlangıç krom(VI) konsantrasyonunda gelişebildiği ve ortamdaki kromu %100 indirgediği tespit edildi. 400 ppm krom(VI) konsantrasyonunda ise krom indirgemesi %99.31 olarak bulundu. *Providencia sp.*'nin krom(VI) yanında Ni, Zn, Hg, Pb ve Co bulunan ortamlarda da gelişebildiği görüldü. Yapılan çalışmalar sonucu bakteriyel izolatın spesifik çevre temizleme işlemlerinde kullanılabileceği sonucuna varıldı.

Sadettin ve Dönmez (2005) tarafından yapılan çalışmada, sıcak su bölgelerinden izole edilen ve BG 11 besiyeri ortamında geliştirilen siyanobakteri suşları, maksimum biyobirikim için gerekli olan optimum koşulları saptamak amacı ile termofilik ortamda kesikli reaktörde araştırılmıştır. *Synechococcus sp.* ve *Phormidium sp.* ile yapılan deneylerde optimum pH değeri, 25 ppm başlangıç boya konsantrasyonunda Remazol Blue ve Reactive Black B için 8.5, Beactive Red RB için 9.5 olarak tespit edilmiştir. Termofilik siyanobakteriler, her boyanın optimum pH'ında, 45 °C'de, 10 ppm ve 78 ppm başlangıç boya konsantrasyonlarında araştırılmıştır. Deneyler sonucunda *Phormidium sp.*'nin *Synechococcus sp.*'den daha yüksek oranda boya biyobirikimi yaptığı gözlenmiştir. *Phormidium sp.* ye ait boya alım değerleri deneyler süresince %13'den %97'ye ulaşmıştır. *Synechococcus sp.* ile yapılan deneylerde ise bu değer denenen tüm boya konsantrasyonlarında %8'den %66'ya çıkabilmiştir. Aynı çalışma da sıcaklığın boya biyobirikimi üzerine etkisi de araştırılmıştır. 40 °C'de *Synechococcus sp.* için maksimum boya alım yüzdesi; 78.3 ppm Reactive Red RB için %23, 72.4 ppm Remazol Blue için %39.9 ve 62.0 ppm Reactive Black B konsantrasyonu için %13.7 olarak kaydedilmiştir. Aynı sıcaklık altında ve 75 ppm'lik başlangıç boya konsantrasyonunda *Phormidium sp.* için bu değerler %38.5 ve %40.7 arasında değişmiştir. Sıcaklık

yükseltildiğinde (50 °C) *Phormidium* sp'nin kuru ağırlığı ve biyobirikim yüzdesi *Synechococcus* sp.'den yüksek bulunmuştur.

Bir başka çalışmada Kadukova ve Vircikova (2005) Cu biyobirikimi ve biyosorbsiyonu arasındaki farkları araştırmak için yaptıkları çalışmada alg hücrelerini kullanmış, biyosorbsiyonun biyobirikimden daha avantajlı olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Bakırın canlı alg yüzeylerinde hasara neden olduğu ve bakırla muamele sonucu hücre yüzeyindeki bağlanma bölgelerinin kısmi kaybı sonucu, biriktirilen bakırın tekrar solüsyona bırakıldığı tespit edilmiştir. Ölü hücrelerin bakıra bağlanma kapasitelerinin yaşayan hücrelere oranla daha yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.

Koçberber ve Dönmez (2006) farklı pH değerlerinin, farklı NaCl ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık mikrobiyel kültürün krom(VI) biyobirikim kapasitesi üzerine etkilerini araştırmışlardır. 25 ppm başlangıç krom(VI) konsantrasyonunda, test edilen tüm pH değerlerinde ve NaCl konsantrasyonlarında, karışık mikrobiyel kültürün biyobirikim yüzdesi 5 günlük inkübasyon süresi sonucunda %95- 99 aralığında hesaplanmıştır. Optimum pH değeri 25 ppm başlangıç krom(VI) konsantrasyonunda; %2 ve %4 NaCl konsantrasyonu için 7, %6 NaCl konsantrasyonu için 9 ve NaCl içermeyen ortam için 8 olarak belirlenmiştir. Test edilen tüm NaCl konsantrasyonlarında, karışık mikrobiyel kültürün biyobirikim kapasitesi, 10-150 ppm aralığında değişen krom(VI) konsantrasyonlarında araştırılmıştır. Deneyle sonucunda en yüksek spesifik krom alımı pH 8'de NaCl içermeyen ortamda, 164.4 ppm başlangıç krom(VI) konsantrasyonunda, 109.45 ppm olarak bulunmuştur. En yüksek NaCl konsantrasyonunda maksimum spesifik krom alımı, düşük krom(VI) konsantrasyonunda ve pH 9'da 26.2 mg g⁻¹ olarak hesaplanırken daha yüksek krom konsantrasyonlarında pH 7'de 87.5 mg g⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar karışık kültürün tuzlu ve alkali atıksuların biyolojik arıtımında, aktif çamur işleme süreçlerinde kullanılmak üzere faydalı olacağını göstermiştir

Aksu (2003) yaptığı çalışmada melaslı ortamda geliştirilen *Saccharomyces cerevisia*'nın gelişme ve boya biyobirikim özelliklerini araştırmıştır.. Çalışmada Remazol Blue, Remazol Black B ve Remazol Red RB olmak üzere üç diazo reaktif tekstil boyası kullanmıştır. Tüm boya tipleri için optimum pH değeri 3 olarak tespit edilmiştir. *Saccharomyces cerevisia*'nın maksimum boya birikimi Remazol Blue için 84.46 ppm, Remazol Black B için 88.5 ppm ve Remazol Red RB için 48.8 ppm olarak belirlenmiştir. Tüm boyaların daha düşük konsantrasyonlarında, biyobirikim oranının yükseldiği gözlenmiştir. Genel olarak artan boya konsantrasyonu, mayanın gelişmesini inhibe etmiş ve lag fazının uzamasına neden olmuştur. *Saccharomyces cerevisia* tarafından yapılan biyobirikim oranı, Remazol Black B boyasında diğer boyalara nazaran daha yüksek çıkmıştır.

Srinath vd (2002) krom(VI) biyobirikimi ile ilgili yaptıkları çalışmalarında deri sanayii atıksularından örnekler olarak 50 ppm krom(VI) içeren nutrient agar besiyerine ekim yapmışlardır. İnkübasyon süresi sonunda morfolojik olarak birbirinden farklı 71 adet saf kültür elde edilmiştir. Bu izolatları MIC (minimal inhibisyon konsantrasyonu) testi uygulanarak, besiyerinde hiçbir koloninin gelişmediği krom(VI) değerini bulmak için kültürler, krom(VI) konsantrasyonu 50-200 ppm aralığında değişen nutrient agar besiyerlerine ekilmiştir. Birçok izolat 100 ppm'den daha az konsantrasyonda gelişebilmiştir. Yalnızca 11 izolat yüksek krom(VI) konsantrasyonuna direnç gösterebilmiştir. Mikroorganizmaların krom(VI) alımını belirlemek amacıyla pepton içeren besiyeri kullanılmıştır. Besiyeri pH'ı 4'e ve krom(VI) konsantrasyonları 0, 25, 50, 100 ve 150 ppm olarak ayarlanmıştır. Hazırlanan ortamlar bakteri aşılıdıktan sonra 150 rpm' de 28 °C' de 24 saat boyunca çalkalanmıştır. Krom(VI)'ya dirençli bakterilerin birçoğunun 10 ppm krom(VI) 'dan daha az krom(VI) aldığı görülmüştür. Aynı çalışmada H ve A olarak adlandırılan ve MIC testinde 130 ve 170 ppm krom(VI) konsantrasyonuna dirençli olan 2 suş daha izole edilmiştir. Bu suşların farklı başlangıç krom(VI) konsantrasyonunda 24 saatte biriktirebildikleri krom(VI) miktarları belirlenmiştir. H suşunun 25 ve 30 ppm krom(VI) varlığında 33.1 ve 34.5 mg/g krom(VI), A suşunun ise 30.6 ve 32.0 mg/g krom(VI) biyobirikimi yaptığı bulunmuştur. Fizyolojik ve biyokimyasal testler sonucunda A, H ve 181 suşlarının sırasıyla *Bacillus megaterium*, *Bacillus circulans* ve *Bacillus coagulans* türünün özelliklerini gösterdiği belirlenmiştir.

Dursun vd (2003) farklı başlangıç metal iyonu konsantrasyonlarının (Cu(II), Pb(II), Cr(VI)) *Aspergillus niger*'in gelişme ve biyobirikim özellikleri üstündeki etkilerini araştırmıştır. Gelişme ve metal iyonu biyobirikimi için optimum pH değerleri bakır için 5, kurşun için 4.5 ve krom için 3.5 olarak bulunmuştur. Mikroorganizmanın spesifik büyüme oranının ve metal alım yeteneğinin artan pH değerlerinde arttığı görülmüştür.(5.0 ve 4.5) Gelişme ve biyobirikim üzerindeki en önemli etkiyi krom(VI) iyonlarının yaptığı ve

pH 3.5 iken neredeyse hiçbir gelişme gözlenmediği tespit edildi ve bu pH' da spesifik krom(VI) alımı 6.6 mg g^{-1} olarak bulundu. En yüksek ve en düşük pH' larda önemli değişimler gözlenmedi. Aynı çalışmada *Aspergillus niger* hücrelerinin neredeyse tüm krom(VI) konsantrasyonlarına duyarlı olduğunu gösterildi. Krom konsantrasyonu 25 mg dm^{-3} 'den 50 mg dm^{-3} 'e yükselince gelişme oranında önemli bir düşüş olduğu tespit edildi($0,075$ 'den $0,039 \text{ h}^{-1}$). Maksimum krom(VI) alım kapasitesi 50 mg dm^{-3} 'de 6.6 mg g^{-1} olarak hesaplandı ve bu konsantrasyondaki izolatta önemli bir mikrobiyel aktivite ve krom(VI) alımı görülmedi. Bhide vd (1996) deri işleme tesisleri atıksularından (pH 8) izole ettikleri *Pseudomonas mendocina* isimli bakteriyi melaslı besiyerinde geliştirmiştir. Besiyeri pH'ı 5.5' den 10,5'a kadar ve kromat konsantrasyonları 0.5 ppm krom(III)'dan 40 ppm krom(III)'a kadar değişen farklı değerlerde ayarlanmıştır. Sıcaklığın kromat indirgenmesine etkisini tespit etmek amacıyla pH'ı 7.5 olan besiyerinin sıcaklığı $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'den $45 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye artırılmıştır. 30 ppm kromata dirençli olan *P.mendocina*'nın kesikli reaktör çalışmalarında 18 saat $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de yapılan inkübasyondan sonra, 150 ppm kromatı 0.1 ppm'den daha az bir değere indirgediği gözlenmiştir. Kromat indirgemesi için optimum pH 6.6- 9.5 arasında ve optimum sıcaklık ise 25- 30 $^{\circ}\text{C}$ olarak belirlenmiştir.

Bunların dışında boya ve krom(VI) giderimi ile ilgili yapılan çalışmalarda kullanılan bazı mikroorganizmalar, gelişebildikleri boya veya krom(VI) konsantrasyonları ve hangi şekilde giderim yaptıkları çizelge 2.1' de karşılaştırılmıştır.

