

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**SURFAKTANLARIN REAKTİF BLACK 5 BOYA BİYOGİDERİMİNDE  
KULLANIMI**

**Gülşah TEKATLI**

**BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ANKARA  
2018**

**Her hakkı saklıdır**

## TEZ ONAYI

Gülşah TEKATLI tarafından hazırlanan “**Surfaktanların Reaktif Black 5 Boya Biyogideriminde Kullanımı**” adlı tez çalışması 19/06/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Danışman** : Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı



### Jüri Üyeleri:

**Başkan:** Prof.Dr. Zümriye AKSU  
Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı



**Üye** : Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı



**Üye** : Doç. Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY  
Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı.



**Yukarıdaki sonucu onaylarım.**

**Prof. Dr. Atila YETİŞEMİYEN**  
**Enstitü Müdürü**

## ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

19.06.2018



Gülşah TEKATLI

## ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

### SURFAKTANLARIN REAKTİF BLACK 5 BOYA BİYOGİDERİMİNDE KULLANIMI

Gülşah TEKATLI

Ankara Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Bu tez çalışması için bisküvi atığından izole edilen maya türlerinin ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundaki maya türlerinin, CTAB (Alkiltrimetil Amonyum Bromür) ve DBS (Dodesilbenzen Sulfonik Asit Sodyum) surfaktanları ile birlikte RB5 (Reaktif Black 5) giderimine etkileri incelenmiştir. Deneyin başında denenen 18 türden düşük kapasiteli olanlar elenmiş ve geriye kalan dört tür ile deneylere devam edilmiştir.

Mayaların boyarmaddeyi giderim mekanizmasını anlamak için hem biyobirikim hem de biyosorpsiyon deneyleri yapılmıştır. Biyobirikim deneylerinde sıcaklık 30 °C ve pH 6'da sabit tutulup, RB5 (20, 50, 200, 400, 600 mg/l) ve surfaktanların (0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 mM) konsantrasyonları değiştirilerek yaş mayaların RB5'i giderim oranlarına ve mayaların gelişimine bakılmıştır. Biyobirikim deney sonuçlarına göre ortamda 0.1 mM CTAB bulunduğu zaman mayaların giderimi sırasıyla: *Kluyveromyces marxianus* % 82.2, *Saccharomyces cerevisiae* % 92.7, *Candida tropicalis* % 95.5 ve *Candida lipolytica* % (97 giderim yapmıştır. Aynı deney koşullarında ortamda 0.05 mM DBS varken sonuçlar sırasıyla: % 8.3, % 62, % 53 ve % 63 bulunmuştur. Biyobirikim deney sonuçlarında her konsantrasyonda yüksek giderim yapan *C. tropicalis* türü ve kendi izole ettiğimiz *K. marxianus* türleri seçilip biyosorpsiyon çalışmalarına geçilmiştir.

Biyosorpsiyon deneylerine ise bu iki maya ile devam edilmiş olup; pH (4, 6, 8) ve DBS miktarları değiştirilerek (0.01, 0.02, 0.05 mM) deneyler yürütülmüştür. Bu çalışmalar sonucu optimum pH 4, optimum surfaktan konsantrasyonu 0.02 mM bulunmuştur. Biyosorpsiyonda ayrıca yaş ve kuru hücreler ile farklı biyokütle miktarları (1, 2, 4 g/l) da çalışılmıştır. Yapılan biyosorpsiyon deneyleri sonucunda kuru hücrelerin yaş hücrelerden daha fazla giderim yaptığı, biyokütle miktarı fazla olan deney düzeneklerinin az olanlara göre daha fazla giderim yaptığı, *C. tropicalis* türünün *K. marxianus*'a göre daha fazla giderim yaptığı bulunmuştur. Bütün deney sonuçlarını karşılaştırmak gerekirse *C. tropicalis* biyobirikimde % 95.6, yaş hücre ile yapılan biyosorpsiyonda % 2.9, kuru hücre ile yapılan biyosorpsiyonda % 36 boyarmadde giderimi yapmıştır.

**Haziran 2018, 67 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Surfaktan, Reaktif Black 5, Tekstil Boyası, Dekolorizasyon, Maya

## ABSTRACT

Master Thesis

### BIOREMOVAL OF REACTIVE BLACK 5 WITH SURFACTANTS

Gülşah TEKATLI

Ankara University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

The effects of yeast strains isolated from biscuit wastes and yeast strains of Ankara University Biotechnology Laboratory culture collection on the removal of RB5 (Reactive Black 5) with CTAB (Alkyltrimethyl Ammonium Bromide) and DBS (Dodecylbenzene Sulfonic Acid Sodium) surfactants were investigated for this study. At the beginning of the experiment, 18 yeasts were studied, low-quality ones eliminated and experiments continued with the remaining four species.

Both bioaccumulation and biosorption experiments have been carried out to understand the mechanism of dye removal of the yeasts. In bioaccumulation experiments, the temperature was kept constant at 30 °C and pH 6, the concentrations of RB5 (20, 50, 200, 400, 600 mg/l) and surfactants (0, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 mM) were varied to determine the rate of RB5 removal and the growth of the yeasts. When CTAB concentration is 0.1 mM, the accumulation capacity of the yeasts respectively: *K.marxianus* % 82.2, *S. cerevisiae* 92.7 %, *C. tropicalis* 95.5 %, *C. lipolytica* 97 %. In the same conditions when DBS concentration is 0.05 mM: *K.marxianus* 8.3 %, *S. cerevisiae* 62 %, *C. tropicalis* 53 %, *C. lipolytica* 63 %. As the result of this study, we continued to the biosorption study with *C. tropicalis* which has the highest capacity at the whole surfactant concentrations and *K. marxianus* that we isolated it.

The biosorption experiment was carried out by varying the pH (4, 6, 8) and DBS (0.01, 0.02, 0.05 mM) amounts. It is found that the optimum pH is 4 and optimum DBS concentration is 0.02 mM. The biosorbent system has also been studied with live and dead cells plus different biomass amounts (1, 2, 4 g/l). Dead cells have more biosorption capacity than the live ones, the highest biomass capacity has the most biosorption capacity and the *C. tropicalis* make biosorption more than *K. marxianus*. When we compare thw whole experiments, *C. tropicalis* can bioaccumulate RB5 95.6 %, bisorption with live cells 2.9 %, with dead cells 36 %.

**June 2018, 67 pages**

**Key Words:** Surfactant, Reactive Black 5, Textile Dye, Decolorization, Yeast

## TEŞEKKÜR

Tez alıŐmalarım sűresince her tűrlű desteęi, yardımı ve anlayıŐı gűsteren danıŐmanım űęretim űyesi Prof. Dr. Gűnűl DűNMEZ'e (Ankara Ŭniversitesi Fen Fakűltesi Biyoloji Anabilim Dalı) teŐekkűrlerimi sunarım. ÇalıŐmalarımı tamamlarken desteęini esirgemeyen sevgili eŐim aęrı TEKATLI'ya da sonsuz teŐekkűr ederim.

GűlŐah TEKATLI

Ankara, Haziran 2018



## İÇİNDEKİLER

### TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
SİMGELER DİZİNİ .....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xi
1. GİRİŞ .....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ .....	3
2.1 Boya ve Boyarmaddenin Tanımı .....	3
2.1.1 Boyarmaddelerin sınıflandırması .....	4
2.1.2 Çözünürlüklerine göre sınıflandırılması.....	4
2.1.3 Kimyasal yapıya göre sınıflandırması.....	4
2.1.4 Boyama özelliklerine göre sınıflandırması.....	5
2.2 Reaktif Boyanın Kimyasal Yapısı.....	6
2.3 Sürfaktanın Tanımı.....	8
2.4 Sürfaktanın Sınıflandırması.....	10
2.5 Boyarmadde İçeren Tekstil Atık Sularının Arıtım Yöntemleri.....	11
2.5.1 Kimyasal yöntemler .....	11
2.5.2 Fiziksel yöntemler .....	12
2.5.3 Biyolojik yöntemler .....	12
2.5.3.1 Aerobik yöntem .....	13
2.5.3.2 Anaerobik yöntem.....	13
2.5.3.3 Biyobirikim .....	14
2.5.3.4 Biyosorpsiyon .....	15
2.5.3.5 Adsorpsiyon .....	15
2.5.3.6 Biyodegradasyon .....	16
2.6 Sürfaktan ve Mayaların Atık Su Arıtımında Kullanımı .....	16
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	19

<b>3.1 Materyal</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1.1 Mikroorganizma</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1.2 Boyarmadde solüsyonu hazırlanması</b> .....	<b>19</b>
<b>3.1.3 Sürfaktan solüsyonu hazırlanması</b> .....	<b>19</b>
<b>3.2 Analiz Yöntemleri</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2.1 Boya konsantrasyonunun belirlenmesi</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2.2 Kuru ağırlığın belirlenmesi</b> .....	<b>20</b>
<b>3.2.3 Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan formüller</b> .....	<b>21</b>
<b>Mikroorganizmanın boya giderim verimi için kullanılan formül;</b> .....	<b>21</b>
<b>3.3 Yöntem</b> .....	<b>21</b>
<b>3.3.1 Mikroorganizma izolasyonu</b> .....	<b>21</b>
<b>3.3.2 Mikroorganizma kültür koşulları</b> .....	<b>22</b>
<b>3.3.3 Mikroorganizma alıştırma çalışmaları</b> .....	<b>22</b>
<b>3.3.4 Mikroorganizma seçimi</b> .....	<b>23</b>
<b>3.3.5 Sürfaktan konsantrasyonunun etkisi</b> .....	<b>23</b>
<b>3.3.6 RB5 konsantrasyonunun etkisi</b> .....	<b>23</b>
<b>3.3.7 Biyosorpsiyon çalışmaları</b> .....	<b>24</b>
<b>3.3.7.1 Biyokütle hazırlanması</b> .....	<b>24</b>
<b>3.3.7.2 Optimum pH belirlenmesi</b> .....	<b>24</b>
<b>3.3.7.3 Sürfaktan konsantrasyonlarının etkisi</b> .....	<b>24</b>
<b>3.3.7.4 Biyokütle miktarının etkisi</b> .....	<b>25</b>
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI</b> .....	<b>26</b>
<b>4.1 Mikroorganizma Seçimi</b> .....	<b>26</b>
<b>4.2 CTAB ile yapılan çalışmalar</b> .....	<b>27</b>
<b>4.3 DBS ile yapılan çalışmalar</b> .....	<b>34</b>
<b>4.4 Boyarmadde Konsantrasyonunun Etkisi</b> .....	<b>39</b>
<b>4.5 Biyosorpsiyon çalışmaları</b> .....	<b>42</b>
<b>4.5.1 Optimum pH belirlenmesi</b> .....	<b>42</b>
<b>4.5.2 Optimum sürfaktan konsantrasyonunun belirlenmesi</b> .....	<b>44</b>
<b>4.5.3 Biyokütle miktarının etkisi</b> .....	<b>45</b>
<b>4.5.4 Yaş biyokütle</b> .....	<b>45</b>
<b>4.5.5 Kuru biyokütle</b> .....	<b>47</b>



<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>49</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>58</b>
<b>EKLER.....</b>	<b>66</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>67</b>



## KISALTMALAR DİZİNİ

CTAB	Alkiltrimetil amonyum bromür
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	Amonyum sülfat
BG	Biyogiderim
BS	Biyosorpsiyon
$C_{f\text{RB5}}$	Son boya konsantrasyonu ( $\text{mg/l}^{-1}$ )
$C_{\text{OCTAB}}$	Başlangıç CTAB surfaktanı konsantrasyonu (mM)
$C_{\text{ODBS}}$	Başlangıç DBS surfaktanı konsantrasyonu (mM)
$C_{\text{ORB5}}$	Başlangıç boya konsantrasyonu ( $\text{mg/l}^{-1}$ )
DBS	Dodesilbenzen sulfonik asit sodyum tuzu
DTAB	Dodesiltrimetil amonyum bromür
HDTAB	Hegzadesiltrimetil amonyum bromür
$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Potasyum dihidrojen fosfat
$q_m$	Kurutulmuş bir gram hücredeki maksimum boyarmadde miktarı ( $\text{mg/g}$ )
RB5	Reaktif Black 5
SDS	Sodyum dodesil sülfat
$X_m$	Maksimum kurutulmuş hücre kütlesini ( $\text{g/l}$ )

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Reaktif Black 5'in kimyasal yapısı .....	4
Şekil 2.2 Azo kromofor grup .....	5
Şekil 2.3 Reaktif boyarmaddelerin kimyasal yapısı.....	6
Şekil 2.4 Sürfaktanın şematik gösterimi .....	8
Şekil 2.5 Sürfaktanın kimyasal yapısı.....	8
Şekil 2.6 Misellerin temiz su içindeki şekli dairesel.....	9
Şekil 2.7 Misellerin su yüzeyindeki şekli silindirik.....	9
Şekil 4.1 Sürfaktansız ortamda bulunan <i>K. marxianus</i> 'un RB5 biyogiderimi.....	27
Şekil 4.2 Farklı sürfaktan konsantrasyonlarında <i>K. marxianus</i> 'un RB5 biyogiderimi .....	28
Şekil 4.3 Sürfaktansız ortamda <i>S. cerevisiae</i> türünün boyarmadde giderimine etkisi .....	29
Şekil 4.4 <i>S. cerevisiae</i> türü içeren farklı sürfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi .....	29
Şekil 4.5 Sürfaktansız ortamda <i>C.tropicalis</i> türünün boyarmadde giderimine etkisi .....	30
Şekil 4.6 <i>C.tropicalis</i> türü içeren farklı sürfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi .....	31
Şekil 4.7 Sürfaktansız ortamda <i>C. lipolytica</i> türünün boyarmadde giderimine etkisi ....	32
Şekil 4.8 <i>C. lipolytica</i> türü içeren farklı sürfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi .....	33
Şekil 4.9 CTAB ve dört mayanın aynı koşullardaki gideriminin karşılaştırılması .....	34
Şekil 4.10 <i>K. marxianus</i> türü içeren farklı sürfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi.....	35
Şekil 4.11 <i>S.cerevisiae</i> türü içeren farklı sürfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi.....	36
Şekil 4.12 <i>C.tropicalis</i> türü içeren farklı sürfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi.....	37
Şekil 4.13 <i>C.lipolytica</i> türü içeren farklı sürfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi.....	38
Şekil 4.14 DBS ve dört mayanın aynı koşullardaki gideriminin karşılaştırılması.....	39

Şekil 4.15 <i>C.tropicalis</i> türü içeren farklı boyarmadde konsantrasyonlarının giderimi...	40
Şekil 4.16 <i>C.tropicalis</i> türü içeren farklı boyarmadde konsantrasyonlarının giderimi...	40
Şekil 4.17 <i>C.tropicalis</i> türü içeren farklı boyarmadde konsantrasyonlarının giderimi...	41
Şekil 4.18 <i>C.tropicalis</i> türü içeren farklı surfaktan ve boyarmadde konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi.....	42
Şekil 4.19 <i>C.tropicalis</i> türü içeren surfaktanlı ortamın farklı pH'larda biyosorpsiyon .....	43
Şekil 4.20 <i>K.marxianus</i> türü içeren surfaktanlı ortamın farklı pH'larda biyosorpsiyon .....	43
Şekil 4.21 <i>C.tropicalis</i> türü içeren ortamların farklı surfaktan konsantrasyonlarının biyosorpsiyona etkisi.....	44
Şekil 4.22 <i>K.marxianus</i> türü içeren ortamların farklı surfaktan konsantrasyonlarının biyosorpsiyona etkisi.....	45
Şekil 4.23 <i>C.tropicalis</i> yaş biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisi .....	46
Şekil 4.24 <i>K.marxianus</i> yaş biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisi.....	46
Şekil 4.25 <i>C.tropicalis</i> 'a ait biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisi.....	47
Şekil 5.1 <i>C. tropicalis</i> mayasının iki farklı surfaktan ile boyarmadde giderimine etkisi .....	49
Şekil 5.2 Yalnız mayanın ve yalnız surfaktanın boyarmadde giderimine etkisi.....	50

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Yüzey aktif maddelerin çeşitleri (Anonim 2018) .....	11
Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan surfaktanlar .....	20
Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan mayaların boyarmadde biyogiderim yüzdeleri .....	26



## 1. GİRİŞ

İnsanoğlu kendisiyle birlikte çevreyi de sürekli değiştirmektedir. Bu değişimlerden bazıları da sanayileşme ve kentleşmedir. Nüfus artışı ile birlikte sanayi faaliyetlerinin artması insanların çevre üzerindeki olumsuz etkilerini de beraberinde getirmiştir. Ülkemizdeki gübre, kimya, tekstil gibi sanayi faaliyetleri sularımızı tehdit etmektedir.

Türkiye’de endüstriyel sektörlerin en büyük payını tekstil ve hazır giyim sanayisi oluşturmaktadır. Gelişen bu sanayi kolu çevre sorunlarını da birlikte getirmiştir. Bu çevre sorunlarının başında su kirliliğinin artması ve temiz su kaynaklarının giderek azalması örnek verilebilir.