Aksu ve Dönmez (2003) tarafından yapılan, biyosorbisyonla boyarmadde giderim çalışmalarında *Candida tropicalis* ve *Candida lipolytica* türlerinin yaklaşık 400 ppm Remazol blue boyarmaddesi içeren ortamda gelişebildikleri gözlenmiştir. Şahin ve Öztürk (2004) *Bacillus thuringiensis* türünün 250 ppm krom(VI) içeren besiyeri ortamında gelişebildiğini ve biyosorbisyonla ortamdaki krom(VI) 'yı giderebildiğini göstermişlerdir. Koçberber ve Dönmez (2006) ise krom(VI) giderim çalışmalarında karışık kültür kullanmışlardır. Karışık kültürün hem 194.5 ppm krom(VI) içeren ortamda gelişme göstermiş hem de biyobirikim yolu ile krom(VI) alımı gerçekleştirmiştir.

Aspergillus flavus ile yapılan biyobirikim çalışmalarında (Vala vd 2004) izolatanın 25-100 ppm konsantrasyon aralığında krom(VI) içeren besiyerinde gelişebildiği gözlenirken, *Trichoderma viride* 'nin 3.2 g l^{-1} krom(VI) konsantrasyonunun üstünde gelişme göstermediği belirtilmiştir(Morales ve Urbina 2005).

Aksu (2003) *Saccharomyces cerevisia* 'da biyobirikim yolu ile reaktif boyarmaddelerin giderimi üzerine çalışmalar yapmıştır. Remazol Black B, Remazol Blue ve Remazol Red RB olmak üzere üç farklı reaktif boya kullanarak sürdürdüğü çalışmalarda *S. cerevisia*'nın bu boyaların sırasıyla 88.5 ppm, 84.6 ppm ve 48.8 ppm konsantrasyonlarında gelişebildiğini belirtmiştir.

Çizelge 2.1. Boya veya krom gideriminde kullanılan bazı mikroorganizmalar, geliştikleride krom(VI)/boya konsantrasyonları ve giderim mekanizmaları

Mikroorganizma	Boya/krom(VI) konsantrasyonları	Biyobirikim/Biyosorbsiyon	pH
<i>Eichornia crassipes</i> (Mohanty vd 2005)	10 mg l ⁻¹ krom(VI)	Biyosorbsiyon	1-5
<i>Bacillus coagulans</i> (Srinath vd 2002)	26 mg l ⁻¹ krom(VI)	Biyobirikim	7.0
<i>Bacillus thuringiensis</i> (Şahin ve Öztürk 2004)	250 mg l ⁻¹ krom(VI)	Biyosorbsiyon	2
<i>Synechococcus sp</i> (Sadettin ve Donmez 2005)	78.3 mg l ⁻¹ Reactive Red B	Biyobirikim	8.5-9.5
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Aksu 2003)	88.5 mg l ⁻¹ Reactve Black 84.6 mg l ⁻¹ Remazol Blue 48.8 mg l ⁻¹ Remazol Red	Biyobirikim	3
<i>Karışık kültür</i> (Koçberber ve Donmez 2006)	194.5 mg l ⁻¹ krom(VI)	Biyobirikim	9
<i>Candida. lipolytica</i> <i>Candida. tropicalis</i> (Aksu ve Donmez 2003)	400 mg l ⁻¹ Remazol Blue	Biyosorbsiyon	2
<i>Aspergillus flavus</i> (Vala. vd 2004)	25-100 mg l ⁻¹ krom(VI)	Biyobirikim	-
<i>Trichoderma viride</i> (Morales ve Urbina 2005)	2.8-3.2 g l ⁻¹ krom(VI)	Biyosorbsiyon	-

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

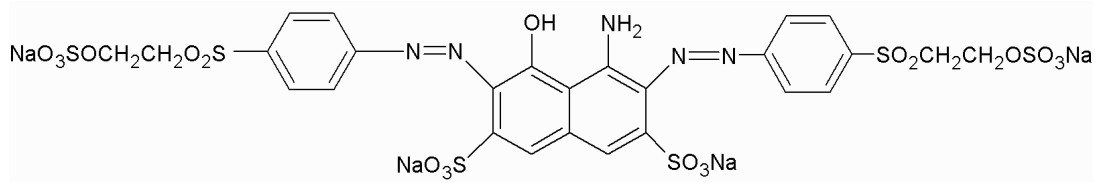
3.1.1. Atıksu

Çalışmada Sepiciler Deri Fabrikası'ndan (İzmir, Türkiye) alınan atıksu örnekleri mikroorganizma kaynağı olarak kullanılmıştır.

3.1.2. Reactive Black B ve Krom(VI) çözeltileri

Saf ve toz halde bulunan Reactive Black B tekstil boyası, Aytemizler Tekstil Fabrikası'ndan (Ankara, Türkiye) alınmıştır. Boyanın stok solüsyonu, konsantrasyon %2 (w/v) olacak şekilde, distile su içinde çözülmesi ile elde edilmiştir. Boyanın kimyasal yapısı şekil 3.1' de gösterilmiştir.

Krom(VI) stok solüsyonu ise 10g/l olacak şekilde $K_2Cr_2O_7$ (Merck) maddesinden gerekli seyreltmeler yapılarak elde edilmiştir.



Şekil 3.1. Reactive Black B' nin kimyasal yapısı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Karışık mikrobiyel kültür eldesi

Karışık mikrobiyel kültür elde etmek amacıyla, yaklaşık olarak 35 ppm RBB ve 50 ppm krom(VI) içeren melaslı sıvı besiyerleri, 50 ml' lik erlenlere 20' şer ml olacak şekilde hazırlanmıştır. Atıksu pH derecesi yaklaşık 8 olduğu için besiyeri pH' ı da bu değere ayarlanmış ve ortamlar atıksu örneklerinden 1 ml ile aşılılarak 30 °C' de inkübe edilmiştir Bu şekilde hazırlanan karışık kültürler, yatık melaslı agarda, +4 °C' de muhafaza edilmiş ve her 3 ayda bir yenilenmiştir.

Melaslı besiyerinin bileşimi (Dönmez 2001).

Bileşen	Miktar (g/l)
---------	--------------

(NH ₄) ₂ SO ₄		1.0
KH ₂ PO ₄	0.5	
Melas		80 ml

3.2.2. Saf kültür eldesi

Geliştirilen karışık mikrobiyel kültürden 0.1 ml alınarak, 100 ppm RBB ve 100 ppm krom(VI) içeren, pH' ı 8'e ayarlanmış melaslı agara (%1.5 w/v) çizgi ekim yapılmıştır. İki günlük inkübasyon süresinden sonra (30 °C), gelişen kültürlerden tek koloniler elde edilmiş ve bunların saflık kontrolleri tekrar aynı besiyerlerine ekilerek yapılmıştır. Elde edilen saf kültürler, yatak melaslı agarda, +4 °C' de muhafaza edilmiş ve her 3 ayda bir yenilenmiştir.

3.2.3. Karışık mikrobiyel kültürle yapılan biyobirikim çalışmaları

Karışık mikrobiyel kültürün melaslı besiyerinde farklı pH değerlerindeki biyobirikim kapasitesinin belirlenmesi amacıyla, yaklaşık olarak 50 ppm RBB ve 50 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyerleri hazırlanmıştır. Besiyerlerinin pH dereceleri, 0.1 M NaOH ve 0.1 M HCl kullanılarak, 6, 7, 8 ve 9 olmak üzere dört farklı değere ayarlanmıştır. Hazırlanan besiyerlerine iki kez aktifleştirilmiş karışık mikrobiyel kültürden 1 ml inoküle edilmiştir.

Optimum pH' ın belirlenmesinden sonra karışık kültürün krom içermeyen boyalı besiyerlerinde (47.1- 103.1 ppm RBB) ve RBB içermeyen kromlu besiyerlerindeki (23.8-117.1 ppm krom(VI)) biyobirikim kapasitesi belirlenmiştir. Denemelerde 50 ppm RBB ve 25- 100 ppm krom(VI) ile 100 ppm RBB ve 25-100 ppm krom(VI) içeren besiyerlerine karışık kültürler ekilerek, her iki kirleticinin aynı anda karışık kültürlerin biyobirikim kapasitelerine etkileri de araştırılmıştır.

Biyobirikim çalışmaları, 250 ml' lik erlenlerdeki 100 ml' lik besiyerlerinde 30 °C' de ve 100 rpm karıştırma hızındaki çalkalayıcıda (New Brunswick Scientific Innova 4230) 7 gün boyunca gerçekleştirilmiştir. Denemeler üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4.Saf kültürlerle yapılan biyobirikim çalışmaları

Karışık kültürlerden elde edilen saf kültürler pH'ı 8' e ayarlanan, 25 ppm RBB ve 30 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyerlerinde geliştirilmiştir. Hazırlanan besiyerlerine melaslı agar ortamında geliştirilen kültürlerden öze ile ekim yapılmış ve dört gün inkübasyona bırakılmıştır. Yüksek kapasite ile biyobirikim yapan bir izolat için yaklaşık 50 ppm RBB ve 25- 100 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyerleri hazırlanmıştır. Bu besiyerlerinde iki kez aktifleştirilmiş kültürlerin 1 ml' si ile inoküle edilen erlenler 7 gün boyunca, inkübe edilmiştir. Denemeler üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Bakteriyel ortaklıkla yapılan biyobirikim çalışmaları

Elde edilen saf kolonilerden yüksek kapasite ile RBB ve krom(VI) biyobirikimi yapan 3 tanesi seçilerek bakteriyel ortaklık olarak adlandırılmıştır. Kullanılan ortaklığın yüksek konsantrasyonda RBB ve krom(VI)

içeren besiyerlerindeki biyobirikim kapasiteleri hem erlenlerde hem de fermentörde kesikli olarak çalışılmıştır.

Erlenlerde yapılan biyobirikim çalışmaları, yaklaşık 100 ppm RBB ve artan krom(VI) konsantrasyonlarında (19.9- 127.6 ppm) hazırlanan besiyerlerinde gerçekleştirilmiştir. Besiyerlerine iki kez aktifleştirilmiş bakteriyel ortaklıktan 1' er ml ekim yapılmış ve erlenler yedi gün inkübasyona bırakılmıştır. Denemeler üç paralel olarak gerçekleştirilmiştir.

Fermentörde (Braun Biostat BC) yapılan biyobirikim çalışmaları pH'ı 8 olan 2 l melaslı besiyerinde 20 ml aktifleştirilmiş kültür inoküle edilerek 30 °C' de ve 100 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca (7 gün) örnekler günlük olarak alınarak RBB ve krom(VI) analizleri yapılmıştır.

3.2.6. Analiz yöntemleri

3.2.6.1 Optik yoğunluğun belirlenmesi (OD)

İnkübasyon süresi boyunca erlenlerden belirli zaman aralıklarında alınan örnekler, 5000 rpm de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Çökelti fizyolojik tuzlu su ile yıkanmış ve gerekli seyreltmeler yapılarak optik yoğunluk, 540 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak belirlenmiştir.

3.2.6.2. Kuru ağırlığın belirlenmesi

Optik yoğunluğu tespit edilmiş örnekler, boş ağırlığı alınmış alüminyum folyolara alınarak etüvde (Nüve FN 400) 100 °C' de 12 saat kurutulmuş ve tartılmıştır.

3.2.6.3. RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının belirlenmesi

Krom analizi krom(VI)' nın sülfürik asit içeren ortamda difenilkarbazid ile verdiği renkli bileşiklerden yararlanılarak spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. Reaksiyonda kullanılan difenilkarbazid solüsyonu 0.25 g difenilkarbazidin 100 ml etil alkolde (%95) çözülmesi ile hazırlanmıştır.

İnkübasyon sırasında belirli zamanlarda alınan örnekler, 5000 rpm de 5 dakika santrifüjlendikten sonra sıvı kısım, besiyerinde kalan krom ve boyanın analizi için kullanılmıştır. Krom(VI) analizi için, sıvı kısımdan 1 ml, %20' lik H₂SO₄' den 3.3 ml ve difenilkarbazid solüsyonundan ise 1 ml alınarak yapılan karışım, distile su ile 100 ml' ye tamamlanmıştır. Ölçümler spektrofotometrik olarak 540 nm' de gerçekleştirilmiştir. RBB analizi ise direk olarak sıvı kısmın alınıp gerekli seyreltmeler yapılarak 590 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesi ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.7. Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan kısaltmalar

C₀: Başlangıç krom(VI) veya RBB konsantrasyonu (ppm).

C_{byb}: Mikroorganizmaların ortamdaki uzaklaştırdığı krom(VI) veya RBB miktarı (ppm).

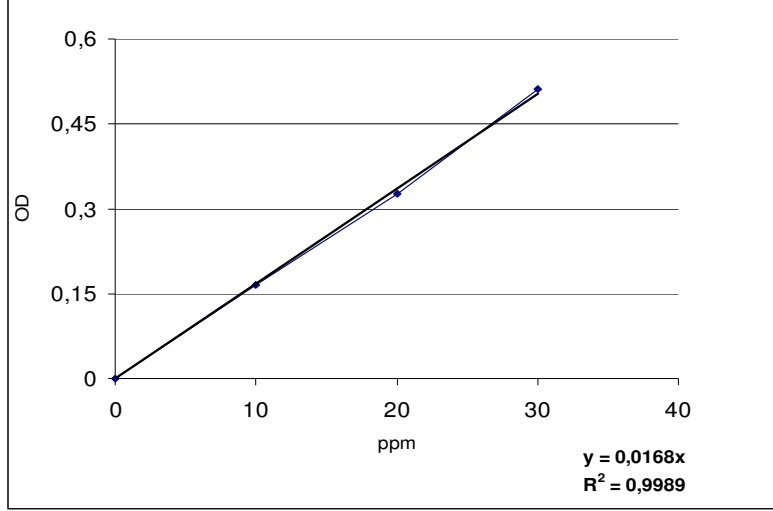
% Biyobirikim: Biyobirikim verimi.

$$\% \text{ Biyobirikim} = C_{byb}/C_0 \times 100$$

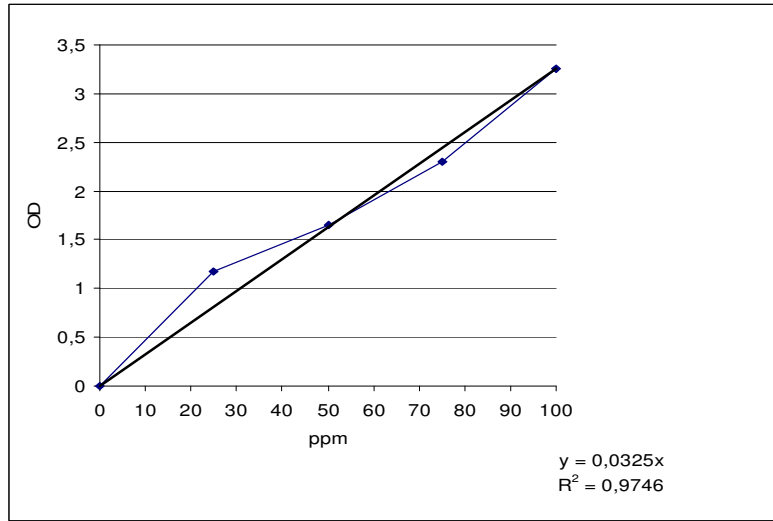
q_m : Mikrobiyel kütlenin gramı başına biriktirilen krom(VI) veya RBB derişimi (mg/g).

$$q_m: C_{byb}/X$$

X: Mikroorganizmaların kuru ağırlığı (g/l).



Şekil 3.2. Krom(VI) standardı



Şekil 3.3. RBB (Reactive Black B) standardı

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Boyarmadde ve ağır metal gibi kirleticileri içeren atıksuların biyolojik olarak arıtılmalarında, bu maddelerin mikroorganizmalara toksik etki yapması nedeniyle çeşitli sorunlarla karşılaşmaktadır. Tekstil ve deri endüstrisi atıksularının hem renkli atıklar olması, bunun yanında krom(VI) gibi bir ağır metali de içermesi biyolojik arıtım işlemini zorlaştırmaktadır. Planlanan tez çalışmasında, hem boyarmadde hem de krom(VI) içeren atıksuların biyobirikim yöntemi ile arıtımında kullanılmak üzere mikrobiyel biyokütle elde edilmesi amaçlanmıştır. RBB ve krom(VI) içeren atıksuların bulunduğu ortamdan alınan atıksu örnekleri melaslı besiyerlerinde geliştirilmiştir. Çalışmada, büyük çaptaki üimlerde maliyeti düşürmek amacıyla şeker fabrikası atığı olan melas kullanılmıştır.

Denemelerde elde edilen karışık kültürlerle farklı boyarmadde ve krom(VI) konsantrasyonlarında çalışmalar yapılmış ve kültürlerin geliştiği optimum pH değeri belirlenmiştir. Daha sonra karışık kültür içindeki farklı bakteriler izole edilerek bunlar tek tek ve birlik halinde biyobirikim çalışmalarında kullanılmıştır. Bakteriye ortaklıkla farklı başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında, erlenlerde ve fermentörde (Braun Biostat BC) kesikli sistemle biyobirikim çalışmaları yapılmıştır.

4.1. Karışık Kültürle Yapılan Çalışmalar

4.1.1. Başlangıç pH değerinin karışık kültürün RBB ve krom(VI) biyobirikimine etkisi

Biyobirikim çalışmalarını doğrudan etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi ortamın pH derecesidir. RBB ve krom(VI) biyobirikiminin en verimli şekilde yapıldığı pH değerini araştırmak amacıyla, yaklaşık 35 ppm RBB ve 50 ppm krom(VI) içeren, farklı pH değerlerinde (6, 7, 8 ve 9) hazırlanmış melaslı besiyerlerine aynı ortamlarda üç kez aktiveleştirilen karışık kültürden ekim yapılmıştır. İnkübasyon süresi sonucunda besiyerindeki kirleticiler için elde edilen biyobirikim verim değerleri çizelge 4.1' de gösterilmiştir. Karışık mikrobiyel kültür ile elde edilen en düşük RBB ve krom(VI) biyobirikim verimi pH 6'da; en yüksek verim ise pH 8' de elde edilmiştir. Buna göre, 58.0 ppm krom(VI) ve 33.2 ppm Reactive Black B içeren melaslı besiyerindeki krom(VI) %97.4, RBB ise %81.0 verimle ortamdan uzaklaştırılmıştır. Dolayısıyla optimum pH derecesi 8 olarak bulunmuş ve daha sonra yapılan denemelerde de bu pH'da hazırlanan ortamlar kullanılmıştır.

Çizelge 4.1. Başlangıç pH değerlerinin karışık kültürün maksimum RBB ve krom(VI) biyobirikimi üzerine etkisi

pH	krom(VI)			Reactive Black B		
	C _o	C _{byb}	%B	C _o	C _{byb}	%B
6	47.3	15.0	31.7	38.3	1.0	2.6
7	47.3	45.5	96.2	36.6	26.3	72
8	58.0	56.5	97.4	33.2	26.9	81
9	52.7	51.1	97.0	35.0	26.1	75

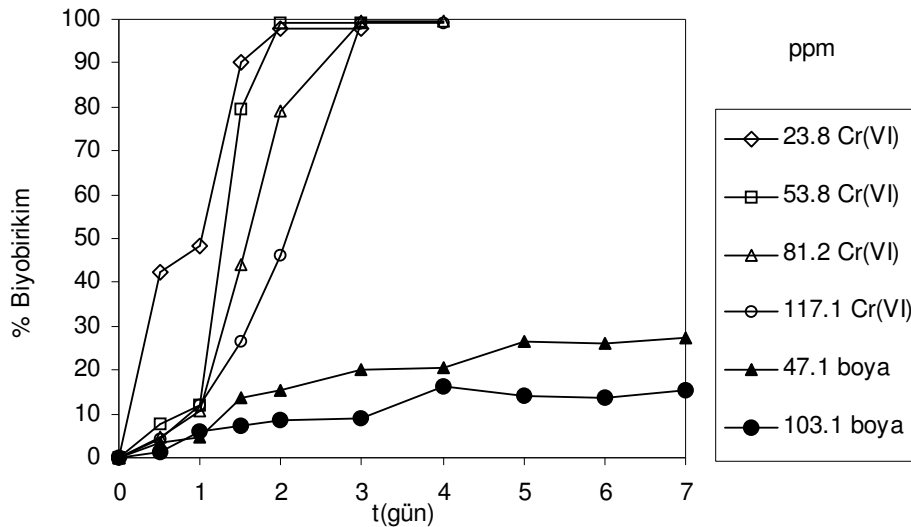
4.1.2 Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık mikrobiyel kültürün biyobirikimine etkisi

Besiyerinde kullanılan başlangıç boya ve krom(VI) konsantrasyonları, biyobirikimi etkileyen önemli faktörlerdir. Bu faktörlerin etkilerini araştırmak için kültürler önceden belirlenen pH değerinde (8) yaklaşık 50-100 ppm RBB ve yaklaşık 25-100 ppm aralığında krom(VI) içeren melaslı besiyerlerinde geliştirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan besiyerlerine 3 kez aktiveleştirilmiş kültürden 1 ml ekilmiştir. Besiyerinde RBB ve krom(VI) arasında herhangi bir reaksiyon olup olmadığını gözlemlemek için mikroorganizma aşlanmamış, sadece RBB ve krom(VI) içeren melaslı besiyerleri de hazırlanmıştır.

4.1.3. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık mikrobiyel kültürün biyobirikimine tekli etkisi

Başlangıç RBB konsantrasyonunun bu kirleticinin biyobirikimine etkisini belirlemek için RBB konsantrasyonu 47.1 ve 103.1 ppm olan, krom(VI) içermeyen melaslı besiyerleri kullanılmıştır. Şekil 4.1' de artan RBB konsantrasyonunun karışık kültürün yaptığı RBB biyobirikimine etkisi gösterilmiştir. Bu ortamda karışık mikrobiyel kütle ile elde edilen en yüksek RBB biyobirikimi 47.1 ppm RBB varlığında %27.2 olarak gerçekleşmiştir. Karışık mikrobiyel kültür, artan RBB konsantrasyonundan olumsuz yönde etkilenmiş ve biyobirikim kapasitesi 7 günlük inkübasyon periyodu sonucunda %15.2' ye düşmüştür.