Tekstil ve hazır giyim sektörüyle ilişkili çevre sorunları, tipik olarak arıtılmamış sıvı atıkların boşaltılmasından kaynaklanan su kirliliğiyle bağlantılı olanlardır. Yıkama işlemlerinden kaynaklanan sıvı atıklar, lifler ve gres gibi azımsanmayacak düzeyde organik atık ve askıda kirlilik yükü barındırmaktadır. Sıvı atıklar genellikle sıcak, alkali ve keskin kokulu olup, boyama işlemlerinde kullanılan kimyasallar ile boyanmıştır. Boşaltılan kimyasalların bir kısmı zehirlidir ve sulardaki çözünmüş oksijen miktarını azaltabilir, su yaşamını tehdit edebilir veya akıntı yönündeki genel su kalitesini düşürebilir (Anonim 2012).

Tekstil sanayisinde ürün verimini artırmak için çeşitli kimyasal maddeler kullanılır. Bu kimyasallar, atık sular ile birlikte yer üstü ve yer altı sularına karışan kirletici maddelerdir. Tekstil atık sularında bulunan kirleticiler ise organik maddeler, boya, toksik maddeler, inhibitör bileşikler, adsorplanabilir klorlu bileşikler ve tuzlardır (şen ve Demirer 2003).

Tekstil atık sularında bulunan kirleticilerin en önemlilerinden biri de boyalardır. Tekstil endüstrisinde kumaşa renk vermek için boyama yapılır. Boyarmadde rengi veren kromofor ve boyayı ipliğe bağlayan fonksiyonel gruptan oluşur. Tekstil ipliğinin ve boyanın çeşitine bağlı olarak adsorpsiyon için farklı sıcaklık, pH ve yardımcı

kimyasallar kullanılır. Boyama işlemi çıkış sularında boyarmaddeler haricinde çok sayıda farklı bileşikler de bulunur. Boyalı atık suların karakterizasyonu, boyaların kimyasal yapısındaki farklılıklardan ve boyama işleminin değişim göstermesinden dolayı oldukça zordur. Boyama işlemi çıkış sularındaki kimyasal yük, işlemin kimyasının yanı sıra boyama işleminin kesikli ya da sürekli olmasına bağlı olarak da farklılıklar göstermektedir (Correia vd. 1994).

Tekstil atık sularında boyaların yanı sıra surfaktanlar da bulunabilir. Surfaktanlar hidrofilyk grubu ile uygulandığı ortamdaki yüzeye kolayca nüfus ederler. Buldukları sistemdeki fazların (mesela kumaş ve kir) ara yüzeyinde düzgün tabakalar oluştururlar. Ayrıca surfaktanlar endüstride pek çok alanda kullanılırlar. En geniş uygulama alanları tekstil işletmelerinde olup yıkama, temizleme ve ıslatma amaçlı kullanılmaktadır. Boyama işleminde kullanılan surfaktanlar da atık sular ile birlikte doğaya salınmaktadır (İlter 2015).

Bu tez çalışmasının amacı tekstilde kullanılan Reaktif Black 5 boyasının mikrobiyal giderimine farklı özellikteki iki surfaktanın etkisini belirlemektir. Çalışmada anyonik ve kationik özellikteki surfaktanların anyonik boya giderimine etkisi araştırılmıştır. Mikroorganizma gelişimi için besiyeri olarak şeker fabrikası atığı olan melas kullanılmıştır. Melas hem ucuz hem de zengin bir karbon kaynağıdır. Surfaktanların tek başlarına atık sularda boyarmaddeler gibi kirleticileri giderdiği bilinmektedir. Bu tez çalışması ile boyarmadde içeren atık suların, atık sulardan izole edilmiş mikroorganizmalarla surfaktanlı ortamlarda düşük maliyette ve yüksek verimle arıtım olanakları araştırılmıştır.

## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

### 2.1 Boya ve Boyarmaddenin Tanımı

Cisimlerin yüzeyinin dış tesirlerden korunması ya da güzel bir görünüm sağlanması için renkli hale getirilmesinde kullanılan maddelere boya denir. Konuşma dilinde çoğu kez boya ve boyarmadde kelimeleri birbiri ile karıştırılmasına rağmen bu iki sözcük eş anlamlı değildir. Boyalar bir bağlayıcı ile karışmış fakat çözünmemiş karışımlardır. Boya bir yüzeye kuruyan yağ ile birlikte fırça veya boyama tabancası ile uygulanır. Bu işlem gerçekte bir boyama değil örtmedir. Boyalar genellikle anorganik yapıdadır. Uygulandıkları yüzeyde hiçbir değişiklik yapmazlar. Kazımakla yüzeyden büyük parçalar halinde uzaklaştırılabilirler (Başer ve İnancı 1990).

Cisimlerin (kumaş, elyaf, vb.) kendilerini renkli hale getirmede uygulanan maddelere ise boyarmadde denir (Başer ve İnancı 1990; Saratele 2013). Boyarmaddeler genellikle çözeltiler veya süspansiyonlar halinde çeşitli boyama yöntemleriyle uygulanırlar. Bütün boyarmaddeler organik bileşiklerdir. Boyanacak cisimler boyarmadde ile devamlı ve dayanıklı bir şekilde cismin yüzeyini yapı bakımından değiştirirler. Genellikle boyarmadde, cismin yüzeyi ile kimyasal veya fizikokimyasal bir ilişkiye girerek birleşmiştir. Boyanan yüzey kazıma, silme, yıkama gibi fiziksel işlemlerle başlangıçtaki renksiz durumunu alamaz (Başer ve İnancı 1990).

Bir kimyasal maddenin boyarmadde olarak değerlendirilmesi için:

- Elektromanyetik spektrum görünür bölgesinde (400-700 nm) absorplama/yansıtma özelliği göstermesi,
- En az bir adet renk sağlayıcı (kromofor grup) gruba sahip olması,
- Konjuge bağ sistemine sahip olması (yapıda çift/tek bağ komşuluğu ve tekrarı),
- Elektronlarda rezonans sergilemesi gerekmektedir. Sıralanan bu maddelerden herhangi birinin eksik olması durumunda renkli maddeden söz edemeyiz (Tutak 2017).



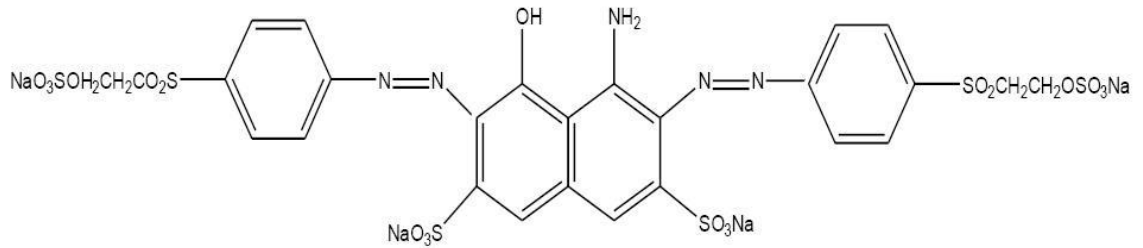
### 2.1.1 Boyarmaddelerin sınıflandırılması

Boyarmaddeler çözünürlük, kimyasal yapı, boyama özellikleri gibi çeşitli karakteristiklere göre sınıflandırılabilir (Başer ve İnancı 1990, Hunger 2007).

### 2.1.2 Çözünürlüklerine göre sınıflandırılması

Boyarmaddeler çözünürlüklerine göre sınıflandırılırken suda çözünen ve suda çözünmeyen olarak ikiye ayrılmaktadır. Suda çözünebilir boyarmaddeler tuz teşkil eden grubun karakterine göre anyonik, katyonik ve zwitter iyon karakterli olmak üzere 3'e ayrılır. Suda çözünmeyen boyarmaddeler ise substratta çözünen, organik çözücülerde çözünen, geçici çözünürlüğü olan, polikondensasyon, elyaf içinde oluşturulan ve pigmentler olarak ayrılmaktadır (Başer ve İnancı 1990, Shore 1990).

Reaktif Black 5 (RB5) çözünürlüğüne göre suda çözünen anyonik boyarmadde grubunda yer almaktadır. Anyonik suda çözünen boyarmaddeler suda çözünen grup olarak en çok sülfonik (-SO<sub>3</sub>-), kısmen de karboksilik (-COO-) asitlerin sodyum tuzlarını içerirler (-SO<sub>3</sub>Na ve -COONa) (Hameed vd. 2007) (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Reaktif Black 5'in kimyasal yapısı ( <http://www.kimyaevi.org/>)

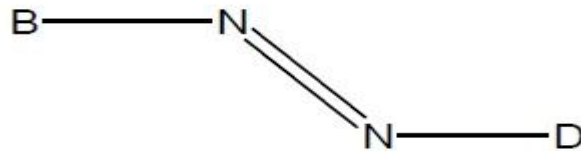
### 2.1.3 Kimyasal yapıya göre sınıflandırılması

Boyarmaddeleri yapısal olarak sınıflandırırken, molekülün temel yapısı esas alınabildiği gibi, molekülün kromojen ve renk verici özellikteki kısmı da esas kabul edilebilir. Buna göre boyarmaddeler azo, nitro ve nitrozo, polimetin, arilmetin, azo (18) annulen,

karbonil, kükürt boyarmaddeleri olmak üzere 7 gruba ayrılır (Başer ve İnancı 1990, Seventekin 1998, Kurbanova vd. 1998).

Reaktif Black 5 boyarmaddesi kimyasal yapısına göre azo boyarmadde sınıfına girmektedir. Organik boyarmaddelerin en önemli sınıfını oluşturan azo boyarmaddelerinin sayısı, diğer bütün sınıflardakinin toplamına eşittir. Bunlar, yapılarındaki kromofor grup olan azo (-N=N-) grubu ile karakterize edilir. Doğal maddelerin hiçbirinde azo grubuna rastlanmaz. Bu sınıf boyarmaddelerin hepsi sentetik olarak elde edilirler (Kaykıoğlu ve Debik 2006).

En önemli kromofor, yani renk veren grubu azo boyaları oluşturmaktadır. Geniş renk gamları, ucuz elde edilmesi ve güçlü renk verme kabiliyetlerine ( $\epsilon=30\ 000$ ) sahiptirler. Tüm boyarmaddelerin yaklaşık yarısı azo grubu içindedir. B ve D aromatik halkaları temsil etmek üzere azo boyarmaddesinin en basit gösterimi şekil 2.2'de sunulmuştur. Azo kromofor grup B grubu elektron kabul eden tarafı, D grubu ise elektron veren tarafı göstermektedir. Boyarmadde yapısında bir azo grup varsa monoazo boyası, iki azo grup varsa diazo boyası, üç azo grup varsa triazo boyası olarak isimlendirilmektedir (Tutak 2017).



Şekil 2.2 Azo kromofor grup (Tutak 2017)

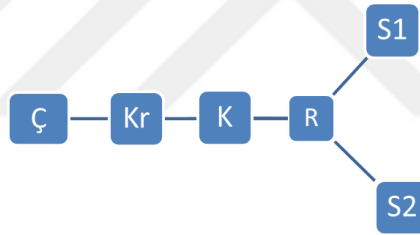
#### 2.1.4 Boyama özelliklerine göre sınıflandırılması

Boyarmaddeler boyama özelliklerine göre bazik boyar, asidik, direkt, mordan, reaktif, küpe, inkişaf, metal kompleks, dispersiyon, pigment ve krom mordant boyarmaddeler olarak sınıflandırılır (Yakartepe ve Yakartepe 1993).

Reaktif Black 5 boyama özelliğine göre reaktif boyarmadde sınıfında yer almaktadır. Reaktif boyarmaddeler içerdikleri reaktif gruplardan dolayı elyaf yapısındaki fonksiyonel gruplar ile kovalent bağ oluşturabilirler. Bütün reaktif boyarmaddelerde kromofor taşıyan renkli grup yanında, bir reaktif, bir de moleküle çözünürlük sağlayan grup bulunur. Bu boyarmaddeler elyaf, yün, ipek ve poliamid boyanmasında kullanılır (Başer ve İnancı 1990; Elwakeel 2009).

## 2.2 Reaktif Boyanın Kimyasal Yapısı

Reaktif boyarmaddeler diğer boyarmadde sınıflarına benzer bir yapı göstermekle birlikte fazladan lif ile reaksiyona giren reaktif grubu içerir (Şekil 2.3). Önem sırasına göre gruplar şöyle verilebilir: Kromofor grup, reaktif grup, köprü grubu, çözünürlük sağlayıcı grup şeklindedir (Tutak 2017).



Şekil 2.3 Reaktif boyarmaddelerin kimyasal yapısı (<http://www.sigmaaldrich.com>)

Ç: Çözünürlük sağlayan grup, Kr: Kromofor grup, K: Köprü grup, R:Reaktif grup, S1: Substitüsyon reaksiyonu sırasında yer değiştiren substitüent, S2: Diğer substitüentler.

Kromofor grup moleküle renk sağlayan gruptur. Başlıca azo, antrakinon ve diğer sınıflardan olabilir. Reaktif grup ise boyarmaddenin ikinci önemli yapısal parçasıdır. Lif ile reaksiyona girerek boyarmaddenin life bağlanmasını sağlar. Köprü grubu reaktif grupla kromofor grubu birbirine bağlar, çoğunlukla sentez açısından uygun olduğundan –NH- grubu tercih edilir (Hunger 2007, Tutak 2017).

Suda çözünen reaktif boyarmadde molekülleri reaktif grupları üzerinden negatif yüklerle yüklenen hidroksil gruplarına bağlanırlar. Boyarmadde molekülü ve lif arasında negatif yükten kaynaklanan itme potansiyelini azaltmak için boya banyosuna tuz ilave edilmektedir. Boyama esnasında bir miktar boyarmadde su ile reaksiyona girerek hidroliz olmakta ve reaktifliğini kaybetmektedir. Hidroliz olan boyarmaddeler liflere sadece fiziksel olarak bağlandığından, yıkanarak uzaklaştırılması gerekir. Aksi takdirde haslıklarda düşme meydana gelecektir (Zollinger 2003, Tutak 2017).

Reaktif boyarmaddeler, yüksek ölçüde suda çözünebilen boyarmaddelerdir. Ancak direkt boyarmaddelerin yerine düşük substantiviteye sahip olacak şekilde geliştirilmişlerdir. Kovalent bağın oluşumu alkali ortamda olur ve bazen tersinir olabilir. Buharlamada boyarmaddenin fiksajına yardım eder. Kovalent bağın kuvveti, metal koordinasyon bağlarından kuvvetlidir. Elektrostatik bağlar, hidrojen köprüleri, Van der Walls kuvvetleriye oluşan bağlar çok daha kuvvetlidir. Bunun sonucu olarak reaktif boyarmaddeler çok iyi yıkama, sürtme ve ışık haslıkları verir (Zollinger 2003, Tutak 2017).

Reaktif boyarmaddeler genel olarak reaktif grubun kimyasal yapısına göre veya bu grubun kimyasal reaktivitesinin derecesine göre sınıflandırılırlar. En yaygın olarak kullanılan reaktif boyarmadde tipleri azalan aktiviteye göre şu şekilde sıralanır:

- 1) Diklortriazin
- 2) Diflorkloroprimidin
- 3) Vinilsülfon
- 4) Monoklortriazin
- 5) Kloroprimidin
- 6) Akriolamino
- 7) Monoflortriazin

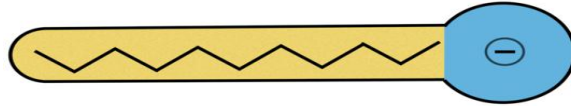
Reaktif grubun önemi ve özellikleri ise şu şekilde açıklanabilir: Lif ile reaksiyona girdiğinden boyarmadde ile lif arasında bir köprü görevi görmektedir, bu köprü ne kadar sağlam olursa boyanın haslığı daha yüksek olacaktır. Boyarmadde üretimi sırasında

reaktif grup kolay eklenebilir olmalıdır. Boyama esnasında az miktarda hidrolize uğramalı, life fiksaj oranı yüksek olmalıdır. Maliyetinin düşük olması tercih edilir. Hem boyarmadde, hem de boyanmış malzeme olarak depolama dayanıklılığı yüksek olmalıdır (Hunger 2007, Tutak 2017).

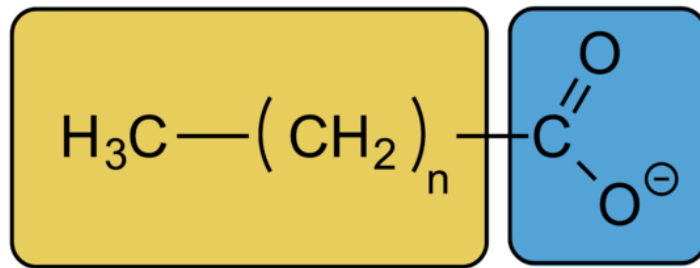
### 2.3 Sürfaktanın Tanımı

Sürfaktanlar, suyun yüzey gerilimini nispeten düşük konsantrasyonda azaltan, gözeneklere ve fissürlere girmek için suyu daha iyi bir "ıslatıcı madde" yapan organik bileşiklerdir (Tadros 2005). Hem kimyasal hem de biyolojik kökenli surfaktanlar, yüzey gerilimlerini azaltan, misel oluşturan ve arayüzlerde biriken amfipatik moleküllerdir (Van Hemme vd. 2006).