Karışık kültürün RBB içermeyen, fakat artan krom(VI) konsantrasyonlarını içeren (23.8, 53.8, 81.2 ve 117.1 ppm) melaslı besiyerlerindeki krom(VI) biyobirikim kapasiteleri de şekil 4.1 de gösterilmiştir. Test edilen tüm krom(VI) konsantrasyonlarında krom(VI) biyobirikim kapasitelerinin yaklaşık %100 verimle gerçekleştiği gözlenmiştir. Düşük krom(VI) konsantrasyonlarında (23.8 ve 53.8 ppm) ilk 2 günde, yüksek krom(VI) konsantrasyonlarında (81.2 ve 117.1 ppm) ise ilk 3 günde ortamdaki krom(VI)'nın neredeyse tamamının çok hızlı bir şekilde biyobiriktilendiği görülmüştür. En yüksek verim, 81.2 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyerinde %99.4 verimle gerçekleşmiştir.



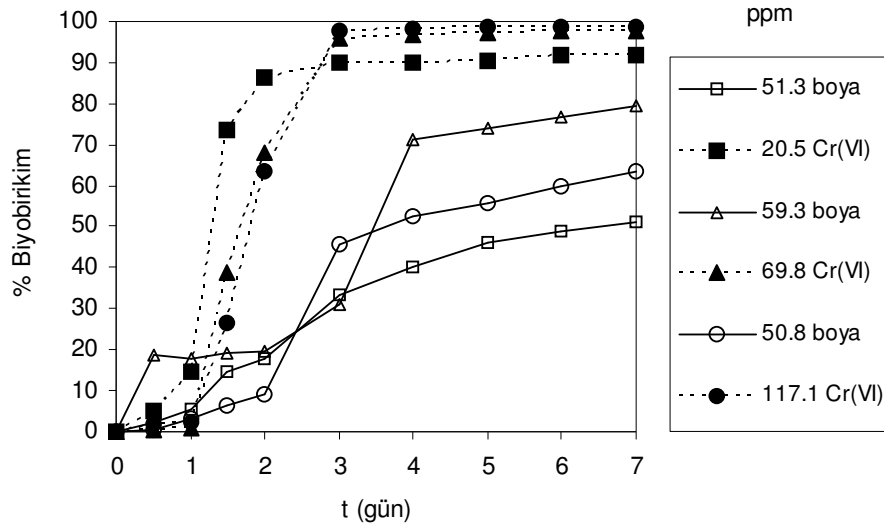
Şekil 4.1. Başlangıç RBB konsantrasyonunun krom(VI) içermeyen ortamlardaki ve başlangıç krom(VI) konsantrasyonlarının RBB içermeyen melaslı besiyerlerindeki biyobirikime etkisi

4.1.4. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonunun karışık kültürün biyobirikimine birlikte etkisi

Karışık mikrobiyel kültürün biyobirikim kapasitesi, hem RBB hem de krom(VI) içeren melaslı besiyerlerinde de araştırılmıştır. Bu amaçla karışık kültür, sabit RBB (50 ppm ve 100 ppm) ve artan krom(VI) konsantrasyonlarının (25, 75 ve 100 ppm) her ikisini de içeren besiyerlerine ekilmiştir.

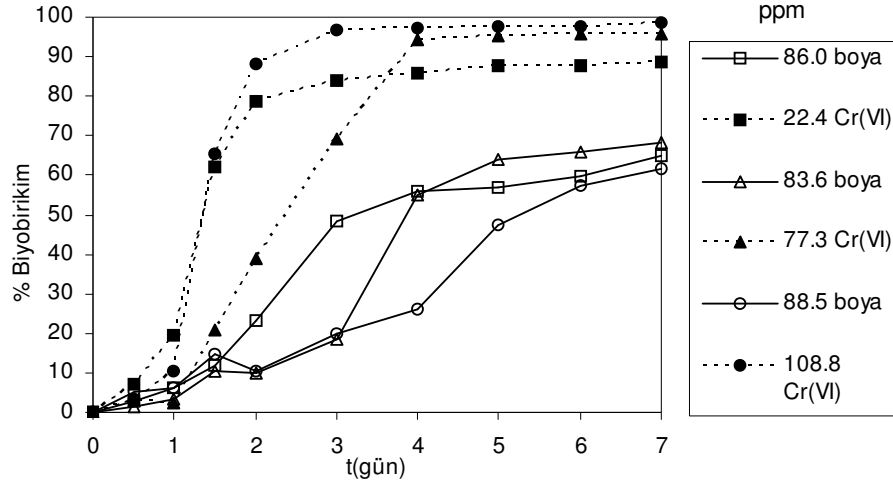
Şekil 4.2' de yaklaşık 50 ppm RBB ve artan krom(VI) konsantrasyonlarının karışık kültürün biyobirikim kapasitesi üzerine birlikte etkisi gösterilmiştir. Karışık kültürün RBB biyobirikim kapasitesi, krom(VI) konsantrasyonunun artmasıyla yükselmiştir. Bütün denemelerde krom(VI) inkübasyon süresinin ilk 3 gününde hızlı bir şekilde ortamdaki uzaklaştırılırken, RBB biyobirikimi inkübasyon süresinin sonuna kadar sürmüştür. RBB konsantrasyonu 51.3 ppm ve krom(VI) konsantrasyonu 20.5 ppm olduğunda, RBB birikimi %51 olarak gözlenirken, krom(VI) biyobirikimi %91.7 verimle yapılmıştır.

Yaklaşık olarak 50 ppm RBB içeren ortamda, krom(VI) konsantrasyonu 69.8 ppm' e artırıldığında RBB giderimi %79.6 olarak kaydedilmiş ve krom(VI) giderimi de %97.9 olmuştur. Aynı RBB konsantrasyonunu içeren ortama 117.1 ppm krom(VI) eklenmesiyle RBB giderimi %63.6 verimle gerçekleşmiştir. Bu besiyerindeki krom(VI) giderimi ise %98.5 verimle gerçekleşmiştir.



Şekil 4.2 Karışık kültürün biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi (1)

RBB konsantrasyonu yaklaşık 100 ppm' e çıkarıldığında artan krom(VI) konsantrasyonlarının RBB ve krom(VI) biyobirikimine birlikte etkisi şekil 4.3'de gösterilmiştir. Bu çalışma da RBB konsantrasyonu yaklaşık 50 ppm olan denemelere benzer sonuçlar elde edilmiştir ve denemelerde, krom(VI) gideriminin inkübasyon süresinin ilk 3-4 gününde hızlı bir şekilde, RBB gideriminin ise inkübasyon süresi sonuna kadar devam ettiği gözlenmiştir.



Şekil 4.3 Karışık kültürün biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi (2)

Reactive Black B konsantrasyonunun 86.0 ppm ve krom(VI) konsantrasyonunun da 22.4 ppm olduğu melaslı besiyerinde RBB birikim verimi, aynı miktarda krom(VI) ve yaklaşık 50 ppm RBB içeren ortama göre artmış ve % 65.0 olarak bulunmuştur. Bu ortamda krom(VI) uzaklaştırılması ise % 98.4 verimle gerçekleşmiştir. Benzer RBB konsantrasyonunu ve 77.3 ppm krom(VI) içeren ortamdaki RBB birikimi % 68.2'ye yükselirken, aynı ortamda karışık mikrobiyel kütle için krom(VI) giderimi de % 95.7 verimle gerçekleşmiştir. RBB konsantrasyonu 88.5 ppm ve krom(VI) konsantrasyonu ise 108.8 ppm olan ortamda RBB birikimi %61.8, krom(VI) uzaklaştırılması verimi ise % 98.4 olarak belirlenmiştir.

4.1.5. Artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık kültürün maksimum spesifik RBB ve krom(VI) alınma etkisi

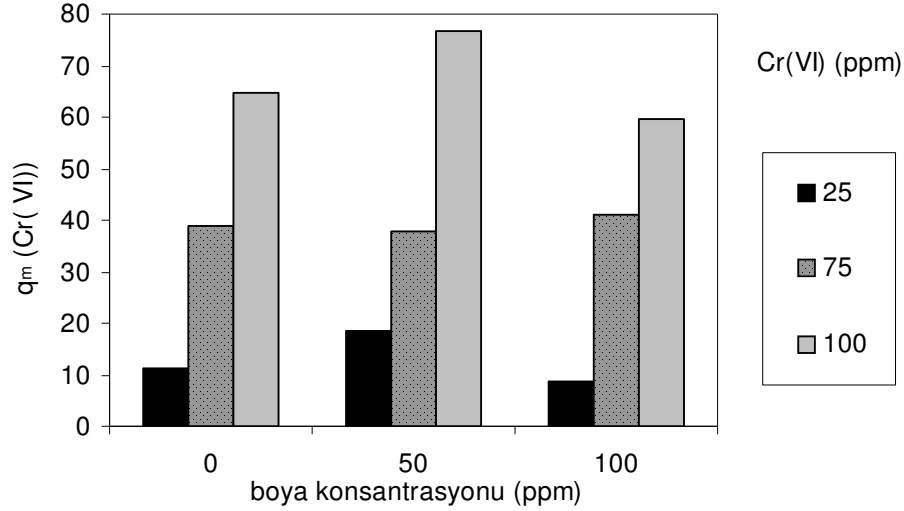
Şekil 4.4' de artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında gram mikrobiyel kütle başına biriktirilen krom(VI) miktarları (q_m) gösterilmektedir. Denenen tüm RBB konsantrasyonlarında, krom(VI) konsantrasyonu arttıkça q_m değerlerinin belli bir konsantrasyona kadar arttığı (50 ppm krom(VI)) ve sonra azaldığı gözlenmiştir.

RBB içermeyen melaslı besiyerinde q_m değerleri, yaklaşık 25 ppm krom(VI) varlığında 11.1 mg g^{-1} , yaklaşık 75 ppm krom(VI) içeren ortamda 39.0 mg g^{-1} ve yaklaşık 100 ppm krom(VI) konsantrasyonunda 64.8 mg g^{-1} olarak bulunmuştur.

Yaklaşık 50 ppm RBB içeren ortamlardaki gram mikrobiyel kütle başına biriktirilen krom(VI) miktarları, RBB içermeyen ortamlara göre artış göstermiştir. Bu RBB konsantrasyonunda yalnızca 50 ppm krom(VI) içeren ortamdaki q_m RBB içermeyen besiyerindeki değere yakın bulunmuştur (37.9 mg g^{-1}). Aynı RBB konsantrasyonunda 25 ppm krom(VI) içeren besiyerlerinde gelişen mikrobiyel kütle başına biriktirilen krom(VI) miktarı 18.4 mg g^{-1} ve 100 ppm krom(VI) içeren ortamda 76.7 mg g^{-1} olmuştur.

RBB konsantrasyonu yaklaşık 100 ppm olduğunda, artan krom(VI) konsantrasyonlarında krom(VI) için q_m değerleri azalmıştır. Bu ortamda, yaklaşık 25 ppm krom(VI) konsantrasyonunda q_m , 8.6 mg g^{-1} , yaklaşık 75 ppm krom(VI) varlığında 59.5 mg g^{-1} bulunmuştur. Bu ortamda yalnızca 50 ppm krom(VI) içeren ortamda

diğer RBB içeren aynı krom(VI) miktarını içeren ortamlardan daha yüksek olarak q_m 41.1 $mg\ g^{-1}$ olarak tespit edilmiştir.



Şekil 4.4 Artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında elden edilen, gram hücre başına biriktirilen krom(VI) miktarları

Artan RBB konsantrasyonlarında, denenen tüm krom(VI) konsantrasyonlarında en yüksek q_m yaklaşık 50 ppm RBB ve 100 ppm krom(VI) içeren melashı besiyeri ortamında elde edilmiştir ($76.7\ mg\ g^{-1}$).