Sürfaktanlar aynı zamanda iki sıvı arasındaki yüzeyler arası gerilimi de etkiler. Su içerisinde kendi kendine "oto-organize" olabilen surfaktanlar suyu seven (hidrofilik) ve suyu sevmeyen (hidrofobik) kısımlardan oluşur (Fabry 1991, Holmberg vd. 2003, Hauthal 2008). (Şekil 2.4-2.5)



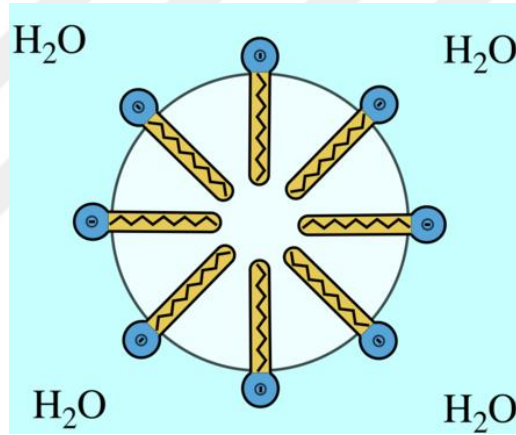
Şekil 2.4 Sürfaktanın şematik gösterimi (<http://www.wikiwand.com>)



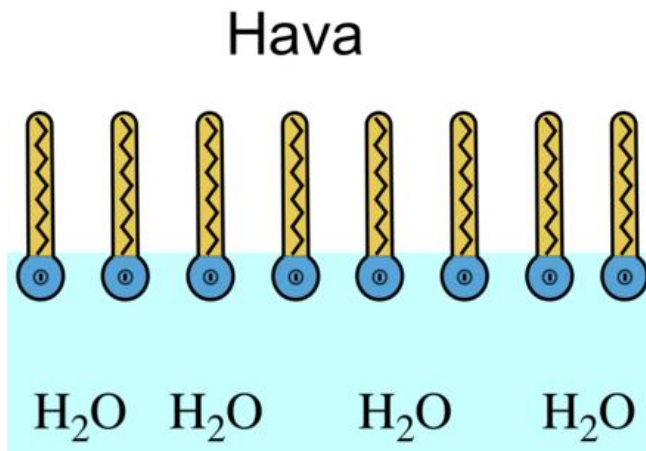
Şekil 2.5 Sürfaktanın kimyasal yapısı (<http://www.wikiwand.com>)

Sürfaktanlar suya ilave edildiğinde başlangıçta hidrofob kısım suyun dışında olacak şekilde yerleşirler. Sürfaktan konsantrasyonu arttıkça ise miseller oluşmaya başlar. Ancak misellerin oluşumundan sonra yani kritik misel konsantrasyonuna ulaştıktan

sonra bu maddeler etkisini göstermeye başlar. Miseller belirli bir konsantasyondan ve sıcaklıktan sonra oluşmaya başlar. Misellerin oluştuğu bu konsantrasyon kritik misel konsantrasyonu (KMK) ve sıcaklık da Krafft sıcaklığı olarak adlandırılır (Tadros 2005). Misel oluşumu çok sayıda molekülün çözücünün özelliğine göre hidrofobik ya da hidrofilik gruplarının bir araya gelerek farklı şekilde düzenlenmesiyle gerçekleşir (Şekil 2.6-2.7). Sulu çözeltilerde, hidrofilik gruplar sulu fazla temas halinde iken hidrofobik hidrokarbon zincirleri miselin içine doğru yönelerek surfaktan iyonlarının misel ya da agregatları oluşur. Çözücü ortamının apolar olduğu durumlarda ise ters (reverse) miseller oluşur. Bu durumda hidrofobik zincirler miselin dışında hidrofilik polar gruplar misel çekirdeğini oluşturmak üzere misel çekirdeğinde yerleşirler (Hosseinzadeh vd. 2008).



Şekil 2.6 Misellerin temiz su içindeki şekli dairesel (<http://www.wikiwand.com>)



Şekil 2.7 Misellerin su yüzeyindeki şekli silindirik (<http://www.wikiwand.com>)

Sulu ortamda büyük-dağınık hidrofilik grup ve uzun-ince hidrofobik grup içeren surfaktanlar küresel, büyük hidrofobik grup ve küçük hidrofilik grup içeren surfaktanlar ise lamelar ve silindirik misel oluşturma eğilimindedir. Yine konsantrasyon artışı ile de küresel olarak başlayan miseller değişik şekiller almaktadır. Misellerin bulundurduğu surfaktan molekül sayısı o maddenin agregasyon sayısı olarak adlandırılır. Noniyonik surfaktaların agregasyon sayısı 1000 ve üzeri olabilirken iyonik surfaktarlarda yüklü baş gruplar arasındaki elektrostatik itmelerden dolayı daha az sayıda monomer bir araya gelebilmekte ve iyonik surfaktanlar için agregasyon sayısı en fazla 100 olmaktadır (Batıgöç 2010).

Pek çok maddede hidrofobik kısım, 8-12 karbondan oluşan, düz veya çok az dallanmış bir hidrokarbondur.  $C_{12}H_{25}-$ ,  $C_9H_{19}-$ ,  $C_6H_4-$  örneğinde olduğu gibi, belirli bazı bileşiklerde karbon atomlarının bir kısmının yerini, bir benzen halkası alabilir. Hidrofilik fonksiyonel grup çok değişik olabilir.  $-CSO^{3-}$  veya  $SO^{3-}$  örneklerinde olduğu gibi anyonik,  $-N(CH_3)^+$  veya  $C_5H_5N^+$ , örneğinde olduğu gibi katyonik,  $-N(CH_3)(CH_2)_2COO^-$  örneğinde olduğu gibi anyonik ve katyonik,  $-(OCH_2CH)_nOH$  örneğinde olduğu gibi iyonik olmayan (noniyonik) bir yapıda olabilir. Petrolden elde edilen lineer alkil benzen sülfonatlar ile hayvansal ve bitkisel yağlardan elde edilen sülfatların oluşturduğu anyonik sınıf, en yaygın kullanılan bileşiklerdir (: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Boya>).





## 2.4 Surfaktanın Sınıflandırması

Surfaktanlar genellikle suyu seven hidrofilik grubun özelliğine göre sınıflandırılırlar (Holmberg vd. 2003).

Anyonik surfaktanlar suda çözündüklerinde hidrofilik grup negatif yük taşır. Karboksilatlar, sülfonatlar, sülfatlar ve fosfatlar örnek olarak verilebilir. Katyonik surfaktanlar suda çözündüklerinde hidrofilik grup pozitif yük taşır. Aminler ve kuaterner amonyum tuzları örnek verilebilir. Noniyonik surfaktanlar herhangi bir yüklü grup içermezler ve iyonlaşmazlar ancak eterik oksijenlerinin yaptığı hidrojen bağları sayesinde suda çözünebilirler. Etoksilatlar, esterler ve amidler örnek olarak verilebilir.

Negatif veya pozitif yük içermedikleri için sert suya karşı dayanıklıdır. Amfoterik surfaktanlar aynı molekül içerisinde anyonik ve katyonik hidrofilik grubu birlikte bulundurlar (Çizelge 2.1). Buldukları ortamın pH'ına göre pozitif, negatif veya yüksüz hal alırlar. Doğal surfaktanlar glukozidler, şeker esterleri, fosfolipidler ve proteinler bu gruba girmektedir. Doğada kolay parçalanabilirler ve zehir etkileri bulunmamaktadır (Batıgöç 2010, Çiftçi 2015).

Çizelge 2.1 Yüzey aktif maddelerin çeşitleri (<http://www.wikiwand.com>)

Yüzeyi Aktif Maddelerin Çeşitleri		
Yüzey Aktif Madde Grubu	Suyu Seven Kısmın Yük Durumu	Şematik Çizimi
İyonik olmayan (Noniyonik)	Yüksüz	
Anyonik	Eksi	
Amfoter	Artı ve eksi	
Katyonik	Artı	

## 2.5 Boyarmadde İçeren Tekstil Atık Sularının Arıtım Yöntemleri

### 2.5.1 Kimyasal yöntemler

Tekstil atık sularının kimyasal yöntemlerle arıtılması uzun yıllardan beri en çok rağbet gören yöntem olmuştur. Bunun en büyük nedeni şüphesiz atık su kalitesinde meydana gelen değişikliklerin kullanılan kimyasalda veya uygulanan dozda yapılan değişikliklerle kolayca tolere edilebilir olmasıdır (Socha, 1991). Tekstil endüstrisi atık sularının arıtımında en yaygın olarak kullanılan kimyasal yöntemler şunlardır: (Banat vd. 1996, Kocaer ve Alkan 2002).

- Oksidasyon
- Fenton ayıracağı



- Ozon
- Fotokimyasal yöntem
- Sodyum hipoklorit
- Elektrokimyasal
- Kimyasal flokleştirme ve çöktürme
- Cucurnituril ile arıtım

### **2.5.2 Fiziksel yöntemler**

Kirletici maddelerin boyutlarına, vizkozitesine ve özgül ağırlığına bağlı olarak uygulanan arıtma yöntemleridir ( Kocaer ve Alkan 2002). Başlıca üç alt maddeye ayrılır:

- Adsorpsiyon
- Membran filtrasyonu
- İyon değişimi

### **2.5.3 Biyolojik yöntemler**

Biyolojik arıtma sistemleri kimyasal ve fiziksel arıtma sistemlerine göre daha az çamur üretmesi, maliyetinin daha düşük olması veya alıcı ortamlar için zararlı yan ürünlerin oluşmaması gibi özelliklerinden dolayı tekstil endüstrisi atık sularının arıtımı için ideal çözüm olarak kabul edilmektedir ( Kocaer ve Alkan 2002).

Bakteriler, mantarlar ve algler atık suların biyolojik arıtmında kullanılan mikroorganizmalardır (Fu ve Viraraghavan 2001, Dönmez 2002).

### 2.5.3.1 Aerobik yöntem

Azo boyarmaddeler gibi sentetik boyaların aerobik şartlar altında mikrobiyal parçalanmaya karşı dirençli olmasının nedeni boya malzemelerinin, kimyasal ve ışık kaynaklı oksidatif etkiler sonucu renklerinin solmamasını sağlayacak şekilde sentezlenmeleridir. Boyarmaddelerin aerobik biyodegradasyonunu zorlaştıran diğer bir faktör ise moleküler ağırlıklarının yüksek olması nedeniyle biyolojik hücre zarından geçişlerinin zor olmasıdır (Willmott vd. 1998). Azo, diazo ve reaktif boyarmadde içeren bir tekstil atık suyu renginin mikrobiyal proseslerle giderilmesinin araştırıldığı bir çalışmada aerobik kolonlardan izole edilmiş saf bakteri kültürlerinin renk giderimini gerçekleştirmediği belirlenmiştir (Nigam vd. 1996). O'Neill vd. (2000) atık sudaki azo boyarmaddeler gibi reaktif boyaların ortalama % 10'unun aerobik biyokütleyle adsorbe olduğunu, geri kalanının ise aktif çamur tesisinden herhangi bir değişime uğramadan geçtiğini belirtmişler ve azo boyarmadde içeren tekstil atık sularının renginin giderilmesinde aerobik arıtmanın yetersizliğini vurgulamışlardır (Kocaer ve Alkan 2002).

Her ne kadar, tekstil atıklarından boyaların uzaklaştırılmasına yönelik bir dizi aerobik biyolojik süreçler, örneğin, beyaz-çürükçül mantarlar ve bakteriyel kültürler tarafından sıvı fermentasyonlar yoluyla, renk giderme gibi, araştırılmış olsa da, ticari pazarda bulunan daha fazla boyarmaddesi bulunduğu için, biyokimyasal oksidasyon önemli sınırlamalardan muzdariptir (Fu ve Viraraghavan 2001).

### 2.5.3.2 Anaerobik yöntem

Boyarmaddelerle yapılan anaerobik parçalanma çalışmaları, özellikle aerobik ortamda parçalanamayan suda çözünebilir reaktif azo boyarmaddeler üzerinde yoğunlaşmıştır. Çift bağlı azot halkasına bağlı bu boyaların aerobik proseslerle arıtılabilirliğinin mümkün olmaması anaerobik arıtmanın ön arıtma olarak kullanılmasını gerektirmektedir. Anaerobik olarak renk gideriminin gerçekleşebilmesi için ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. İlave karbon metan ve karbondioksit dönüştürülmekte ve elektronlar açığa çıkmaktadır. Bu elektronlar elektron taşıma zincirinden son

elektron alıcısına yani azo-reaktif boyaya taşınmaktave boyayla reaksiyona girerek azo bağıını indirgemektedir. Böylece anaerobik parçalanma sonucunda azo boyarmaddelerdeki renkten sorumlu azo bağı kırılmakta ve renk giderimi sağlanmaktadır. Bu olay oksijen tarafından inhibe edilmektedir. Bu nedenle boya atıklarını renksizleştirmek için ilk adım azo köprüsünün indirgenerek parçalandığı anaerobik koşullar altında arıtım olmalıdır. (Robinson vd., 2001).Yapılan bir çalışmada ilave karbon kaynağı olarak kullanılan optimum miktardaki tapioca nişastasının prosesin renk giderme kapasitesini arttırdığı vurgulanmıştır (Chinwetkitvanich vd. 2000). Azo boyalarının anaerobik biyolojik işlemleri iyi belgelenmiş olsa da tam mineralizasyon zordur ve ortaya çıkan aromatik aminler toksik ve kanserojen olabilir (Banat vd. 1996).

### **2.5.3.3 Biyobirikim**

Biyobirikim, aktif olarak büyüyen hücreler yoluyla kirleticilerin birikmesi olarak tanımlanır. Büyüyen hücreler yeterli miktarda kolay kullanılan karbon ve azot buluyorsa, çeşitli tekstil boyalarının çıkarılması için de biyolojik birikim yapılabilir. Boya çözeltisinin renk giderimi, ya biyokütle ya da biyobirikimi üzerine adsorpsiyona bağılı olabilir. Yaş hücre sistemlerini kullanan biyo-alım için önemli pratik sınırlamalar vardır. Belki de en önemli sınırlama, hücre büyümesinin inhibe edilmesidir. Boya konsantrasyonları çok yüksek olduğunda, atık suların diğer bileşenleri yaş hücreler için toksik olabilir, örneğin aşırı pH ve yüksek tuz konsantrasyonu (Dönmez ve Aksu 1999, Dönmez 2002).

Bununla birlikte, mayalar tarafından boyaların biyoakümüülasyonu sağlanmakla birlikte, yüksek boya konsantrasyonlarında hücre büyümesinin engellenmesi ve harici olarak sağlanan metabolik enerji gereksinimi ile ilgili önemli sınırlamalar vardır. Bu nedenle, büyük miktarlarda atıklardan boyaların giderilmesinde etkili olan ve biyosorpsiyon gibi düşük maliyetli alternatif yöntemlerin bulunması gerekmektedir (Aksu 2005).

#### **2.5.3.4 Biyosorpsiyon**

Biyosorpsiyon terimi, metabolizmadan bağımsız süreçleri belirtmek için kullanılır. Biyosorpsiyonun avantajları yüksek seçicilik ve verimlilik, maliyet ve iyi bir giderim performansındır; bol miktarda (deniz yosunu) veya diğer endüstriyel işlemlerden (fermantasyon atıkları, aktif çamur işlem atıkları) oluşan hammaddeler, genellikle iyon değiştirici reçinelerinkiyle karşılaştırılabilir performans gösteren biyosorbentler olarak kullanılabilir. Hem yaş hem de kuru (ısıyla öldürülmüş, kurutulmuş, asitli ve / veya başka şekilde kimyasal olarak işlenmiş) biyokütle, tehlikeli organik maddeleri uzaklaştırmak için kullanılabilir, ancak adsorpsiyon sırasında yaş bir biyokütlenin muhafaza edilmesi zordur. Çünkü mikroorganizmalara sürekli bir besin kaynağı ve organik toksisiteden kaçınılmasını gerektirir (Aksu 2005). Biyosorpsiyon mekanizmaları, yaş mantarlar tarafından boyaların renk giderilmesinde önemli bir rol oynayabilir. Kuru hücreler için, mekanizma, adsorpsiyon, birikim ve iyon değişimi gibi fizikokimyasal etkileşimleri içeren biyosorpsiyondur (Sen vd. 2016).

#### **2.5.3.5 Adsorpsiyon**

Boyaların adsorpsiyonu, boya molekülündeki moleküler yapı ve tip, sayı ve yer değiştiricilerin konumu gibi boya özelliklerine bağlıdır (Reife ve Freeman 1996).

Başlıca polisakkaritler, proteinler ve lipitlerden oluşan hücre duvarları birçok fonksiyonel grup sunmaktadır. Boyalar hücre yüzeyinde bu aktif gruplar ile farklı bir şekilde etkileşime girebilir. Adsorpsiyon, boya molekülündeki hidroksil, nitro ve azo gruplarının varlığıyla artar, ancak sülfonik asit grupları tarafından azalır (Reife ve Freeman, 1996). Artık mikrobiyal biyokütle tarafından adsorpsiyonun etkinliği ve seçiciliğinin iyon değiştirme mekanizmalarına bağlı olduğu bilinmektedir.

### 2.5.3.6 Biyodegradasyon

Boyaların biyobozunması (enzimatik bozunma) yaş hücreler için, boyaların renk giderimi için başlıca mekanizma, lignin modifiye edici enzimler, lakkaz, manganez peroksidaz (MnP) ve lignin peroksidazın (LiP) üretilmesinden ötürü biyolojik bozundurmada. LiP, MnP ve lakkazın boyaların renginin giderilmesine olan nispi katkısı her bir mantar için farklı olabilir. Son zamanlarda, belirleme konusunda artan bir ilgi var Bu organik kirleticilerin nasıl parçalandığına dair tam mekanizma (Sen vd. 2016).

### 2.6 Surfaktan ve Mayaların Atık Su Arıtımında Kullanımı

Dönmez (2002) tarafından reaktif tekstil boyalarının (Remazol Blue, Reactive Black, Reactive Red) biyobirikimi, başlangıç pH'ı ve boya konsantrasyonu değiştirilerek, melashı besiyerinde büyütülen *Candida tropicalis* mayası ile incelenmiştir. Denenen tüm boyalar için optimum pH değeri 3 olarak tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra biyobirikim miktarı azalan boya konsantrasyonlarıyla artmıştır. Yüksek boya konsantrasyonlarının ise mayanın büyümesini inhibe ederek inkübasyon süresinin uzamasına neden olduğu belirlenmiştir.

Gül ve Dönmez (2012) boya giderimini belirlemek için yaptıkları çalışmada ortamda sadece fungus bulunan, sadece katyonik surfaktanlar bulunan ve her ikisinin de bulunduğu düzeneklerde deney yapmışlardır. Alkythrimethyl ammonium bromide (CTAB) için optimum pH (3-7), başlangıç boya konsantrasyonu (50-800 mg/l) ve surfaktan konsantrasyonu (0.5 ve 1 mM) üç günlük inkübasyon süresi boyunca belirlenmiş ve Remazol Blue boya giderimi Dodesiltrimetil amonyum bromid (DTAB) ve Hegzadeciltrimetil amonyum bromür (HTAB) ile karşılaştırılmıştır. Surfaktan etkisini belirlemek için yapılan deneylerde, sistemde oluşan maksimum boya giderim aktivitesi fungus ve 0,5 mM CTAB'nin birlikte bulunduğu ortamda % 77.52 gerçekleşmiştir. Sadece mantarın ve sadece CTAB'nin boya giderim aktivitesi, 100 mg/l boya konsantrasyonunda % 21.2 ve % 71.2 ölçülmüştür. Boya giderimi için en uygun koşullar, pH 5, 100 mg / L ve 1 mM CTAB konsantrasyonu gibi düşük başlangıç boya

konsantrasyonları, üç günlük inkübasyonun sonunda hem mantar hem de CTAB içeren ortamda % 95.4 gözlenmiştir. Boya gideriminin fungus ve diğer katyonik surfaktanlarla aynı koşullarda gerçekleştirilen deneylerde karşılaştırılması sonucunda maksimum boya giderimi fungus ve 1 mM HTAB'nin birlikte bulunduğu ortamda % 98.4 olarak gözlenmiştir. Surfaktan ve mantar içeren sistemler, tekstil atıklarından etkin bir şekilde boya alınması için yeni yaklaşımlardır.

Gelişmekte olan *Rhizopus arrhizus* mantar suşunun Tiamin içeren besiyerinde boya giderim kapasitesini araştırmak için anyonik reaktif boyalar olan Reaktif Kırmızı RB (RR), Reaktif Siyah B (RBB) ve Remazol Mavisi (RB) ve katyonik boya olan Metilen Blue (MB) boyları ile deney yapılmıştır. Optimum pH'ı bulmak için pH 2-6 arası deneyler yapılmıştır. PH 2'de fungal gelişme gözlenmemiş, anyonik boyalar için maksimum boya giderimi pH 3'te, katyonik boya için maksimum giderim pH 6'da gözlemlenmiştir. Büyüyen *R. arrhizus* suşu, pH 3'te 2 gün içinde RB'nin % 100'ünü, 3 gün içinde RBB'nin % 100'ü, 8 günde RR'nin % 71.83'ü ve 8 gün içinde pH 6'da 100 mg/l boya konsantrasyonunda MB'nin % 92.5'i renksizleştirdi. Sonuçlar, büyüyen *Rhizopus arrhizus*'un tekstil atıklarından farklı boyalı boyaların uzaklaştırılmasında etkili bir aday olabileceğini göstermiştir (Gül 2013).

Asit Turuncu 7, Asit Kırmızı 18 ve Reaktif Siyah 5'in *Schizophyllum commune* 'nin büyüme ve renk giderim özellikleri üzerine etkisi başlangıç pH'ı 1-6 ve başlangıç boya konsantrasyonu (10-100 mg/l) olmak üzere incelenmiştir. Optimum pH değerinin bu azo boylarının büyümesi ve renk giderimi için 2 olduğu bulunmuştur. Azo boylarının konsantrasyonunun arttırılması, *S. commune*'nin gelişimini inhibe etmiştir. *S. commune* 'nin boyları giderim oranları sırasıyla Asit Turuncu 7 44.23(mg/g) , Asit Kırmızısı 18 127.53 (mg/g) ve Reaktif Siyah 5'i 180.17 (mg/g) gidermiştir. Yüksek renk giderimi düşük boya konsantrasyonlarında gözlemlenmiştir. Son olarak, mevcut araştırmada kullanılan diğer iki boyaya kıyasla Reaktif Siyah 5 boyası daha fazla giderilmiştir (Padmesh vd. 2006).

Mayanın renk giderme mekanizmaları adsorpsiyonu, enzimatik bozunum ya da her ikisinin bir kombinasyonunu içerebilir (Yu vd. 2005; Aksu ve Dönmez, 2005;

Safarikova vd. 2005; Safarik vd. 2007). Mayaların boya giderimi düşük pH'da daha etkilidir. Örneğin, *Candida albicans*'taki Direct Violet 51'in maksimum birikimi pH 2.5'te (Vitor ve Corso, 2008) ve Violet 3'ün *Candida tropicalis* pH 4'te meydana gelir (Charumathi ve Nilanjana, 2010).

Ye vd. (2010), atık suların elektrolitik atık sulardan *Candida lipolytica* ve kanalizasyon çamuru karışımı ile sulu solüsyonlardan Cr, Cu, Ni ve Zn'den uzaklaştırılmasını araştırmışlardır. Yaş *C. lipolytica*'nın biyosorpsiyon ve biyolojik giderme potansiyelleri, hücre duvarı ve sitoplazmandan daha iyi olduğunu bulmuşlardır.

Maya türleri azo boyaların ve ağır metallerin gideriminde kullanılmıştır (Ertugrul vd., 2009, Fairhead ve Thony-Meyer , 2012). Hızlı büyüme, filamentli mantarlara kıyasla daha hızlı renk giderme ve olumsuz ortamlarda hayatta kalma kabiliyeti (Martorell vd., 2012) mayaların tercih nedeni olmuştur.

Yapılan literatür taramasına göre surfaktanların ve mayaların tekstil boyarmaddeleri arıtımında kullanıldığına dair araştırmalar bulunmuştur. Bu çalışmada da dört farklı mayanın iki farklı surfaktanlı ortamda RB5 boyasını biyolojik olarak giderim kapasitesi incelenmiştir. Doğaya bırakılan atık sularda tekstil boyarmaddesinin yanında surfaktanın da bulunması, bu çalışmanın atık sularla başa çıkılabilirliği açısından gerçeğe yaklaştırmıştır.

### **3. MATERYAL VE YÖNTEM**

#### **3.1 Materyal**

##### **3.1.1 Mikroorganizma**

Bu tez çalışmasında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bkorumü Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı kültür koleksiyonunda bulunan 5 tür ve bisküvi atığından izole edilen 13 tür kullanılmıştır.

##### **3.1.2 Boyarmadde solüsyonu hazırlanması**

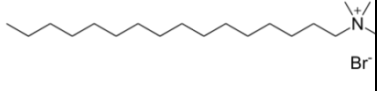
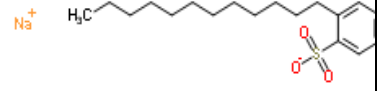
Sigma markalı toz Reaktif Black 5 (RB5) boyarmadde için stok solüsyonu, % 2 (w/v) konsantrasyonunda distile suda çözülüp otoklavlanarak hazırlanmıştır. Deney düzenekleri hazırlanırken bu stoktan alınan boya Melaslı besiyerlerine eklenmiştir.

##### **3.1.3 Surfaktan solüsyonu hazırlanması**

Bu çalışmada surfaktan olarak anyonik olan Dodesilbenzen Sulfonik Asit Sodyum tuzu (DBS) ve katyonik olan Alkiltrimetil amonyum bromür (CTAB) kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Surfaktanın steril distile suda çözülmesiyle hazırlanan surfaktan stok solüsyonlarının konsantresi  $1 \text{ g l}^{-1}$  olup istenilen miktarlarda Melaslı besiyerlerine eklenmiştir.



Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan surfaktanlar

Surfaktan	Sınıfı	Molekül Ağırlığı (g/mol)	Kimyasal Formül	Kimyasal Şekil
CTAB	Katyonik	333,37	$(C_{16}H_{33})N(CH_3)_3Br$	
DBS	Anyonik	348,48	$C_{18}H_{29}NaO_3S$	

## 3.2 Analiz Yöntemleri

### 3.2.1 Boya konsantrasyonunun belirlenmesi

RB5 konsantrasyonunun belirlenmesi için analiz zamanı alınan 2 ml örnekler 10000 devir/dakika'da 10 dakika santrifüj edildikten sonra süpernetantlar 600 nm dalga boyunda spektrofotometrede analiz edilmiştir (Sadettin ve Dönmez 2006). Spektrofotometrik analiz için kontrol olarak hücre bulunmayan Melaslı besiyeri kullanılmıştır. Spektrofotometrik analizler laboratuvarında mevcut bulunan Shimadzu UV 2001 model spektrofotometre ve santrifüj işlemi de Med. Instruments MPW- 351 R model santrifüj kullanılarak yapılmıştır.

### 3.2.2 Kuru ağırlığın belirlenmesi

İnkübasyon süresi sonunda mikrobiyal gelişim kuru ağırlık yöntemiyle belirlenmiştir. Kurutma kâğıdı ile süzülen mikroorganizmalar etüvde (Nüve

FN 400) 70 °C'de 24 saat kurutulmuş ve tartılmıştır.

### 3.2.3 Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan formüller

Mikroorganizmanın boya giderim verimi için kullanılan formül;

$$\% \text{ Boya giderim (BG)} = ((\text{CoRB5} - \text{Cf RB5}) / \text{CoRB5}) \times 100$$

Gram başına düşen maksimum spesifik boya alımı ( $qm$ ) için kullanılan formül;

$$qm = (\text{CoRB5} - \text{Cf RB5}) / X_m$$

$qm$ : kurutulmuş bir gram hücredeki maksimum boya miktarı ( $\text{mgg}^{-1}$ )

$X_m$ : maksimum kurutulmuş hücre kütlesi ( $\text{gl}^{-1}$ )

CoRB5: başlangıç boya konsantrasyonu ( $\text{mg/l}^{-1}$ )

Cf RB5: son boya konsantrasyonu ( $\text{mg/l}^{-1}$ )

( $qm$  değerleri hesaplanırken mikroorganizma ve surfaktanının birlikte bulunduğu ortam değerinden sadece surfaktanın bulunduğu ortam değeri çıkarılmıştır.)

### 3.3 Yöntem

Melashlı besiyerinde üremekte olan aktif hücrelerle yapılan biyobirikim çalışmalarında, surfaktanların RB5 giderimine etkisi ortam pH'sı, RB5 ve surfaktan konsantrasyonları değiştirilerek incelenmiştir.

RB5 ve surfaktan içermeyen besiyerinde geliştirilmiş biyokütle ile yapılan biyosorpsiyon denemelerinde ise, farklı kütlelerdeki yaş ve kuru maya hücreleri ile biyokütlenin surfaktanlı ortamda RB5 biyosorpsiyonuna etkisi araştırılmıştır.

#### 3.3.1 Mikroorganizma izolasyonu

Çalışmada Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı'nın kültür koleksiyonu dışında kullanılan türler bisküvi atığından izole edilmiştir. Atıktan alınan örnekler petride bulunan Melashlı katı besiyerlerine çizgi ekim tekniği ile ekilerek, 30 °C'de 3 gün etüvde inkübasyona bırakılarak saflaştırılmıştır. Melashlı katı besiyerinin içeriği  $1\text{gl}^{-1}$   $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $0.5\text{gl}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{SO}_4$ , % 1.5 g/v agar ve % 8 v/v melas olacak şekilde hazırlanıp

0,1 M NaOH ile pH 6' ya ayarlanmıştır (Aksu ve Dönmez 2005). Yüksek kapasite ile RB5 giderimi yapan tür Ref Gen firmasında tanılanmıştır.

İzole edilen mayanın Refgen Biyoteknoloji'de tanılaması gerçekleştirilmiştir. Maya genomik DNA' ları Nanobiz Genomik DNA İzolasyon Kiti ile elde edilmiştir. PCR koşulları: 50 uL hacimde 1x taq buffer, 1.5 mM MgCl, 0.2 mM Dntp mix, 0.3 pmol ITS1 ve ITS4 primerleri 1.5 U taq Polimeraz kullanılmıştır. PCR, 94 °C'de 1 dakika 30X (94 °C' de 45s + 55 °C'de 45s + 72 °C'de 45s) şeklindedir. Dizi analizi için kullanılan kit, Bigdye Cycle Squencing Kit v.3.1 dir. ABI 3100 Genetic Analyzer cihazında yürütülmüştür. Çıkan diziler gen bankasındaki verilerle karşılaştırılıp mikroorganizmanın tanılaması yapılmıştır. Sonuçta mikroorganizma *Kluyveromyces marxianus* olarak belirlenmiştir.

### **3.3.2 Mikroorganizma kültür koşulları**

Çalışmada farklı konsantrasyonlarda RB5 ve surfaktan içeren Melaslı sıvı besiyerleri kullanılmıştır. Kültür ortamının pH'ı, 0.1 M NaOH veya 0.1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile istenilen değere ayarlandıktan sonra besiyerleri, 250 ml'lik erlenlere 100 ml olacak şekilde aktarılmıştır. Besiyerlerine aktif kültürlerden 2 ml mikroorganizma inoküle edilerek, 30 °C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmada mikroorganizma bulunmayan, aynı miktarda surfaktan ve boya içeren besiyerleri kontrol amacıyla kullanılmıştır.

### **3.3.3 Mikroorganizma alıştırma çalışmaları**

Mikroorganizmalar ana deney erlenlerine aktarılmadan önce aktarılabacakları ortamdaki ile aynı miktarda RB5 ve surfaktan konsantrasyonu içeren melaslı besiyerinde üçer gün inkübe edilerek iki kez alıştırma yapılmış, ardından bu aktif kültürler ana besiyerlerine aktarılmıştır.

### **3.3.4 Mikroorganizma seçimi**

Bisküvi atığından izole edilen ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundan alınan türler, 0.05 mM CTAB ve 20 mg/l RB5 içeren Melaslı sıvı besiyerlerinde pH 6'da bir gün boyunca 30 °C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır.

### **3.3.5 Surfaktan konsantrasyonun etkisi**

Deneylede maya gelişimini engellemeyen ve boya giderim kapasitesini arttıran surfaktanları seçmek amacıyla CTAB ve DBS surfaktanları 0.01 mM, 0.02 mM, 0.05 mM, ve 0.1 mM olmak üzere farklı konsantrasyonlarda denenmiştir. Seçilen mikroorganizmalar farklı konsantrasyonlarda surfaktan ve 50 mg/l Reaktif Black 5 içeren ortamlarda pH6'da üç gün boyunca 30 °C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmalarda mikroorganizma bulunmayan aynı miktarda boya ve surfaktan içeren ortamlar kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

### **3.3.6 RB5 konsantrasyonunun etkisi**

Seçilen bir mikroorganizma ve surfaktan ile yapılan deneylede, surfaktan içeren ve içermeyen 200 mg/l, 400 mg/l, 600 mg/l boyalı melaslı besiyerlerine aktifleştirilmiş mikroorganizmalar inoküle edilmiştir. Besiyerleri pH6'da 60 saat boyunca 30 °C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmalarda mikroorganizma bulunmayan aynı miktarda boya ve surfaktan içeren ortamlar kontrol grubu olarak kullanılmıştır.