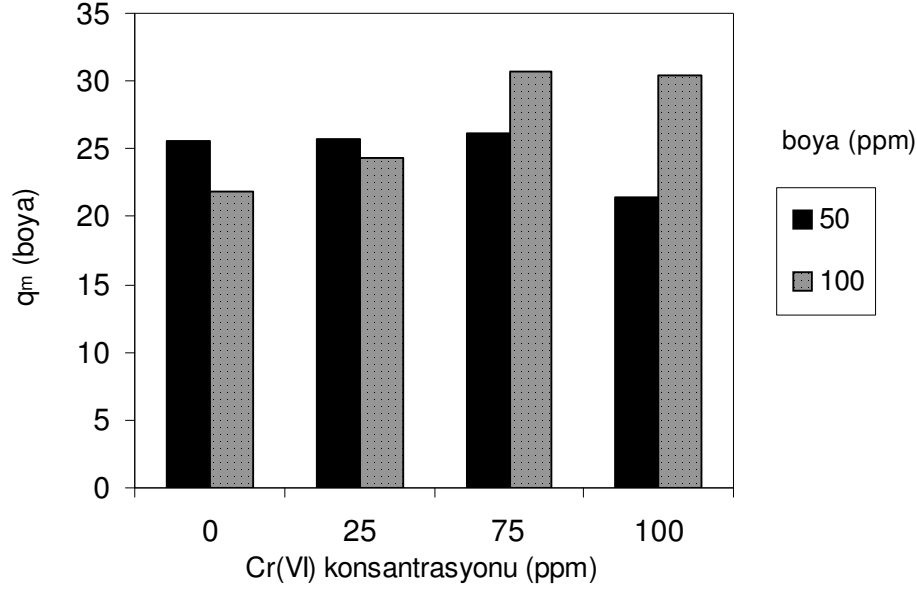
Şekil 4.5' de artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında gram mikrobiyel kütle başına biriktirilen RBB miktarları (q_m) gösterilmektedir. Denenen tüm krom(VI) konsantrasyonlarında, RBB konsantrasyonu arttıkça q_m değerlerinin belli bir konsantrasyona kadar (75 ppm RBB) arttığı ve sonra azaldığı gözlenmiştir.

Krom içermeyen melashı besiyeri ortamında, yaklaşık 50 ppm RBB içeren besiyerinde Reactive Black B için q_m değeri $25.6\ mg\ g^{-1}$ ve yaklaşık 100 ppm RBB içeren ortamda Reactive Black B için q_m değeri $21.8\ mg\ g^{-1}$ olarak belirlenmiştir.

Krom konsantrasyonu 25 ppm' e artırıldığında q_m miktarları da artmıştır. Bu ortamda RBB konsantrasyonu 50 ppm olduğunda q_m değerleri, $25.7\ mg\ g^{-1}$ ve 100 ppm olduğunda da $24.3\ mg\ g^{-1}$ olarak bulunmuştur.

En yüksek q_m değerleri yaklaşık 75 ppm krom(VI) varlığında bulunmuştur. Buna göre, 50 ppm RBB içeren melashı besiyerinde gram hücre başına 26.2 mg, 100 ppm RBB' lı ortamda ise gram hücre başına 30.7 mg RBB biriktirilmiştir

Krom(VI) konsantrasyonunun 100 ppm' e yükselmesiyle birlikte q_m değerleri de düşmüştür. Bu azalma özellikle 50 ppm RBB içeren besiyeri ortamında belirgin bir şekilde gözlenmiştir ($21.5\ mg\ g^{-1}$). Fakat, 100 ppm RBB içeren ortamda, kromsuz ve 25 ppm krom içeren ortama göre yüksek bir q_m elde edilmiştir ($30.4\ mg\ g^{-1}$).



Şekil 4.5 Artan RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında elden edilen, gram hücre başına biriktirilen RBB miktarları

Artan krom(VI) konsantrasyonlarında, denenen tüm RBB konsantrasyonları için en yüksek q_m , yaklaşık 100 ppm RBB ve 75 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyerinde elde edilmiştir (30.7 mg g^{-1}).

4.2. Saf Kültürlerle Yapılan Biyobirikim Çalışmaları

Saf kültür çalışmaları için melaslı agar ortamında gelişen kültürler renk ve şekillerine göre incelenmiş, hem RBB hem de krom(VI) içeren besiyerlerinden 14 adet saf kültür elde edilmiştir.

RBB ve krom(VI) biyobirikimi yapabilen saf kültürler yaklaşık 25 ppm Reactive Black B ve 30 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyeri ortamında geliştirilmiştir. Saf kültürlerin gelişmesi 4 gün boyunca gözlemlenmiştir. İnkübasyon süresi sonucunda RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının saf kültürler tarafından gerçekleştirilen RBB ve krom(VI) biyobirikim değerleri çizelge 4.2' de gösterilmiştir.

İnkübasyon süresi sonucunda bazı kültürlerin sadece RBB veya sadece krom(VI) verimlerinde başarılı oldukları bazılarının da hem RBB hem de krom(VI) biyobirikiminde etkili oldukları gözlenmiştir.

Saf kültürlerin RBB biyobirikim verimleri karşılaştırıldığında 6 tane kültürün %30 ve üzerinde RBB uzaklaştırması yapabildikleri tespit edilmiştir. (1, 2, 6, 7, 8 ve 14 numaralı kültürler). Bunlar arasında da en iyi RBB giderimi gerçekleştiren kültürler 1, 7 ve 14 numaralı kültürler olmuştur ve gerçekleştirdikleri RBB biyobirikim verimleri sırasıyla %48.3, %56 ve %71 olarak hesaplanmıştır.

En düşük RBB biyobirikimi 4 numaralı kültürde %4 olarak hesaplanırken, en yüksek RBB biyobirikimini 14 numaralı kültür gerçekleştirmiştir (%71).

Çizelge 4.2. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının, saf kültürlerin biyobirikimi üzerine etkisi

Saf Kültürler	C _o		C _{byb}		%BB	
	RBB	krom(VI)	RBB	krom(VI)	RBB	krom(VI)
1	30.2	23.6	14.6	21.2	48.3	89.8
2	30.2	23.6	10.1	21.1	33.4	89.4
3	30.2	23.6	6.6	21.8	21.9	92.4
4	30.2	23.6	1.3	14.6	4.3	61.9
5	30.2	23.6	2.6	16.8	8.6	71.2
6	30.2	23.6	9.3	21.7	30.8	92.0
7	30.2	23.6	16.9	21.5	56.0	91.1
8	30.2	23.6	9.4	21.1	31.1	89.4
9	30.2	23.6	3.4	13.1	11.3	55.5
10	30.2	23.6	2.8	15.1	9.3	64.0
11	30.2	23.6	2.3	15.3	7.6	64.8
12	30.2	24.8	2.4	23.0	9.0	92.7
13	26.6	24.8	4.0	23.1	15.0	93.2
14	26.6	24.8	18.9	23.4	71.0	94.4

Saf kültürlerin krom(VI) biyobirikim verimlerine bakıldığında, bu değerlerin RBB biyobirikim verim değerlerine oranla daha yüksek olduğu görülmüştür. Neredeyse tüm kültürler %60'ın üzerindeki krom(VI)'yı besiyeri ortamından uzaklaştırabilmişlerdir. 3, 6, 7, 12 13 ve 14 numaralı olmak üzere toplam 6 saf kültürde ise krom(VI) biyobirikim verimleri %92- 94.4 arasında oldukça yüksek değerlerde bulunmuştur. Bu kültürlerin olduğu besiyerlerindeki krom(VI)'nın neredeyse tamamı biyobiriktirilmiştir.

En düşük krom(VI) biyobirikimi 9 numaralı kültürde %55 olarak bulunmuş en yüksek değere ise %94 biyobirikim verimi ile 14 numaralı saf kültürde ulaşılmıştır.

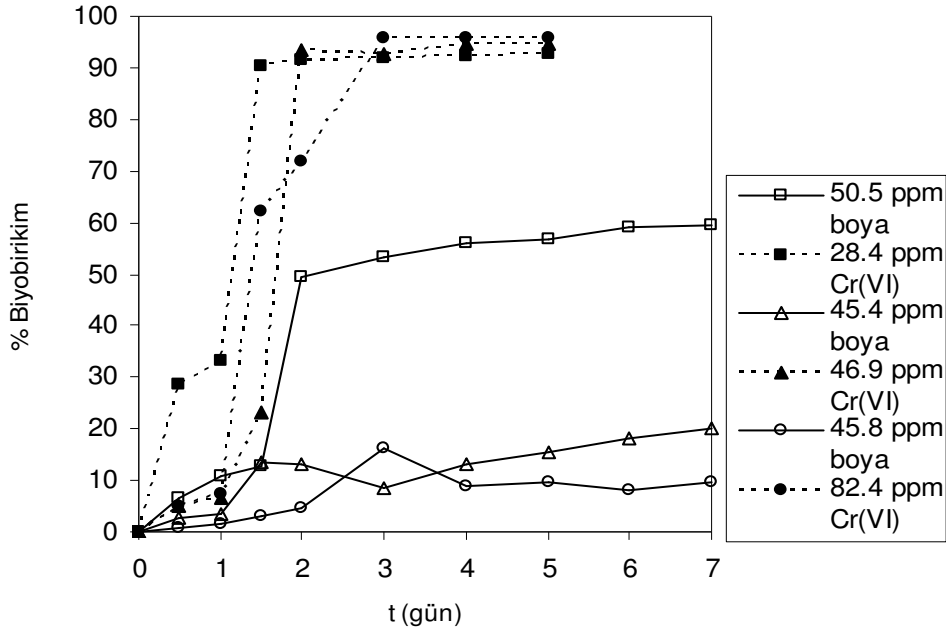
Yapılan bu denemeler sonucu hem RBB hem de krom(VI) için en iyi değerlere ulaşan saf kültür 14 numaralı koloni olarak tespit edilmiştir. 30 ppm RBB ve 25 ppm krom(VI) konsantrasyonundaki besiyerinde 4 günlük

inkübasyon sonucu bu kültür tarafından yapılan RBB biyobirikimi %71, krom(VI) biyobirikimi %94.4 olarak bulunmuştur.

4.2.1. RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının 14 numaralı suşun biyobirikim kapasitesi üzerine etkisi

Sabit RBB konsantrasyonuna karşın krom(VI) konsantrasyonunun artmasıyla (28.4, 46.9, 82.4 ppm)14 numaralı suşun RBB giderim değerlerinin düştüğü gözlenmiştir. Şekil 4.6'da yaklaşık 50 ppm Reactive Black B ve artan krom(VI) konsantrasyonlarında 7 gün boyunca inkübe edilen 14 numaralı suşun RBB ve krom(VI) biyobirikim değerleri gösterilmiştir. Saf kültürün RBB biyobirikim verim değerleri 50.5 ppm RBB ve 28.4 ppm krom(VI) konsantrasyonunda %59.4 olarak hesaplanmıştır. Aynı konsantrasyonda RBB içeren besiyerinde krom(VI) konsantrasyonu 46.9 ppm'e yükseltilince RBB biyobirikim verim değeri %20 'ye ve en yüksek krom(VI) konsantrasyonunda %9.8'e düşmüştür. Krom(VI) konsantrasyonundaki artış 14 numaralı saf kültürün RBB biyobirikim verim değerlerini olumsuz yönde etkilemiştir.