### **3.3.7 Biyosorpsiyon alışmaları**

#### **3.3.7.1 Biyoktle hazırlanması**

Biyosorpsiyon çalışmasında, biyobirikim denemeleri sonucu surfaktanlı ortamda yüksek kapasitede boya giderimi yapan bir mikroorganizma (*C. tropicalis*) ve tek bir surfaktan (DBS) kullanılmıştır. Seçilen mikroorganizma, RB5 ve surfaktan olmayan melaslı besiyerinde 3 gün 30  C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde geliştirilmiştir. Elde edilen biyoktle, yaş biyoktle ile yapılan biyosorpsiyon çalışmalarında direk tartılarak kullanılmıştır. Yaş biyoktlenin etüvde 70  C'de 24 saat kurutulmasıyla da kuru biyoktle ile yapılan deneyler gerçekleştirilmiştir.

#### **3.3.7.2 Optimum pH belirlenmesi**

Hazırlanan yaş biyoktlenin, 200 mg/l boya ve 0.02 mM DBS bulunan biyosorpsiyon ortamında, en iyi RB5 biyosorpsiyonu yaptığı pH'ı bulmak için pH 4, 6 ve 8 olacak şekilde  farklı pH denenmiştir. Biyosorpsiyon deneyleri, 250 ml'lik erlenlerde toplam hacim 100 ml olacak şekilde distile suya, RB5 ve surfaktan ilave edildikten sonra pH ayarı yapılarak gerçekleştirilmiştir. Denemelerde 1g/L kuru ağırlık olacak şekilde yaş biyoktle kullanılmıştır. Yaş biyoktle ilave edilen erlenler 4 saat boyunca 30  C, 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca 1., 2. ve 4. saatlerde erlenlerden örnek alınarak boya analizi yapılmıştır.

#### **3.3.7.3 Surfaktan konsantrasyonlarının etkisi**

Çalışmada kullanılan mikroorganizmaların optimum pH değerindeki boya biyosorpsiyonunda etkili surfaktan konsantrasyonunu bulmak amacıyla, 200 mg/l RB5, dört farklı DBS konsantrasyonunda (0.0 mM, 0.01 mM, 0.02 mM ve 0.05 mM) denemeler yapılmıştır. Yaş biyoktle (1g/L kuru ağırlık olacak şekilde) ilave edilen erlenler 4 saat boyunca 30  C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde inkübe

edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca 1., 2. ve 4. saatlerde erlenlerden örnek alınarak boya analizi yapılmıştır.

#### **3.3.7.4 Biyokütle miktarının etkisi**

Boya biyosorpsiyonunu en iyi gerçekleştiren biyokütle miktarını belirlemek amacı ile 1  $g l^{-1}$ , 2  $g l^{-1}$  ve 4  $g l^{-1}$  kuru ağırlık olacak şekilde tartılan yaş ve kuru maya hücreleri, 0.02 mM DBS ve 200 mg/l RB5 içeren biyosorpsiyon ortamına aktarılmıştır. Denemeler 4 saat boyunca 1., 2. ve 4. saatlerde erlenlerden örnek alınarak, 30 °C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir.

## 4. ARAŞTIRMA BULGULARI

### 4.1 Mikroorganizma Seçimi

Çalışmada kullanılmak üzere mikroorganizma seçmek için bisküvi atığından izole edilen 13 tür ve Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarı kültür koleksiyonundaki beş tür, 0.05 mM CTAB ve 20 mg/l RB5 ile pH 6'da 24 saat boyunca 30°C'de 100 devir/dakika'lık çalkalamalı inkübatörde inkübasyona bırakılmıştır. Bu 18 türden dört tanesinin verimliliği tez çalışması için uygun görülüp diğer çalışmalar bu dört tür üzerinden yürütülmüştür. Bu türlerin isimleri sırasıyla: *Candida tropicalis*, *Candida lipolytica*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*'dur (Çizelge 4.1). Çalışılan dört tür içinden *Kluyveromyces marxianus* bisküvi atığından izole edilmiş ve 18S rRNA dizisi belirlenerek tanılanmıştır.

Çizelge 4.1 Çalışmada kullanılan mayaların boyarmadde biyogiderim yüzdeleri

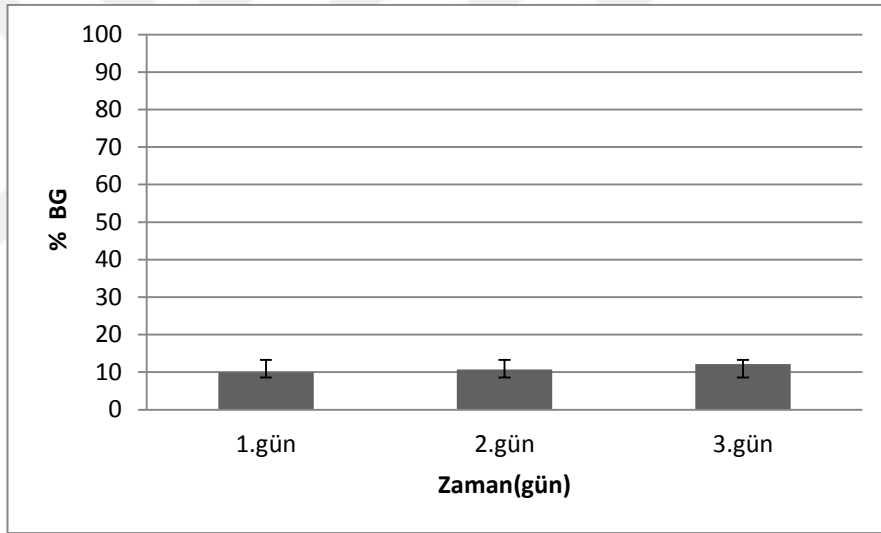
İzolatlar	% Biyogiderim
6,1	18,0
6,3	22,5
<i>Candida tropicalis</i>	79,3
<i>Candida lipolytica</i>	91,7
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	71,0
<i>Kluyveromyces marxianus</i>	78,9
G1	9,20
G2	0,40
G3	10,0
G4	5,90
G5	7,30
G6	3,30
G7	0,40
G8	0,40
G9	47,0
G10	5,90
G11	34,5
G14	28,0

(C<sub>ORB5</sub>: 20 mg/l<sup>1</sup>; CTAB: 0.05 mM; pH: 6; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 24 saat)

## 4.2 CTAB ile yapılan çalışmalar

Çalışmada kullanılan dört maya türünün 50 mg/l başlangıç RB5 konsantrasyonundaki boyarmadde giderimi, 0.00, 0.01, 0.02, 0.05 ve 0.10 mM CTAB bulunan besiyerlerinde üç günlük inkübasyon sonucu belirlenmiştir.

*K. marxianus* ile yapılan denemelerde surfaktansız ortamlardaki üç günlük inkübasyon süresi sonrasındaki RB5 biyogiderimi şekil 4.1’de verilmiştir. İlk gün % 10 biyogiderim yapan *K. marxianus* üçüncü günün sonunda RB5’i en fazla % 12.2 oranında giderebilmiştir.



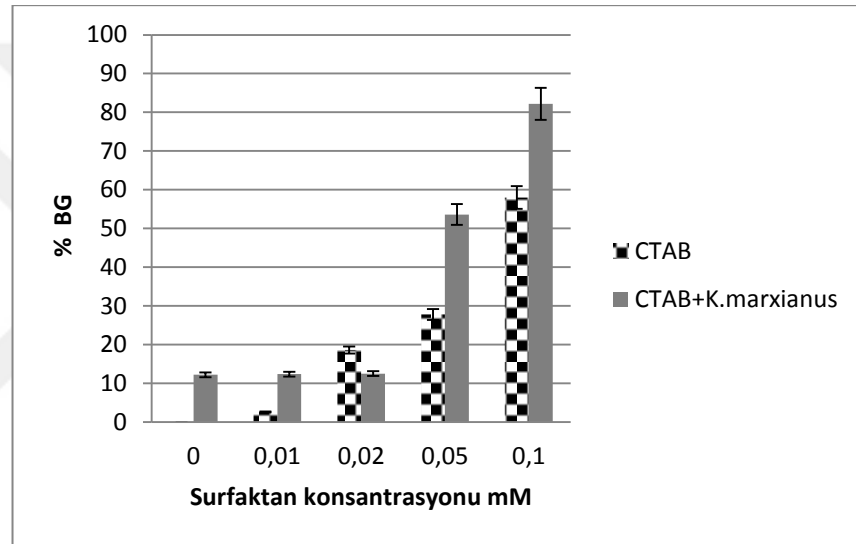
Şekil 4.1 Surfaktansız ortamda *K. marxianus*'un RB5 biyogiderimi

(pH: 6; C<sub>ORBS</sub>: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika)

Farklı konsantrasyonlarda CTAB içeren besiyerlerindeki *K. marxianus* türünün üç günlük inkübasyon periyodu sonundaki RB5 giderimi şekil 4.2’de gösterilmiştir. Yüksek surfaktan konsantrasyonları mayanın RB5 biyogiderim kapasitesini arttırmıştır. Düşük surfaktan konsantrasyonlarında RB5 biyogideriminde belirgin bir farklılık olmamıştır. CTAB bulunmayan ortamda *K. marxianus*'un tek başına % 12.2 RB5 giderimi gerçekleştirmesine karşın, 0.1 mM CTAB bulunan ortamda toplam boyarmadde giderimi % 82.2 olarak gerçekleşmiştir (Şekil 4.2).



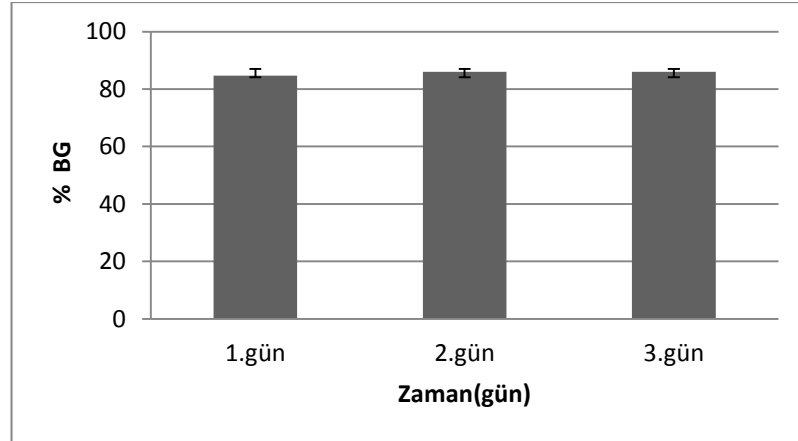
Maya içermeyen kontrol ortamında 0.1 mM CTAB konsantrasyonunda boyarmadde giderimi % 58 olmuştur. *K. marxianus* ise tek başına % 12.2 giderim yapmıştır (Şekil 4.1). Maya ve surfaktanın ayrı ayrı giderimlerinin toplamı % 70.2 olurken, 0.1 mM surfaktan bulunan ortamda *K. marxianus* ve CTAB % 82'lik bir giderim yapmıştır. Aradaki % 12.2'lik fark CTAB ve mayanın birlikte olduklarında yaptıkları boyarmadde gideriminin, yüksek CTAB konsantrasyonlarında mayanın tek başına yaptığı giderimden daha fazla olduğunu göstermektedir. Bu da surfaktanın mayanın boyarmadde giderim kapasitesini arttırmasını sağlamıştır (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Farklı surfaktan konsantrasyonlarında *K. marxianus*'un RB5 biyogiderimi (pH: 6;  $Co_{RB5}$ : 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS:3 gün)

0.01 mM, 0.02 mM, 0.05 mM ve 0.1 mM CTAB bulunan ve bulunmayan ortamda *S. cerevisiae* türünün üç günlük inkübasyon periyodu boyunca boyarmadde giderimi şekil 4.3 -4.4'te gösterilmiştir.

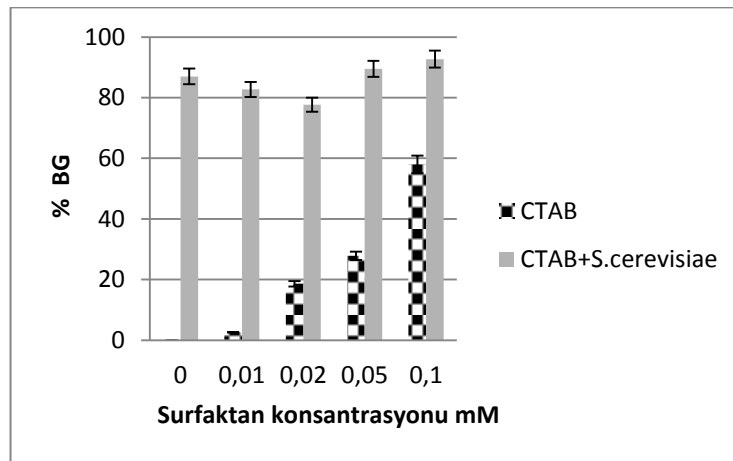
*S. cerevisiae* ile yapılan denemelerde surfaktansız ortamlardaki üç günlük inkübasyon süresi sonrasındaki RB5 biyogiderimi şekil 4.3'te verilmiştir. İlk gün % 84 biyogiderim yapan *S. cerevisiae* üçüncü günün sonunda RB5'i en fazla % 86 oranında giderebilmiştir.



Şekil 4.3 Sürfaktansız ortamda *S. cerevisiae* boyarmadde giderimine etkisi  
(pH: 6; CoRB5: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 oC; Çh: 100 devir/dakika)

Maya içermeyen kontrol örneklerinde, surfaktanın en düşük konsantrasyonunda (0.01 mM) biyogiderimi % 2.6 iken en yüksek konsantrasyonda (0.1 mM) tek başına % 58 değerinde giderim yaptığı saptanmıştır (Şekil 4.4).

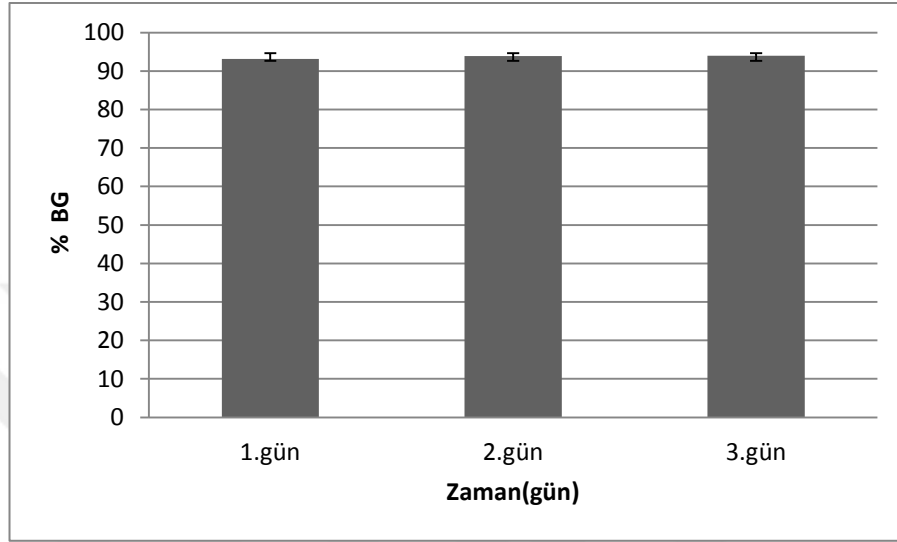
*S. cerevisiae* bulunan ortamda surfaktan konsantrasyonunun artması ile boyarmadde giderimi % 92.7'ye kadar çıkmıştır. CTAB ve mayanın birlikte boyarmadde giderimi, CTAB'nin mayanın boyarmadde giderim kapasitesini arttırdığını göstermektedir (Şekil 4.4).