14 numaralı suşun krom(VI) verim değerleri RBB birikimine göre oldukça yüksek olmuş ve artan krom(VI) konsantrasyonlarından çok fazla etkilenmemiştir. İnkübasyon süresinin ilk 3 gününde besiyerlerindeki krom(VI)'nın neredeyse tamamı biyobiriktilmiştir. Krom(VI) biyobirikim verim değeri en yüksek krom(VI) konsantrasyonunda (82.4 ppm) en yüksek değere ulaşmıştır(%95.6).



Şekil 4.6. Başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının 14 numaralı suşun biyobirikimi üzerine etkisi

4.3. Bakteriyel Ortaklıkla Yapılan Biyobirikim Çalışmaları

Farklı başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında biyobirikim kapasiteleri araştırılan 14 saf kültür arasından hem RBB hem de krom(VI) uzaklaştırılmasında en iyi verimi gösteren 3 tanesi karıştırılarak bakteriyel ortaklık olarak adlandırılmıştır. Gram boyama özelliklerine göre elde edilen 3 farklı koloninin Gram negatif olduğu, bunlardan bir tanesinin kok diğerlerinin ise çubuk şeklinde olduğu belirlenmiştir.

Ortaklık da kullanılan suşlara ait rRNA genleri PCR ile çoğaltılmış ve 16S rRNA'larına göre sekans analizleri yapılmıştır. Tamamlanmış sekans verilerinden elde edilen bilgilerle yapılan filogenetik çalışmalarda bu bakterilerin Alpha ve Gammaproteobacteria sınıflarına dahil oldukları görülmüş ve %99 benzerlik oranıyla *Orchobacterium* sp., *Salmonella enterica* ve *Pseudomonas aeruginosa* bakterilerine ait özellikleri taşıdıkları tespit edilmiştir(Kılıç vd 2006).

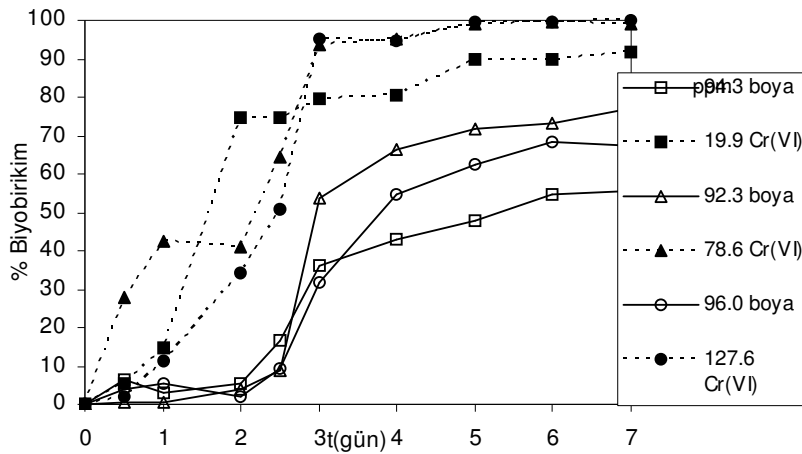
Bakteriyel ortaklığın farklı başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarında gösterdiği biyobirikim kapasiteleri önce erlenlerde daha sonra fermentörde kesikli sistemle çalışılmış ve elde edilen değerler karışık kültürün biyobirikim kapasitesi ile karşılaştırılmıştır.

4.3.1. Farklı başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının bakteriyel ortaklığın biyobirikim kapasitesine etkisi

Melaslı besiyeri ile yapılan çalışmada (pH 8), 100 ppm sabit RBB konsantrasyonu ve artan krom(VI) konsantrasyonlarının (19.9, 78.6 ve 127.6 ppm) bakteriyel ortaklığın biyobirikim kapasitesine etkisi araştırılmıştır.

Şekil 4.7'de 7 günlük inkübasyon süresi boyunca bakteriyel ortaklığın RBB ve krom(VI) biyobirikim kapasitesi gösterilmektedir. Bu ortamda, bakteriyel ortaklığın artan krom(VI) konsantrasyonlarından olumsuz yönde etkilenmemiştir. Besiyerinde bulunan kromun tamamı inkübasyon süresinin ilk 3-4 gününde çok hızlı bir şekilde ortamdan uzaklaştırılmıştır. Bakteriler krom(VI) giderimini % 91.5-100 verimle gerçekleştirmiş ve en yüksek krom(VI) uzaklaştırılması 96 ppm RBB ve 127.6 ppm krom(VI) varlığında % 100 olarak tespit edilmiştir. Karışık kültürün ve bakteriyel ortaklığın krom(VI) uzaklaştırılmasında gösterdikleri başarı birbirine yakın olmuş ve her ikisinde de ortamdaki RBB konsantrasyonu krom(VI) biyobirikimini etkilememiştir.

Bu ortamdaki en yüksek RBB uzaklaştırılması, 92.3 ppm RBB ve 78.6 ppm krom(VI) içeren ortamda % 76.9 verimle gerçekleşmiştir. Bu değer karışık mikrobiyel kültürün benzer konsantrasyonlarda yapabildiği RBB biyobirikiminden de yüksektir.(%68.2).



Şekil 4.7 Erlen çalışmalarında bakteriyel ortaklığın biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi

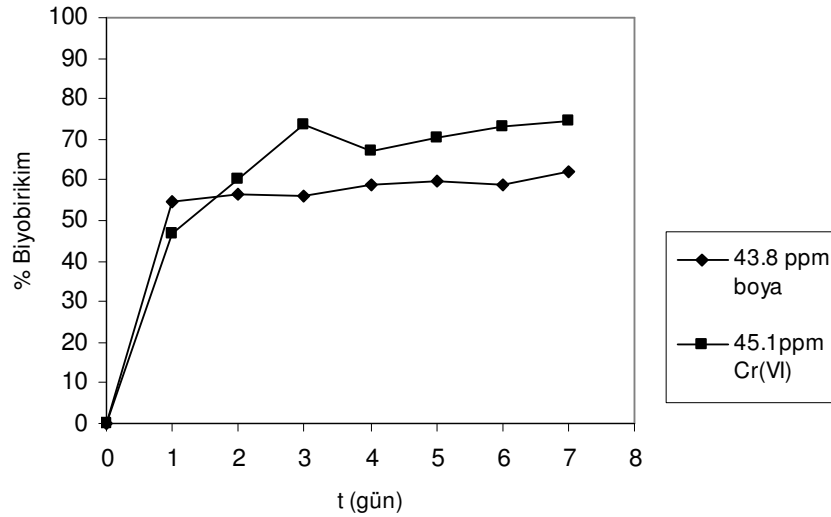
Benzer şekilde 96.0 ppm RBB ve 127.6 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyerinde bakteriyel ortaklık tarafından gerçekleştirilen RBB biyobirikimi (% 67.3), aynı konsantrasyonlarda karışık mikrobiyel kültür tarafından yapılan biyobirikimden daha fazla olmuştur (%61.8).

Benzer RBB konsantrasyonunda (94.3 ppm) ve düşük miktarda krom (19.9 ppm) içeren besiyerinde yapılan Reactive Black B biyobirikimi % 55.5 verimle gerçekleşmiştir.

4.3.2. Fermentörde kesikli sistemde, başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonunun bakteriyel ortaklığın biyobirikimine birlikte etkisi

Melaslı besiyeri ile gerçekleştirilen çalışmalarda (pH 8) 50 ppm sabit RBB ve 50 ppm sabit krom(VI) konsantrasyonlarında yapılan denemelerde bakteriyel ortaklığın biyoreaktör ortamında gösterdiği biyobirikim kapasitesi araştırılmıştır.

Şekil 4.8 de yaklaşık 50 ppm başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonundaki bakteriyel ortaklığın fermentör sistemindeki 7 günlük inkübasyonu sonucu elde edilen değerler gösterilmiştir.



Şekil 4.8 Fermentör çalışmalarında, bakteriyel ortaklığın biyobirikimi üzerine başlangıç RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının birlikte etkisi

43.8 ppm RBB ve 45.1 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyeri ortamında krom(VI) biyobirikimi hem karışık kültürle elde edilen sonuçlardan hem de erlenlerde yapılan denemelerde elde edilen verilerden daha düşük bulunmuştur (%77.4). Erlenlerde yapılan çalışmalarda, inkübasyon süresinin ilk 3-4 günü içinde ortamdaki krom(VI)'nin neredeyse tamamı biyobiriktilirken, fermentörde yapılan çalışmalarda hem biyobirikim oranlarında düşüş gözlenmiş hem de biyobirikim süresi uzamıştır.

Benzer şekilde RBB biyobirikim verimleri de erlenlerde yapılan çalışmalara oranla daha düşük bulunmuştur. Sabit 50 ppm RBB ve krom(VI) konsantrasyonunda fermentörde RBB biyobirikimi 7 günlük inkübasyon süresi sonucunda %61.9 olarak hesaplanmıştır. Yaklaşık aynı konsantrasyonlarda RBB ve krom(VI) içeren karışık kültürde RBB biyobirikim değeri %79.6 olarak kaydedilmiştir.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Yüksek miktarlarda reaktif boya ve krom içeren endüstriyel atıksuların üretilmesi bu atıksuların dış ortamlara bırakılmadan önce, toksik özelliklerini giderebilmek için etkili arıtım yöntemlerinin bulunmasını gerektirir. Bugüne kadar yapılan çalışmalarda bu tür atıksuların arıtılması için, hem ekonomik hem de çevreye dost biyolojik bir arıtım yolu bulunmamış olmasına rağmen hindistan cevizi kabuğu, kahverengi deniz yosunu, odun kömürü ve talaş gibi doğal kaynakların kullanımıyla, atıksulardan boya ve krom giderimi üzerine değişik çalışmalar yapılmıştır (Robinson vd 2001, Aravindhana vd 2004). Bunların yanında arıtımda mikroorganizmaların kullanılması alternatif bir yol olarak önerilmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda yüksek miktarda boya ya da krom giderimi yapabilen çok sayıda mikroorganizma tespit edilmiştir, ancak bunlar arasında hem boya hem de krom biyobirikimi yapabilen mikroorganizmaların olduğu belirtilmemiştir. Ortamdaki boya ve kroma kendiliğinden direnç gösteren ve aynı zamanda bu atıkları biyobiriktirebilen mikroorganizmaların, birçok durumda hem boya hem de krom içeren atıksuların arıtımında etkin bir şekilde kullanılabilceği düşünülmektedir. Bu tez çalışmasında elde edilen karışık kültür veya bakteriyel ortaklığın, kirleticilere karşı yüksek kararlılık göstermeleri, geniş spesifiteleri ve etkin sonuçlar vermeleri nedeniyle, biyolojik arıtımda kullanılabilcekleri sonucuna varılmıştır.

Biyobirikim çalışmalarını doğrudan etkileyen en önemli faktörlerden bir tanesi ortamın pH derecesidir. Daha önce yapılan çalışmalar ağır metallerin mikroorganizmalara farklı pH değerlerinde seçici olarak bağlandıklarını göstermiştir. Liu vd (2006) *Bacillus sp.* ile yaptıkları krom(VI) giderim çalışmalarında optimum başlangıç pH değerini 9 olarak tespit etmişlerdir. Bir başka çalışmada *Streptomyces litoris* ile yapılan uranyum ve toryum biyobirikimi denemelerinde ise en iyi verimlere, pH 3.5 'de ulaşılmıştır (Tsuruta 2005).

Aksu (2003), reaktif boyarmaddelerin biyobirikim yolu ile giderilmesi üzerine yaptığı çalışmada, *Saccharomyces cerevisia* mayasını kullanmıştır. Optimum pH 3 iken boya giderim değerlerinin maksimuma ulaştığını ancak artan pH ile birlikte (pH 5) verimin düştüğünü gözlemlemiştir. Boya gideriminde sağlanan verimi; mayanın hücresel yapısı, uygun ortam pH'ı ve anyonik karakterli boya olarak değerlendirmiştir. Düşük pH değerlerinde yüksek verim elde edilmesindeki temel yaklaşımda pozitif yüklenmiş hücrelerle negatif yüklü reaktif boyarmaddelerin kendi aralarındaki elektrostatik çekimleri olarak değerlendirilebilir (Aksu ve Dönmez 2003). Pearce vd (2003) renk giderimi için nötr veya az alkali pH' larda çalışmış aşırı alkali veya asidik ortamların renk giderim veriminde düşmeye neden olduğunu gözlemlemiştir. Değişik çalışmalardan elde edilen bu sonuçlar pH değerinin, mikroorganizmaların maksimum krom(VI) ve boya alımı üzerinde önemli etkiye sahip olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada ise karışık kültürün biyobirikim verimleri dört farklı pH değerinde (6, 7, 8 ve 9) araştırılmıştır. pH 6'dan 8'e kadar yükseldikçe biyobirikim verimleri artış göstermiş, daha yüksek pH'da (9) ise değerler nispeten düşmüştür. En düşük boya ve krom(VI) giderim verimleri en düşük pH da gözlenmiştir. En yüksek giderimin elde edildiği pH 8, optimum değer olarak kabul edilmiştir (Çizelge 4.2).

Çalışmalarda şeker fabrikalarından yan ürün olarak çıkan melas, besiyeri bileşimi olarak kullanılmıştır. Daha önce yapılan çalışmalarda melasın mikrobiyel gelişmeyi etkili bir şekilde arttırdığı belirtilmiştir (Aksu ve Dönmez 2004, Çetin ve Dönmez 2005). *Kluyveromyces marxianus* ile yapılan bir çalışmada, melas konsantrasyonunun kültürün gelişimi ve bakır(II) biyobirikim kapasitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. Melas konsantrasyonu yükseldikçe (20 mg l⁻¹) mikrobiyel gelişmeyle beraber biyobirikim verimlerinin de önemli oranda arttığı tespit edilmiştir. Bu artış melasın içeriğindeki sükrözün, biyobirikimin enerji bağımlı doğasıyla uygun olması şeklinde değerlendirilmiştir (Aksu ve Dönmez 2000). Mikrobiyel gelişmeyi ve verimi arttırmasının yanı sıra, yüksek miktarda sükröz içermesi, kolay bulunması ve maliyetinin düşük olması sebebiyle, denemelerde C kaynağı olarak melas içeren besiyerinin kullanılması uygun bulunmuştur.

Çalışmalarda değişen RBB ve krom(VI) konsantrasyonlarının karışık kültürün biyobirikimine etkisi hem tek tek hem de birlikte araştırılmıştır. Yalnızca RBB içeren besiyerleri ile yapılan çalışmalarda en yüksek verim 47.1 ppm RBB içeren erlende %27.1 olarak bulunmuştur. En iyi RBB verime ise hem RBB (69.8ppm) hem de krom(VI) (59.3 ppm) içeren besiyerinde ulaşılmıştır (%79.6). Besiyerine krom ilavesi boya biyobirikimini bir süre olumlu yönde etkilemiş, en yüksek krom(VI) konsantrasyonunda (117.1 ppm), verimde düşüş gözlenmiştir (%63.5).

Krom(VI) biyobirikim verimleri ise artan boya veya krom(VI) konsantrasyonlarından önemli bir şekilde etkilenmemiş ve yapılan denemelerin tümünde krom(VI) verim değerleri %90'ın üzerinde bulunmuştur. Karışık kültürlerle en yüksek krom(VI) giderimi hem RBB hem krom(VI) içeren ortamda %97.9 olarak hesaplanmıştır.

Krom(VI) için en yüksek maksimum spesifik alım değeri 76.7 mg g⁻¹, RBB için en yüksek maksimum spesifik alım değeri 30.7 mg g⁻¹ olmuştur. Koçberber ve Dönmez (2006) karışık kültürle yaptıkları krom(VI) giderim çalışmalarında artan krom(VI) ve NaCl konsantrasyonlarında karışık kültürün krom(VI) alım yüzdesinin ve kuru ağırlığının düştüğünü ancak spesifik krom(VI) alımının yükseldiğini belirtmişlerdir. Maksimum spesifik krom (VI) alımı pH 8'de, 316.1 ppm krom(VI) konsantrasyonunda ve ortamda hiç tuz yokken 58.9 mg g⁻¹olarak bulunmuştur.

Saf kültürler içinde en iyi RBB giderimi yapanlar 1, 7 ve 14 numaralı kültürler olmuştur. Biyobirikim verimleri sırasıyla %48.3, %56 ve %71 olarak hesaplanmıştır. En yüksek boya biyobirikimini 14 numaralı kültür gerçekleştirmiştir (%71).

Saf kültürlerin krom(VI) giderim değerleri boya giderim verimlerine oranla daha yüksek bulunmuştur. Krom(VI) biyobirikim verimleri %92- 94.4 arasında oldukça yüksek değerlerde çıkmış, besiyerlerindeki krom(VI)'nın neredeyse tamamı biyobiriktirilmiştir. En yüksek değere ise %94 biyobirikim verimi ile 14 numaralı kültürde ulaşılmıştır. Artan konsantrasyonlarda ise hücrelerin gelişimi durmuştur. Daha önce yapılan birçok çalışmada da, krom içeren atıklardan izole edilen saf veya karışık kültürlerle krom(VI) biyobirikimi araştırılmıştır. (Srinath vd 2002, Hussein vd 2004, Sadettin ve Dönmez 2005, Preetha ve Viruthagari 2006, Mangabeira vd 2006). Liu vd (2006) tarafından yapılan çalışmada *Bacillus* sp. izolatu ile krom(VI) giderimi üzerine denemeler yapılmıştır. İzolatın gelişiminin 20 ppm krom(VI) konsantrasyonunun üzerinde inhibe olduğu gözlenmiştir.

Bakteriyel ortaklıkla en yüksek krom(VI) uzaklaştırılması 96 ppm RBB ve 127.6 ppm krom(VI) varlığında % 100 olarak tespit edilmiştir. Karışık kültürün ve bakteriyel ortaklığın krom(VI) uzaklaştırılmasında gösterdikleri başarı birbirine yakın olmuş, benzer şekilde her ikisinde de ortamdaki RBB konsantrasyonu krom(VI) biyobirikimini etkilememiştir. Chawiri vd (1999) krom(VI) giderimi ve fenol degradasyonu üzerine yaptıkları anaerobik çalışmada bakteriyel ortaklık kullanmışlardır. Ortamda artan krom(VI) konsantrasyonu ile birlikte krom(VI) indirgemesi de artmış ve optimum verimler 20 ppm krom(VI) başlangıç konsantrasyonunda elde edilmiştir. Daha yüksek krom(VI) konsantrasyonlarında verimin düştüğü gözlenmiştir. Bu durum kromatın toksik özelliğinin ve yüksek oksidatif potansiyelinin, anaerobik ortaklığın biyolojik aktivitesini inhibe etmesi olarak değerlendirilmiştir.

En yüksek boya uzaklaştırılması, 92.3 ppm RBB ve 78.6 ppm krom(VI) içeren ortamda % 76.9 verimle gerçekleşmiştir. Bu değer karışık mikrobiyel kültürün benzer konsantrasyonlarda yapabildiği RBB biyobirikiminden (%68.2) yüksektir. Aynı şekilde 96.0 ppm RBB ve 127.6 ppm krom(VI) içeren melaslı besiyerinde bakteriyel ortaklık tarafından gerçekleştirilen RBB biyobirikimi (% 67.3), aynı konsantrasyonlarda karışık mikrobiyel kültür tarafından yapılan biyobirikimden (%61.8) daha fazla olmuştur.

Bakteriyel ortaklıkta kullanılan *Pseudomonas aeruginosa* izolatu ve diğer bazı *Pseudomonas* türlerinin (*Pseudomonas* sp. KF46, *Pseudomonas* sp. K24) özellikle deri ve tekstil endüstrilerinde kullanılan azo boyaların (Navitan Fast blue S5R) aerobik degradasyonunda kullanıldığı belirtilmiştir (Sumathi ve Manju

2000, Pandey vd. 2006). Yine bazı türlerin (*Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*) ağır metal (Cr(VI), Ni(II), Cd(II) ve Cu(II)) biyobirikimi yapabildiği belirtilmiştir (Hussein vd 2004). Bakteriyel ortaklığın diğer bir üyesi olan *Ochrobactrium sp.* türlerinin de (*O. intermedium*) krom(VI) indirgenmesi ve diğer bazı metallerin (Cu, Co, Mn, Ni) detoksifikasyonunda kullanıldığı belirtilmiştir (Sultan ve Hasnain 2006).

Moosvi vd (2006) üç bakteriden oluşan bir ortaklıkla (*Paenibacillus polymyxa*, *Micrococcus luteus* ve *Micrococcus sp.*) boya renk giderim çalışmaları yapmıştır. Ortaklık şeklinde kullanılan türlerle 100 ppm Reactive violet 5B içeren besiyerinde, pH 6.5- 8.5 civarında ayarlanmış ve 36 saatlik inkübasyon süresi sonucunda boyanın tamamen dekolorize edildiği belirtilmiştir. Buna rağmen, aynı izolatlarla ayrı ayrı yapılan çalışmalarda inkübasyon süresi uzatılmasına rağmen aynı başarı sağlanamamıştır. Bakteriyel ortaklığın test edilen 10 farklı boyadan dokuz tanesini dekolorize edebildiği görülmüştür.

Yapılan tez çalışmasında da en yüksek boya biyobirikimi bakteriyel ortaklıkla yapılan denemelerde elde edilmiştir. Krom(VI) biyobirikim kapasitesi ise karışık kültür, saf kültür ve bakteriyel ortaklık çalışmalarında hemen hemen aynı bulunmuş ve verim değerleri tüm denemelerde %90'ın üstünde çıkmıştır. Bakteriyel ortaklıkla yapılan denemelerde bu değer en yüksek %100 olarak bulunmuştur.

Artan boya konsantrasyonlarında biyokütlenin miktarında artış görülmemesi, ve besiyerinde kalan biyokütlenin siyah renkte görülmesi, çalışılan mikrobiyel türlerin boyayı karbon kaynağı olarak kullanmadığını, sadece hücrelerinde biriktirdiğini göstermektedir.