Şekil 4.4 *S. cerevisiae* içeren farklı surfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6; CoRB5: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İs: 3 gün)

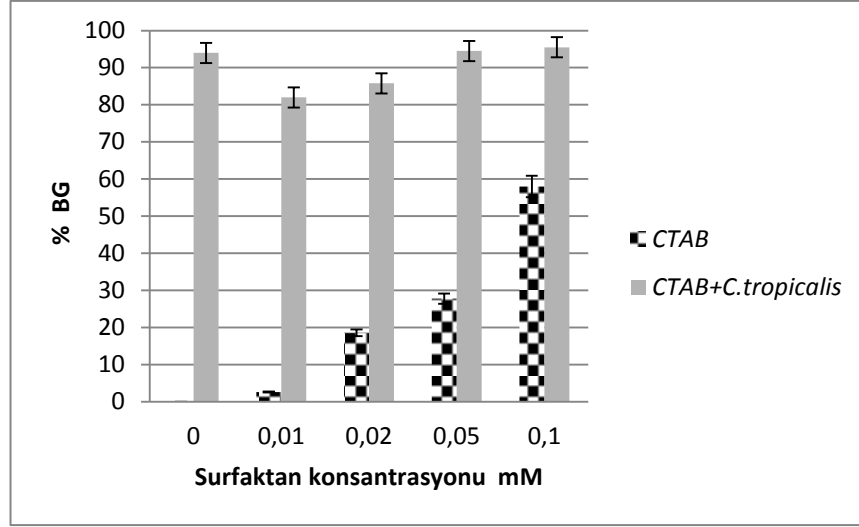
*C. tropicalis* türü ile yapılan denemelerde, CTAB'nin boyarmadde giderimine etkisini belirlemek amacıyla farklı konsantrasyonlarda (0.01 mM, 0.02 mM, 0.05 mM ve 0.1 mM) CTAB bulunan ve bulunmayan ortamda mayanın üç günlük inkübasyon periyodu boyunca boyarmadde giderimi şekil 4.5 - 4.6'da gösterilmiştir.



Şekil 4.5 Surfaktansız ortamda *C.tropicalis* boyarmadde giderimine etkisi (pH: 6;  $CO_{RB5}$ : 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika)

Surfaktanlı ortam, surfaktansız ortama göre kıyaslandığında kayda değer bir fark görülmemiştir. CTAB bulunmayan ortamda *C. tropicalis* tek başına üçüncü gün sonunda % 94 boyarmadde giderimi gerçekleştirmesine karşın (Şekil 4.5) en düşük konsantrasyondaki CTAB bulunan ortamda toplam boyarmadde gideriminde azalma olduğu gözlenmiştir. Yüksek surfaktan konsantrasyonu ile yapılan denemelerde, surfaktanın maya gelişimi üzerinde olumsuz etkisine rastlanmamıştır (Şekil 4.6).

0.1 mM CTAB bulunan ortamda giderim % 95.5'tir. *C. tropicalis* türü ile yapılan deneyde ise mayanın kendi giderim kapasitesi ( % 94) yüksek olduğu için bu grafikte surfaktanın etkisi fazla görülmemektedir (Şekil 4.6).



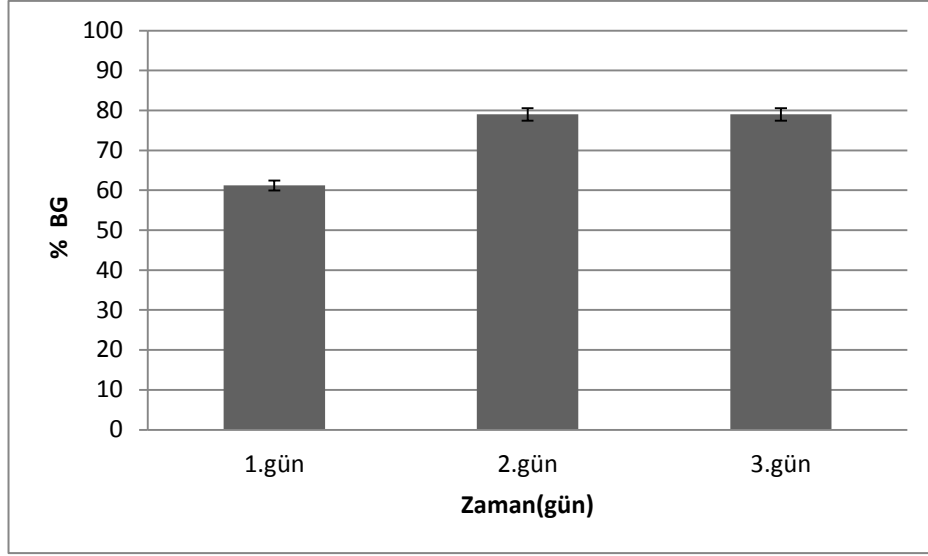
Şekil 4.6 *C.tropicalis* içeren farklı surfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6; CoRB5: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 3 gün)

*S. cerevisiase* ve *C. tropicalis* türlerinin tek başına biyogiderim sonuçları incelendiğinde sırasıya % 87 ve % 94 boyarmadde giderimi yapmışlardır. Ortama surfaktan eklendiğinde en yüksek konsantrasyonda (0.1 mM) boyarmadde giderimi sırasıyla % 92 ve % 95.5'tir.

Seçilen son maya olan *C. lipolytica* türünün boyarmadde giderimine etkisini belirlemek amacıyla yapılan denemelerde, farklı konsantrasyonlarda (0.01 mM, 0.02mM, 0.05 mM ve 0.1 mM) CTAB bulunan ve bulunmayan ortamda mayanın üç günlük inkübasyon periyodu boyunca boyarmadde giderimi şekil 4.7'de gösterilmiştir.

*C. lipolytica* ile yapılan denemelerde surfaktansız ortamlardaki üç günlük inkübasyon süresi sonrasındaki RB5 biyogiderimi şekil 4.7'de verilmiştir. İlk gün % 61.2 biyogiderim yapan *C. lipolytica* üçüncü günün sonunda RB5'i en fazla % 79 oranında gidermiştir.



Şekil 4.7 Surfaktansız ortamda *C. lipolytica* boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6; CoRB5: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 3 gün)

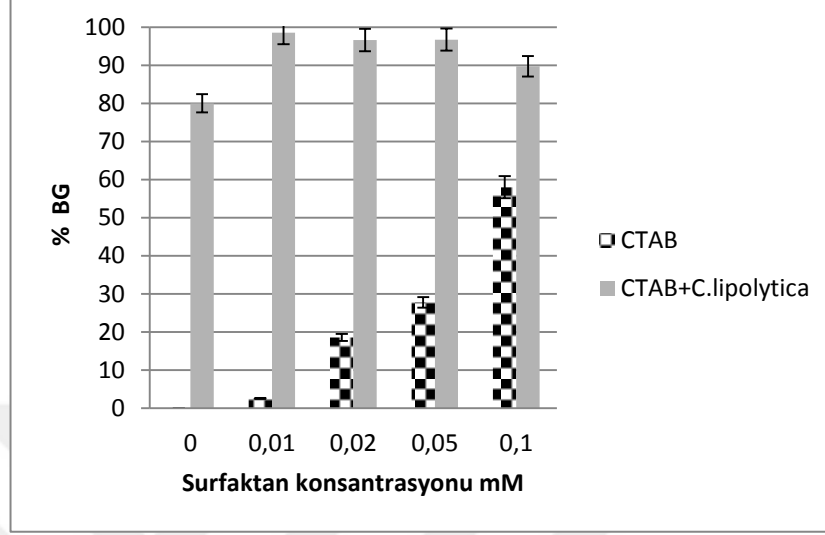
CTAB bulunmayan ortamda *C. lipolytica* tek başına % 80 boyarmadde giderimi gerçekleştirmesine karşın 0.01 mM CTAB bulunan ortamda toplam boyarmadde giderimi üçüncü gün sonunda % 8.5 artmıştır. 0.1 mM CTAB bulunan ortamda toplam boyarmadde giderimi üçüncü gün sonunda % 9.3 azalmıştır (Şekil 4.8).

*C. lipolytica* türü ile yapılan çalışmada surfaktansız ortamda mayanın yaptığı giderim % 80 iken surfaktan konsantrasyonu arttıkça boyarmadde gideriminde azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.8).

Deney sonucunda surfaktanın en düşük konsantrasyonunda (0.01 mM) biyogiderim % 2.6 iken en yüksek konsantrasyonunda (0.1 mM) tek başına % 58 değerinde giderim yaptığı saptanmıştır. *C. lipolytica*'nın surfaktan konsantrasyonunun artmasıyla boyarmadde gideriminde azalma gözlenmiştir.

CTAB'nin kendi başına yaptığı giderim oldukça az iken ( % 58); *C. lipolytica* bulunan ortamda CTAB ile birlikte giderim % 89.7' dir. CTAB ve mayanın birlikte boyarmadde giderimi, CTAB'nin en yüksek konsantrasyonda mayanın boyarmadde giderim kapasitesini azalttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.8). Düşük konsantrasyondaki (0.01 mM) CTAB ile *C. lipolytica*'nın giderimi diğer konsantrasyonlar arasında en fazla olduğu

saptanmıştır ( % 98.5). Diğer maya türlerine kıyasla, düşük surfaktan konsantrasyonu mayanın giderimini olumlu etkilemiş, yüksek konsantrasyonlar ise olumsuz etkilemiştir.

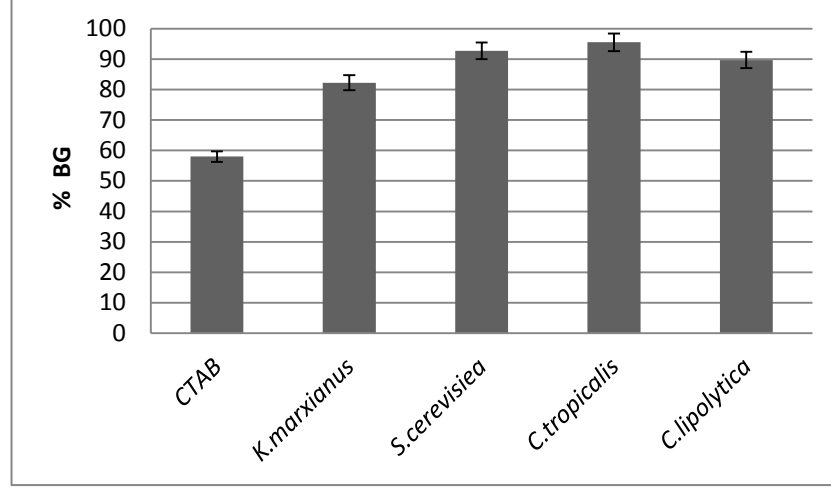


Şekil 4.8 *C. lipolytica* içeren farklı surfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6; CoRB5: 50 mg/l<sup>1</sup>;S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 3 gün)

Üçüncü gün sonunda *S. cerevisiae* tek başına % 86, *C. tropicalis* % 94 boyarmadde giderimi yapmışken, *C. lipolytica* türü, % 79 boyarmadde giderimi yaparak diğerlerinden daha düşük bir giderim yapmıştır.

Çalışılan dört maya türünün, en yüksek CTAB konsantrasyonunda (0.1 mM) RB5 biyogiderimi karşılaştırılmıştır. 0.1 mM CTAB tek başına RB5'i % 58, 0.1 mM CTAB bulunan ortamda ise mayalar sırasıyla: *K. marxianus* % 82.2, *S. cerevisiae* % 92.7, *C. tropicalis* % 95.5, *C. lipolytica* % 89.7 giderim yapmıştır (Şekil 4.9).



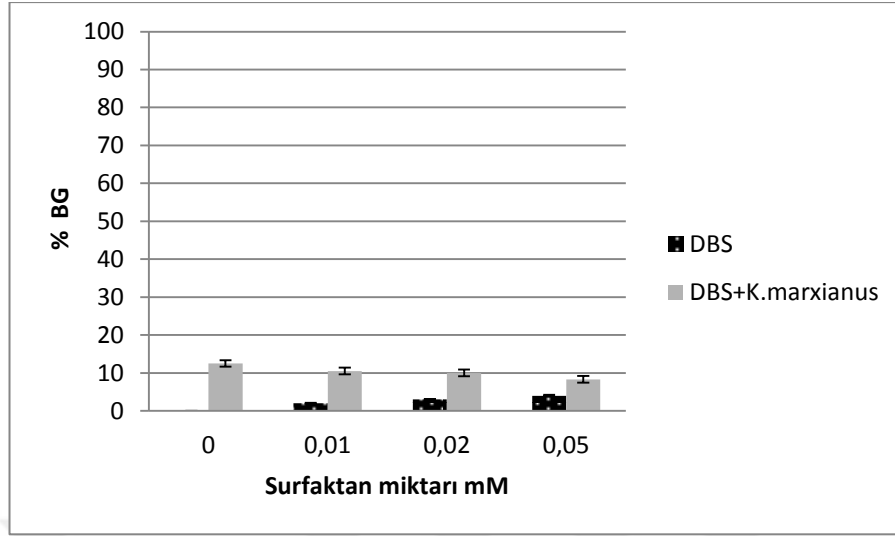
Şekil 4.9 CTAB ve dört mayanın aynı koşullardaki gideriminin karşılaştırılması  
(pH: 6;  $C_{ORB5}$ : 50 mg/l<sup>-1</sup>;  $C_{oCTAB}$ : 0,1 mM, S: 30 ± 1 oC; Çh: 100 devir/dakika; İS: 3 gün)

#### 4.3 DBS ile yapılan çalışmalar

Çalışmalarda pH 6'da 50 mg/l boyarmadde bulunan besiyerlerine 0.00 mM, 0.01 mM, 0.02 mM, 0.05 mM ve 0.1 mM DBS eklenerek surfaktan miktarının etkisi dört farklı tür ve RB5 boyarmaddesi için araştırılmıştır. 0.1 mM DBS bulunan ortamda maya gelişimine rastlanmamıştır. Bu yüzden deneyler diğer surfaktan konsantrasyonları üzerinden devam etmiştir.

*K. marxianus* kültürünün boyarmadde giderimine etkisini belirlemek amacıyla 50 mg/l boyarmadde bulunan 0.01, 0.02 ve 0.05 mM DBS içeren melaslı besiyerine maya inoküle edilmiş ve kültür koşullarında deneyler tamamlanmıştır.

Yapılan deney sonucunda surfaktanın 0.01 mM konsantrasyonunda tek başına % 2 değerinde giderim yaptığı saptanmıştır. *K. marxianus*'un surfaktan konsantrasyonun artmasıyla boyarmadde gideriminde kayda değer bir değişim gözlenmez iken, 0.05 mM surfaktan bulunan ortamda *K. marxianus* % 8.3 ile boyarmadde giderimini gerçekleştirmiştir. DBS ve mayanın birlikte boyarmadde giderimi ile her ikisinin tek başına boyarmadde gideriminin toplamı ( % 16) arasında belirgin fark olmayıp, DBS'nin mayanın boyarmadde giderim kapasitesini azalttığı saptanmıştır (Şekil 4.10).



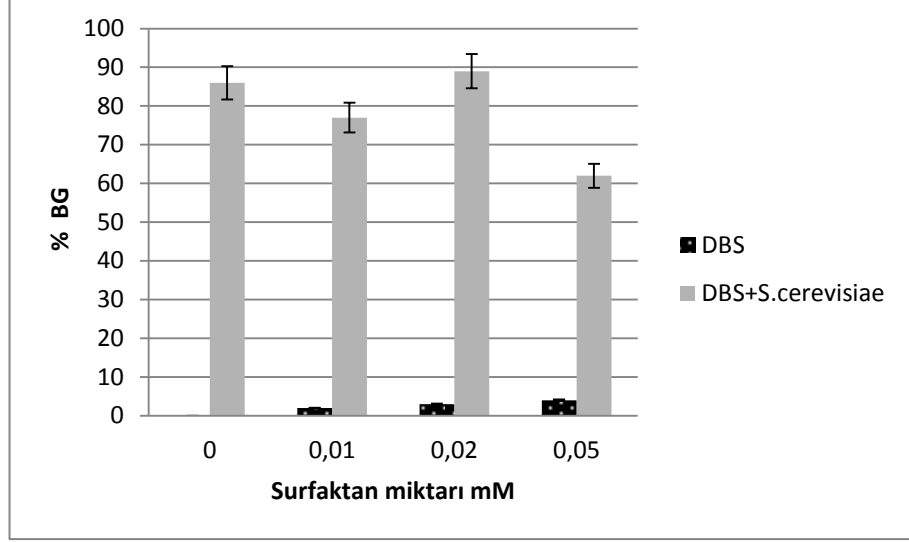
Şekil 4.10 *K. marxianus* türü içeren farklı surfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6;  $C_{ORBS}$ : 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika İS: 3 gün)

Farklı konsantrasyonlarda (0.01 mM, 0.02 mM ve 0.05 mM) DBS bulunan ve bulunmayan ortamlarda kullanılan *S. cerevisiae* kültürünün üç günlük inkübasyon periyodu boyunca boyarmadde giderimi şekil 4.11’de gösterilmiştir.

Yapılan deney sonucunda surfaktanın en düşük konsantrasyonunda (0.01) biyogiderim % 2 iken, en yüksek konsantrasyonunda (0.05 mM) tek başına % 4 değerinde giderim yaptığı saptanmıştır. *S. cerevisiae*’nin surfaktan konsantrasyonunun artmasıyla boyarmadde gideriminde kayda değer bir değişim gözlenmiştir ( % 89). DBS ve mayanın birlikte boyarmadde gideriminin % 89 olması, DBS’nin mayanın boyarmadde giderim kapasitesini arttırdığını göstermektedir (Şekil 4.11). En yüksek giderim *S. cerevisiae* türü ve 0.02 mM surfaktan bulunan ortamda % 89 olarak ölçülmüştür.



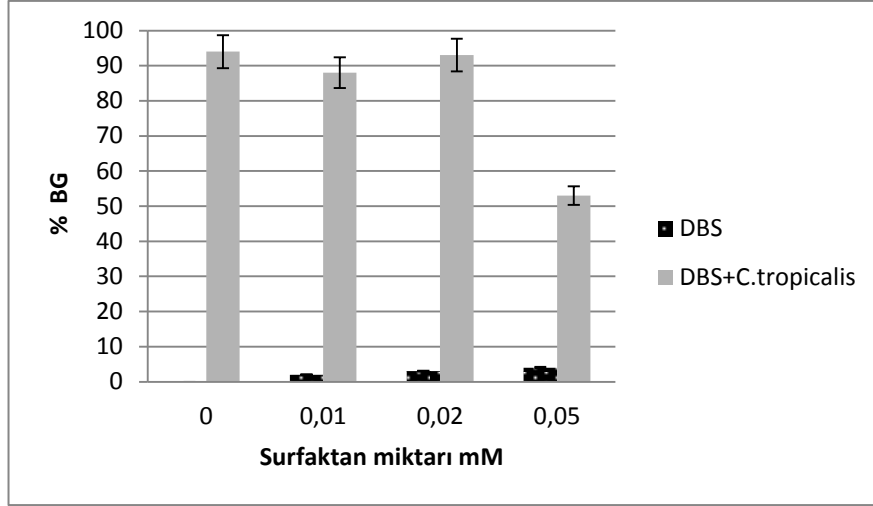


Şekil 4.11 *S.cerevisiae* türü içeren farklı surfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6;  $C_{\text{DBS}}$ : 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 3gün)

Farklı konsantrasyonlarda (0.01 mM, 0.02 mM ve 0.05 mM) DBS bulunan ve bulunmayan ortamlarda kullanılan *C. tropicalis* kültürünün üç günlük inkübasyon periyodu boyunca boyarmadde giderimi şekil 4.12’de gösterilmiştir.

Yapılan deney sonucunda surfaktanın en düşük konsantrasyonunda (0.01mM) biyogiderim % 2 iken en yüksek konsantrasyonda (0.05mM) tek başına % 4 değerinde giderim yaptığı saptanmıştır. *C. tropicalis*’in surfaktan konsantrasyonunun artmasıyla boyarmadde gideriminde düşüş gözlenmiş olup en iyi giderimin 0.02 mM konsantrasyonunda % 93 olarak yaptığı bulunmuştur. Sadece mayanın boyarmadde gideriminde ise % 94 ile en yüksek seviyeye ulaşılmıştır (Şekil 4.12).



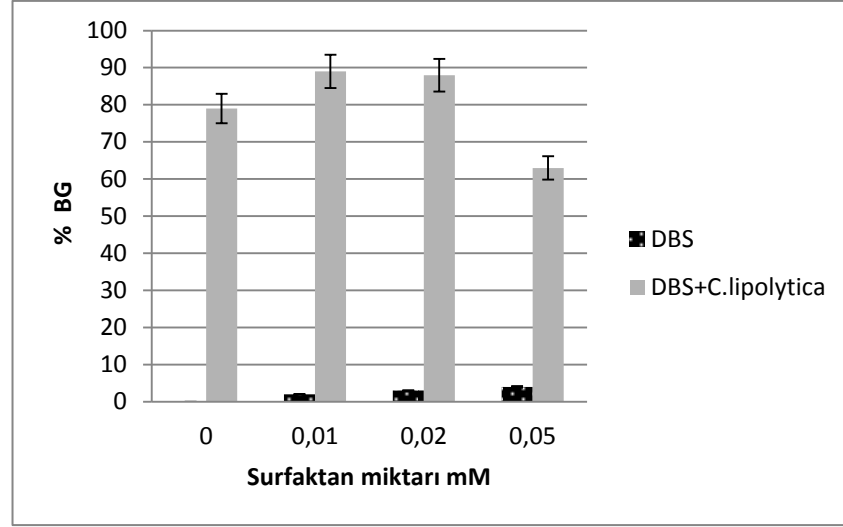
Şekil 4.12 *C.tropicalis* türü içeren farklı surfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6;  $C_{ORBS}$ : 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS:3 gün)

DBS'nin boyarmadde giderimine etkisini belirlemek amacıyla farklı konsantrasyonlarda (0.01 mM, 0.02 mM ve 0.05 mM) DBS bulunan ve bulunmayan ortamlarda kullanılan *C. lipolytica* kültürünün üç günlük inkübasyon periyodu boyunca boyarmadde giderimi şekil 4.13'te gösterilmiştir.

Yapılan deney sonucunda surfaktanın en düşük konsantrasyonunda (0.01 mM) biyogiderim % 2 iken en yüksek konsantrasyonda (0.05 mM) tek başına % 4 değerinde giderim yaptığı saptanmıştır. *C. lipolytica*'nın surfaktan konsantrasyonunun artmasıyla boyarmadde gideriminde düşüş gözlenmiş olup, en iyi giderimin 0.01 mM surfaktan bulunan ortamda % 89'dur (Şekil 4.13).

DBS'nin kendi başına yaptığı giderim oldukça az iken, *C. lipolytica* türü bulunan ortamda DBS ile birlikte giderim en yüksek % 89; sadece mayanın boyarmadde gideriminde ise % 79'dur. Artan surfaktan konsantrasyonu *C. lipolytica*'nın giderim kapasitesini düşürdüğü için, sadece mayanın yaptığı giderim, mayanın 0.05 mM DBS ile birlikte bulunduğu ortamdakinden daha fazladır (Şekil 4.13).



Şekil 4.13 *C.lipolytica* türü içeren farklı surfaktan konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

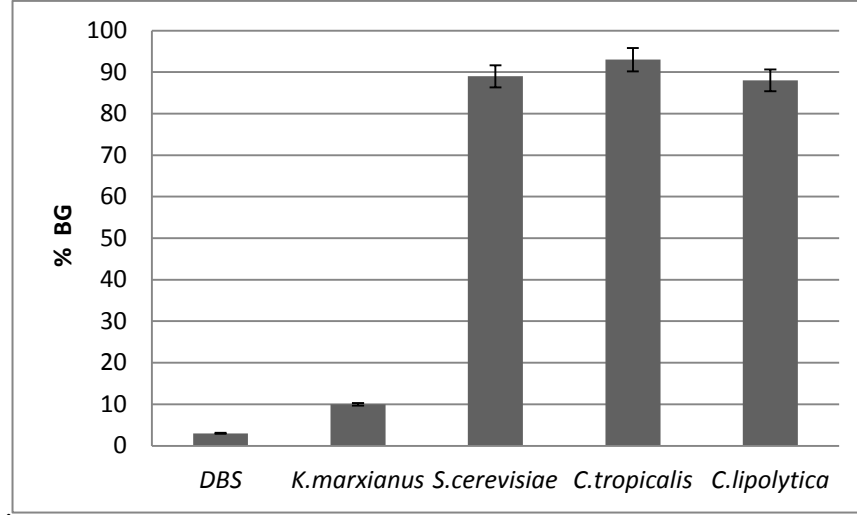
(pH: 6; CoRB5: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100; İS: 3 gün)

DBS ile yapılan deneyler sonucunda dört mayanın aynı koşullardaki verilerini karşılaştırmak gerekirse, 0.02 mM DBS bulunan ortamda surfaktan % 3, *K. marxianus* % 10, *S. cerevisiae* % 89, *C. lipolytica* % 88 ve *C. tropicalis* % 93 RB5'i gidermiştir (Şekil 4.14). Deney sonucu mayaların kütlelerini ve gram hücre başına bulundurdukları boyarmadde miktarını karşılaştırdığımızda ise, üreme miktarları fazla olan türlerin hücrelerinde bulunan boyarmadde miktarı az iken, diğerlerine kıyasla üreme miktarı az olan *C. tropicalis*'in gram hücre başına bulundurduğu boyarmadde miktarı oldukça fazladır (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Dört mayanın aynı koşullardaki RB5 gideriminin karşılaştırılması

Maya türleri	% BG	q <sub>m</sub>
<i>K. marxianus</i>	10	0.05
<i>S. cerevisiae</i>	89	0.79
<i>C. tropicalis</i>	93	1.19
<i>C. lipolytica</i>	88	0.69

(pH: 6; CoRB5: 50 mg/l-1; CoDBS: 0.02 mM, S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 3 gün)



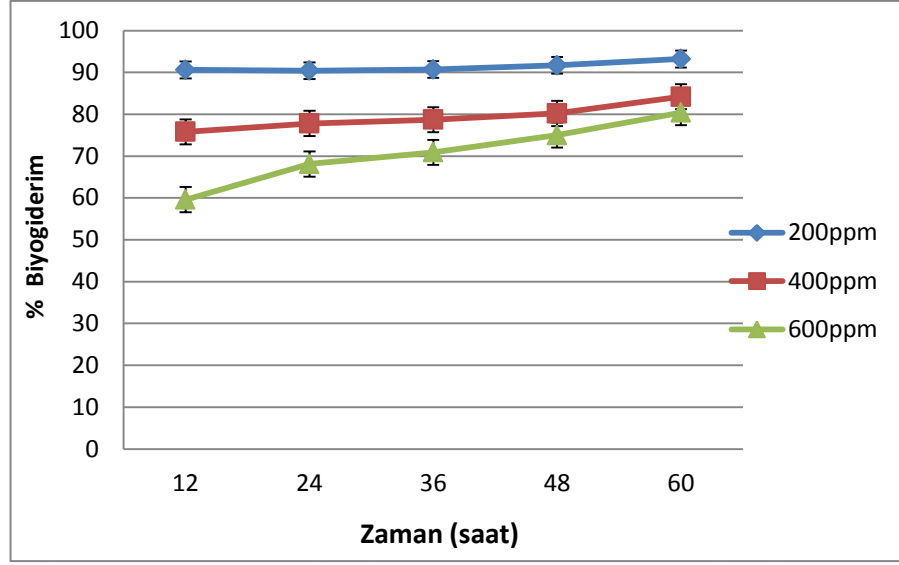
Şekil 4.14 DBS ve dört mayanın aynı koşullardaki gideriminin karşılaştırılması  
(pH: 6;  $C_{ORBS}$ : 50 mg/l-1;  $C_{oDBS}$ : 0.02 mM, S:  $30 \pm 1$  °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 3 gün)

#### 4.4 Boyarmadde Konsantrasyonunun Etkisi

Yüksek boyarmadde konsantrasyonlarını denemek için, önceki yapılan çalışmalardan en yüksek verimin elde edildiği *C. tropicalis* türü ve 0.01 mM, 0.02 mM, 0.05 mM CTAB surfaktanı 200 mg/l, 400 mg/l ve 600 mg/l Reaktif Black 5 ile denenmiş fakat üreme gözlenmemiştir. Bu yüzden deneye DBS surfaktanı ile devam edilmiştir. Reaktif Black 5 boyarmaddesi 200 mg/l, 400 mg/l ve 600 mg/l üç farklı surfaktan konsantrasyonu ile deney düzeneğine konulmuş ve 60 saat boyunca 12 saat ara ile örnek alınmıştır.

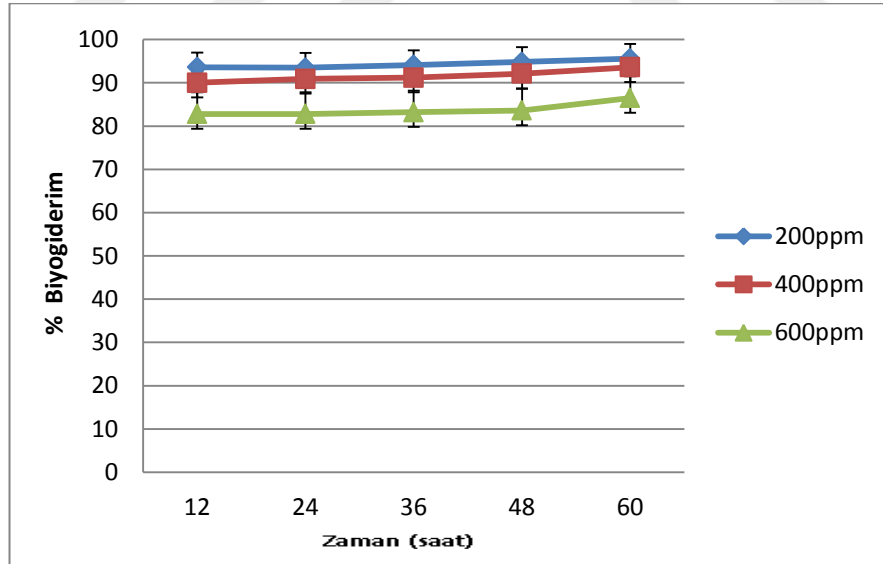
Düşük surfaktan konsantrasyonundaki boyarmadde giderimi, en fazla boyarmadde konsantrasyonu düşük olanda 60. saat sonu gözlenirken % 90 ve üzeri, boyarmadde konsantrasyonu arttıkça yüzde giderim azalmaya başlamıştır.

0.01 mM DBS bulunan ortamda tür ve surfaktanın en yüksek giderimi, boyarmadde konsantrasyonunun en düşük olduğu 200 mg/l'de % 93.2 görülmüştür (Şekil 4.15).



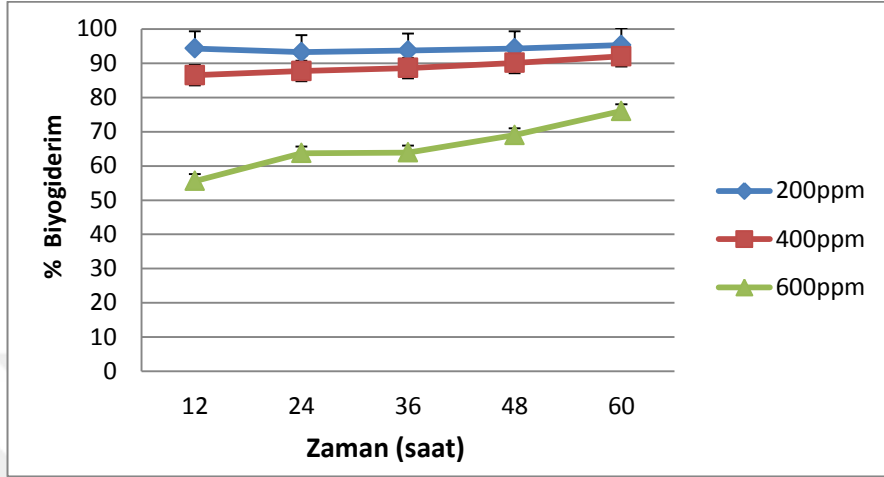
Şekil 4.15 *C.tropicalis* içeren ortamda farklı boyarmadde konsantrasyonlarının giderimi (pH: 6;  $C_{\text{SDS}}$ : 0.01 mM S:  $30 \pm 1$  °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 60 saat)

Surfaktan konsantrasyonunun 0.02 mM olduğu deney düzeneğinde ise yine düşük boyarmadde konsantrasyonlarında verim yüksek olup % 95.6'dır (Şekil 4.16).



Şekil 4.16 *C.tropicalis* türü içeren farklı boyarmadde konsantrasyonlarının giderimi (pH: 6;  $C_{\text{SDS}}$ : 0.02 mM S:  $30 \pm 1$  °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 60 saat)

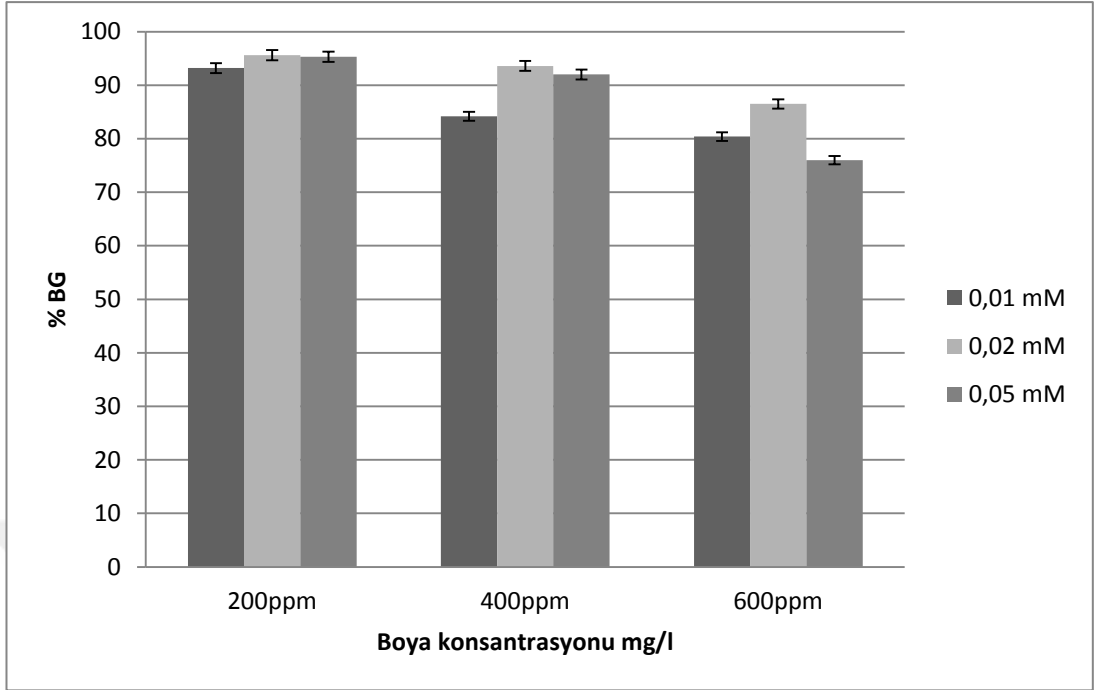
Surfaktan konsantrasyonunun 0.05 mM olduğu deney dzeneninde ise hem 200 mg/l hem de 400 mg/l boyarmadde bulunan ortamda giderim % 90 üzerinde olup 200 mg/l bulunan ortamda verim % 95 ile biraz daha öndedir (Şekil 4.17).