Bakteriyel ortaklık düşük maliyetli besiyeri ortamında kısa süre içinde hem krom(VI) hem de RBB biyobirikimi yapılması bakımından alternatif bir arıtım tekniği olarak kullanılabilir. Elde edilen veriler, bakteriyel ortaklığın yüksek miktarda boya ve krom içeren tekstil ve deri atıksuları gibi alkali atıksuların biyolojik arıtımı için uygun ve ekonomik bir yöntem olduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Aravindhan, R., Madhan, B., Rao, J.R., Nair, B.U., Ramasami, T. 2004. Bioaccumulation of chromium from tannery wastewater: an approach recovery and reuse, *Environ Sci. Technol. Biotechnol.* 75, 847-853.
- Aksu, Z. and Dönmez, G. 2000. The use of molasses in copper(II) containing wastewaters effect on growth and copper bioaccumulation properties of *Kluyveromyces marxianus*. *Process Biochemistry*. 36, 451- 458.
- Aksu, Z. 2003. Reactive dye bioaccumulation *Saccharomyces cerevisia*. *Process Biochemistry*, 10, 1437-1444.
- Aksu, Z. and Dönmez, G. 2003. A comparative study on the biosorption characteristics of some yeast for remazol blue reactive dye. *Chemosphere*, 50,1075- 1083.
- Aksu, Z. 2004. Application of biosorption for the removal of organic pollutants. *Process Biochemistry*, 40, 997- 1026.
- Aksu, Z.,and Dönmez, G. 2004. Combined effects of molasses sucrose and Reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*. *Process Biochemistry*, 40, 2443- 2454.
- Aksu, Z., and Tezer, S. 2005. Biosorption of Reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*. *Process Biochemistry*, 40, 1347- 1361.
- Bhide, J.V., Dhakephalkar, P.K., and Paknikar, K.M. 1996. Microbiological process for the removal of Cr(VI) from chromat-bearing cooling tower effluent. *Biotechnology Letters*, 18, 667- 672.
- Brasquet, C.F., Reddad, Z., Kadirvelu, K.Cloirec, P.L. 2002. Modeling the absorption metal ions onto ACCs using surface complexation models. *Applied Surface Science*, 196,356- 365.
- Brady, J. and Tobin, M.J. 1995. Binding of hard and soft metal ions to *Rhizopus arrhizus* biomass. *Enzyme and Microbial Biotechnology*, 9; 791- 796).
- Bruins, M., Kapil, S., Oehme, F. 1999. Microbial resistance to metals in the environment. *Environmental Research*, 45, 198- 207.
- Burkinshaw, M.S., Willmott N.J., 1994. The dyeing of tencel ,part 1, Reactive dyes. *Dyes and Pigments*, 2, 129- 138.
- Cervantes, C., Garcia, J., Devars, S., Corona, F., Tavera, H., Guzman, J., Sanchez, R. 2001. Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiology*, 25, 335- 347.
- Chirwa, E.N., Wang, and Y.T. 1999. Simultaneous krom(VI) reduction a phenol degradation in an anaerobic consortium of bacteria. *Pergamon*, 1354, 00363- 2.
- Clarke A, Anliker, R., Poser, M. 1981. Use of the partition coefficient as an indicator of bioaccumulation tendency of dyestuffs in fish. *Chemosphere*, 3, 263- 274.
- Crini, G. 2005. Non-conventional low cost adsorbents for dye removal: A review. *Bioresource Technology*.
- Crist, R, Oberholzen, K., Norman, S., Nguyen, M. 1981. Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls. *Environmental Science and Technology*.
- Çetin, D.,and Dönmez, G. 2005. Decolorization of reactive dyes from textile effluent under anaerobic conditions. *Enzyme and Microbial Technology*, 38, 926- 9230.
- Dönmez, G. 2001. Bioaccumulation of Reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 30, 363- 366.
- Dursun, A., Uslu, G., Tepe, O. 2003. A comparative investigation on the bioaccumulation of heavy metal ions growing *Rhizopus arrhizus* and *Aspergillus niger*. *Biochemical Engineering Journal*, 2, 87-92.
- Fu, L.Y., Wen, X., Xu, L., Qian, Y. 2001. Removal of copper-phthalocyanine dye from wastewater by acclimated sludge under anaerobic or aerobic conditions. *Process Biochemistry*, 37, 151- 1156.
- Hussein, H., Farat, S., Kandil, K., Moawad, H. 2004. Tolerance and Uptake of heavy metals by *Pseudomonas* sp. *Process Biochemistry*.40, 951- 961.
- Kadukova, J.and Vircikova, E. 2005. Comparison of differences copper bioaccumulation and biosorption. *Environment International Volume*, 2, 227- 232.
- Kaptan, I.A.ve Kargı, F. 2000. Atıksulardan tekstil boyarmaddelerinin adsorbsiyonlu biyolojik arıtım ile giderimi. *Tubitak journals*, 2, 161- 69.
- Kılıç, N.K., Nielsen, J.P., Yüce, M., Dönmez, G. 2006. Characterization of a simple bacterial consortium for effective treatment of wastewaters with reactive dyes and krom(VI). *Chemosphere*, 67, 2826-831.
- Kocaer, O.F.ve Alkan, U. 2002. Boyarmadde içeren tekstil atıksularının arıtım alternatifleri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik Mimarlık Fakültesi Dergisi*, 7(1).
- Koçberber, N.K.ve Dönmez, G. 2006. Chromium(VI) bioaccumulation capacities of adapted mixed cultures isolated from industrial saline waters. *Bioresource Technology*. Article in press

- Lee, T.L., 1996. Removal of reactive dyes from aqueous solution different bacterial genera. *Water Science and Technology*, 10, 89- 95.
- Lee, J.W., Choi, S.P., Thiruvengatavhari, R., Shim, W.G., Moon, H. 2006. Evaluation of the performance of adsorption and coagulation processes for the maximum removal of reactive dyes. *Dyes and Pigments*, 69, 196- 203.
- Liu, Y.G., Xu, W.H., Zeng, G.M., Gao, H., Li, X. 2006. Cr(VI) reduction by *Bacillus* sp. isolated from chromium landfill. *Process Biochemistry*, 41, 1981-1986.
- Macaskie, L. and Dean, A. 1987. Use of immobilized biofilm of *Citobacter* sp. for the removal of uranium and lead from aqueous flows. *Enzyme and Microbial Biotechnology*, 1, 2- 4.
- Mangabeira, P.A., Mielke, M.S., Arantes, I., Dutrich, L., Silva, D.C., Almeida, A., Oliveira, A., Severo, M.I.G. 2006. Bioaccumulation of chromium in aquatic macrophyte *Borreria scabiosoides*. *Applied and Surface Science*. Article in press.
- Muter, O., Lubinya, I., Miller, D., Grigorjeva, L., Ventinya, E., Rapoport, A. 2002. Cr(VI) Sorption by intact and dehydrated *Candida utilis* cells in the presence of the other metals. *Process Biochemistry*, 38, 123- 131.
- Mohanty, K., Jha, M., Meikap, C., Biswas, M. 2005. Biosorption of Cr(VI) from aqueous solutions by *Eichornia crassipes*. *Chemical Engineering Journal*, 117, 71- 77.
- Moosvi, S., Kher, X. Madamvar, D. 2006. Isolation, characterization and decolorization of textile dyes by a mixed bacterial consortium JW-2. *Dyes and Pigments*, 1- 7.
- Morales, L. and Urbina, E. 2005. Removal of hexavalent chromium by *Trichoderma viride* in an airlift bioreactor. *Enzyme and Microbial Technology*.
- Nies, D.H. 1999. Microbial heavy metal resistance. *Microbial Biotechnology*, 51, 730- 750
- Nigam, P., Banat, I., Singh, D., Marcant, R. 1995. Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. *Process Biochemistry*, 5, 435-442
- Norberg, A. and Persson, H. 1984. Accumulation of heavy metal ions by *Zoogloea ramigera*. *Biotechnology and Bioengineering*, 3, 239- 246.
- Oneill, C., Lopez, A., Esteves, S., Hawkes, F.R., Hawkes, D.L., and Wilcox, S. 2000. Azo dye degradation in an anaerobic aerobic treatment system operating on simulated textile effluent. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 249- 254.
- Palma, A. and Paul, A. 2004. Aerobic chromate reduction chromium resistant bacteria isolated from serpentine soil. *Microbiological Research*, 159, 347- 354.
- Pandey, A., Singh, P., Iyengar, L. 2006. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes. *International Biodeterioration and Biodegradation*.
- Pearce, C.I., Lloyd, J.R., Guthrie, J.L., 2003, The removal of color textile wastewater using whole bacterial cells, a review. *Dyes and Pigments*, 3, 179- 196.
- Petrilli, F.L. and DeFlora S. 1977. Toxicity and mutagenicity of hexavalent chromium on *Salmonella thymurum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 33, 805- 839.
- Preetha, B. and Viruthagari, H. 2006. Bioaccumulation of chromium(VI), copper(II), Nickel(II) ions growing *Rhizopus arrhizus*. *Biochemical Engineering Journal*. 703, 00361- 5.
- Revenkar, M.S. and Lele, S.S. 2006. Synthetic dye decolorization by white rot fungi, *Ganoderma* sp. WR- 1. *Bioresource Technology*, 98, 775- 780.
- Robinson, T., McMulle, G., Roger, M., Nigam, P. 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource Technology*, 77, 247- 255.
- Sadettin, S. ve Dönmez, G. 2005. Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria. *Process Biochemistry*, 41; 836- 841.
- Srinath, T., Verma., Ramteke, P.W., Garg, S.K. 2002. Chromium(VI) biosorption and bioaccumulation chromate resistance bacteria. *Chemosphere*, 48, 427- 435.
- Sultan, S. and Hasnain, S. 2006. Reduction of toxic hexavalent chromium by *Ochrobacterium intermedium* strain STCr-5 stimulated heavy metals. *Bioresource technology*. Article in press.
- Sumathi, S. and Manju, B.S., 2000. Uptake of Reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*. *Enzyme and Microbial Technology*. 27, 347- 355.
- Şahin, Y. and Öztürk, A., 2004. Biosorption of chromium(VI) ions from aqueous solution the bacterium *Bacillus thuringiensis*. *Process Biochemistry*, 5; 1895- 1901.
- Ting, Y.P. and Lawson, F. 1991. The influence of cadmium and zinc on the cell size distribution of the alga *Chlorella vulgaris*. *The Chemical Engineering Journal*, 3, B23- 34.
- Thacker, U., Parikh, N., Shouche, Y., Madamvar, D. 2006. Hexavalent chromium reduction by *Providencia* sp. *Process Biochemistry*, 41, 1332- 1337.
- Tsezos, M. and Volesky, B. 1981. Biosorption of uranium and thorium. *Biotechnology and Bioengineering*, 3, 583- 604.

- Tsurata, T. 2005. Bioaccumulation of uranium and thorium from the solution containing both elements using various microorganisms. *Journal of Alloys and Compounds*.412, 1312- 1315.
- Vala, A., Anand, N., Bhatt, P., Joshi, H. 2004. Tolerance and accumulation of hexavalent chromium two seaweedassociated aspergilli. *Marine Pollution Burnettin*, 9- 10, 983-985.
- Yeşilada, O., Asma, D., Cing, S. 2002. Decolorization of textile dyes biyobirikim fungal pellets.*Process Biochemistry*. 38, 933- 938.

ÖZGEÇMİŞ

1983 yılında Muş'un Bulanık ilçesinde doğdu. İlk öğrenimini Muş'un Bulanık ilçesinde, lise öğrenimini Van'da tamamladı. 2000 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2004 yılında, Biyolog ünvanıyla mezun oldu. 2004 yılında girdiği Ankara Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü Orta Öğretim Alan Öğretmenliği Biyoloji Bölümü'nden 2005 yılı Haziran ayında mezun oldu. Aynı sene içinde Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü Temel Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.