Şekil 4.17 *C.tropicalis* türü içeren farklı boyarmadde konsantrasyonlarının giderimi (pH: 6;  $C_{oD5}$ ; 0.05 mM S:  $30 \pm 1$  °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 60 saat)

Aynı deney düzeniğinin 60.saat sonuçları ile oluşturulan bu grafikte ise boyarmadde gideriminin boyarmaddenin az olduğu miktarlarda daha fazla olduğu, ayrıca en çok giderimin surfaktanın 0.02 mM konsantrasyonunda olduğu zaman gerçekleştiği ayrıntılı bir şekilde gözlenmektedir.

Buna göre üç farklı boyarmadde konsantrasyonunun olduğu düzenekte de giderim en çok 0.02 mM surfaktanın olduğu ortamda gerçekleşmiştir. Ayrıca en yüksek giderim değerleri boyarmadde konsantrasyonunun düşük olduğu 200 mg/l’de görülmektedir (Şekil4.18).



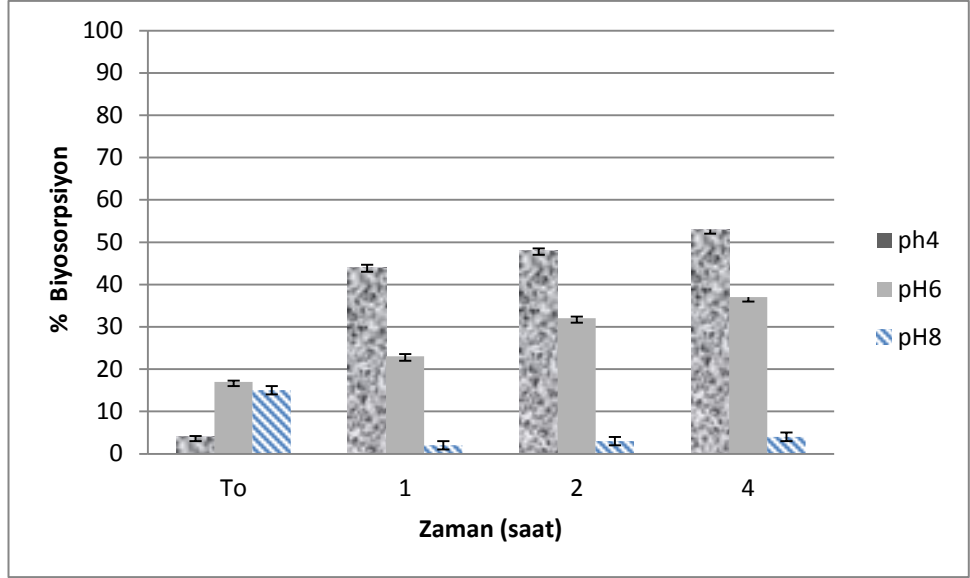
Şekil 4.18 *C.tropicalis* türü içeren farklı surfaktan ve boyarmadde konsantrasyonlarının boyarmadde giderimine etkisi

(pH: 6 , S:  $30 \pm 1$  °C; Çh: 100 İS: 60 saat)

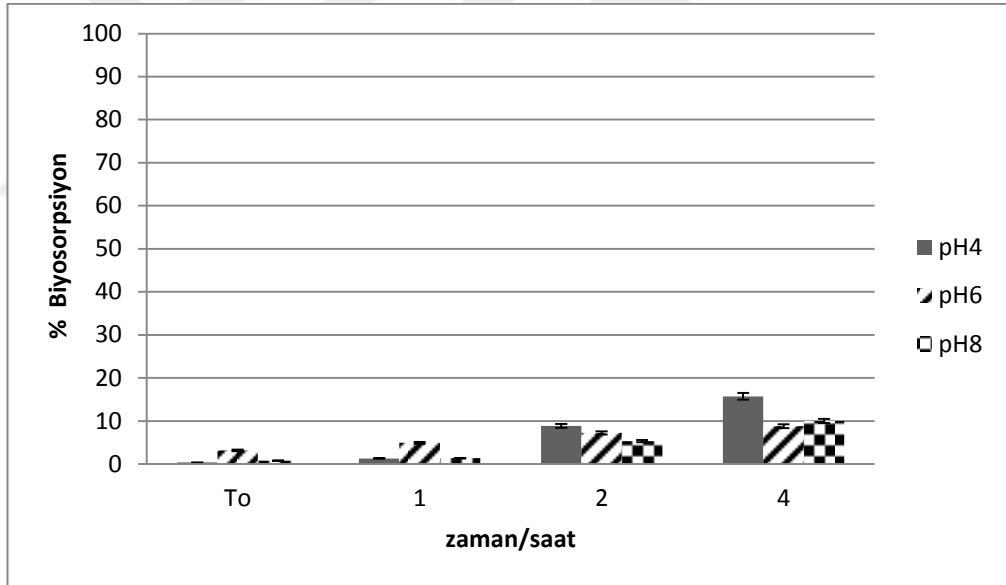
#### 4.5 Biyosorpsiyon çalışmaları

##### 4.5.1 Optimum pH belirlenmesi

Biyosorpsiyonda optimum pH'ı bulabilmek için 200 mg/l boyarmadde ve bir önceki deneyde optimum olduğu bulunan 0.02 mM DBS konsantrasyonunda pH 4, 6 ve 8 denenmiştir. Deney sonucunda *C. tropicalis* türü için optimum pH'ın % 55 ile pH 4'te olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.19). Aynı deney sonucunda *K. marxianus* türü içinde optimum pH 4 olarak bulunmuştur (Şekil 4.20).



Şekil 4.19 *C. tropicalis* içeren surfaktanlı ortamın farklı pH'larda biyosorpsiyon (CoDBS; 0.02 mM; CoRB5: 200 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)

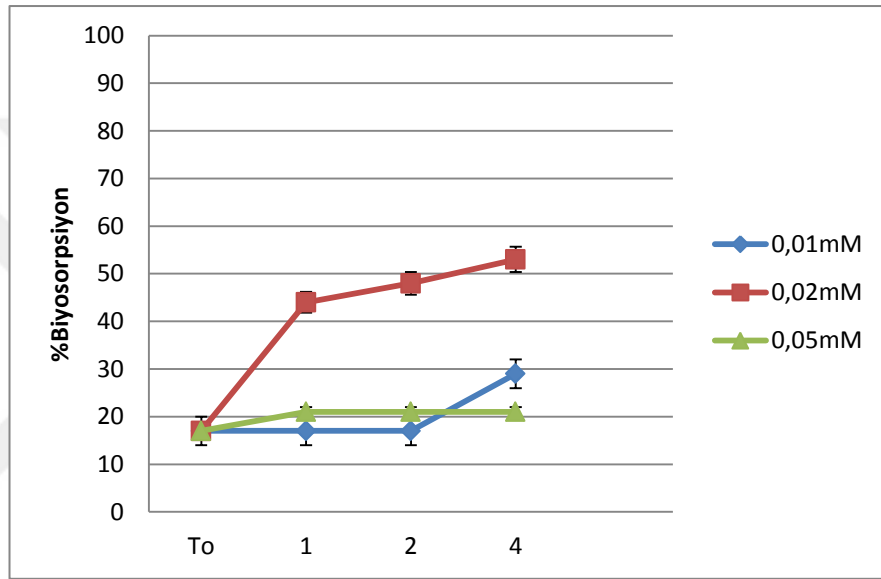


Şekil 4.20 *K. marxianus* içeren surfaktanlı ortamın farklı pH'larda biyosorpsiyon (CoDBS; 0.02 mM; CoRB5: 200 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)



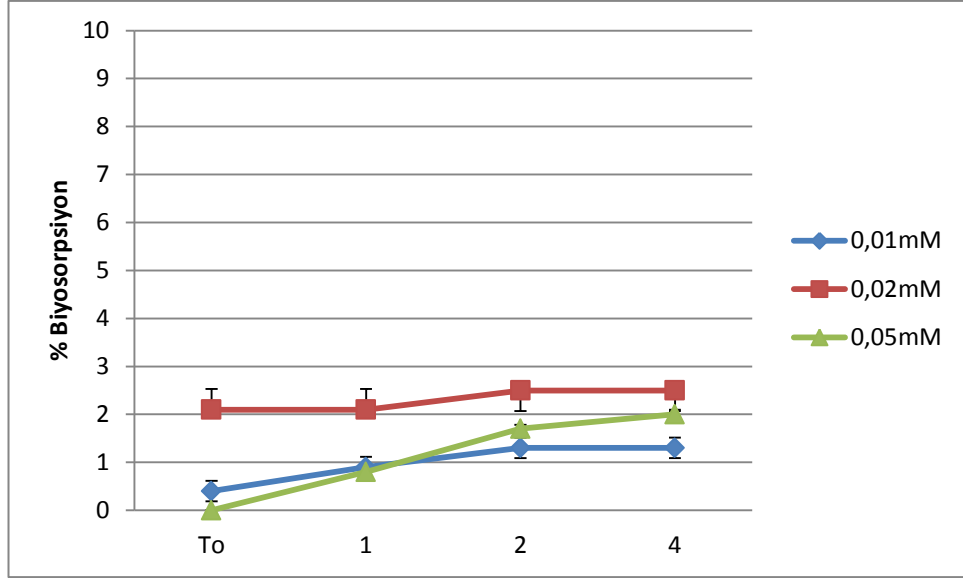
#### 4.5.2 Optimum surfaktan konsantrasyonunun belirlenmesi

Biyosorpsiyon çalışması için optimum surfaktan konsantrasyonunu bulmak amacıyla pH 4'te 200 mg/l boyarmadde ile 0.01, 0.02, 0.05 mM DBS 4 saat boyunca *C. tropicalis* ve *K. marxianus* inkübe edilip saatlik örnek alınmıştır. Buna göre en yüksek boyarmadde biyosorpsiyonu surfaktanın 0.02 mM olduğu düzenekte gözlenmiştir (Şekil 4.21 - 4.22).



Şekil 4.21 *C. tropicalis* içeren ortamların farklı surfaktan konsantrasyonlarının biyosorpsiyona etkisi

(pH:4, CoRB5: 200 mg/l<sup>-1</sup>S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)



Şekil 4.22 *K. marxianus* içeren ortamların farklı surfaktan konsantrasyonlarının biyosorpsiyona etkisi

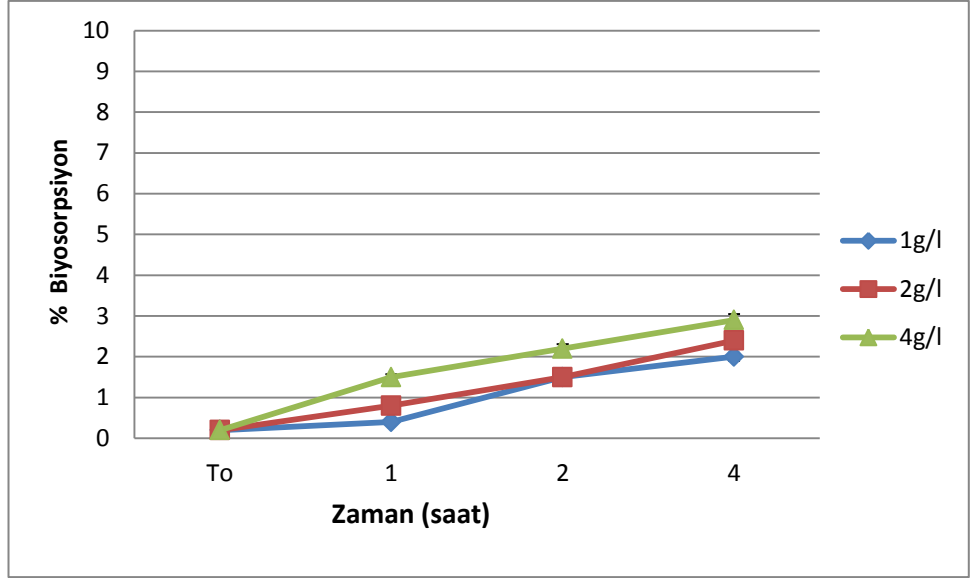
(pH:4, CoRB5: 200 mg/l<sup>-1</sup> S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)

#### 4.5.3 Biyokütle miktarının etkisi

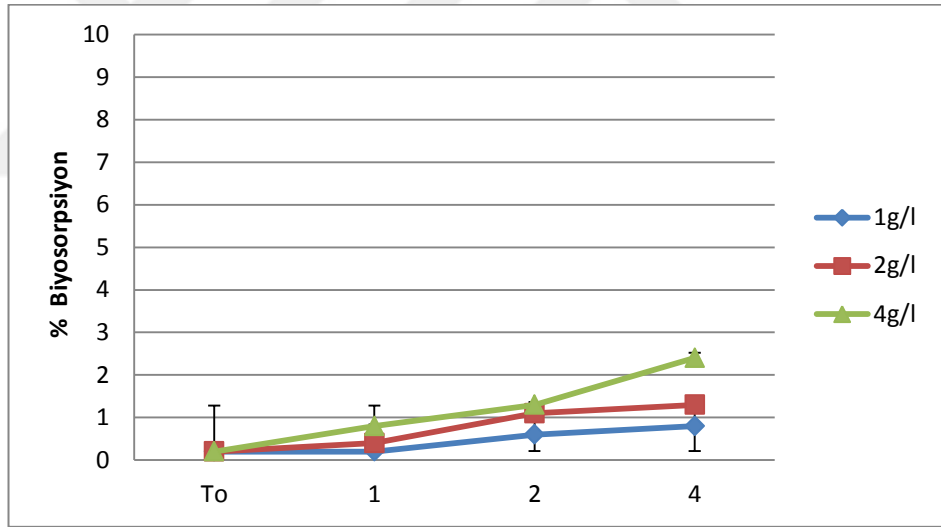
Biyokütle miktarının etkisini belirlemek amacıyla *C. tropicalis* ve *K. marxianus* mayaları hem kuru hem de yaş olarak 1, 2, 4 g/l olarak deney düzeneklerinde kullanılmıştır.

#### 4.5.4 Yaş biyokütle

Yaş biyokütle ile yapılan çalışmada *C. tropicalis* biyokütle miktarı arttıkça giderimin arttığı gözlenip en yüksek giderim % 5 ile 4g/l de gözlenmiştir (Şekil 4.23). *K. marxianus* ile yapılan çalışmada ise en yüksek giderim 4g/l'de % 2.4 olarak bulunmuştur (Şekil 4.24).



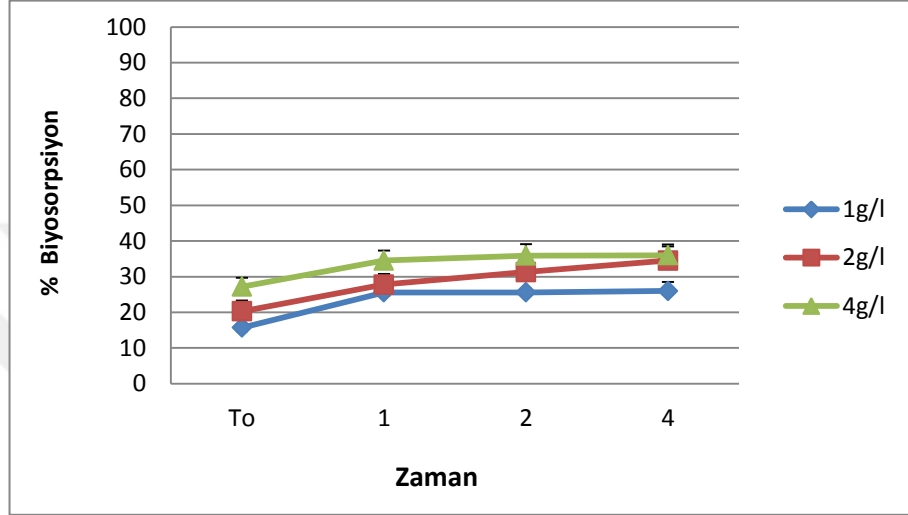
Şekil 4.23 *C.tropicalis* yaş biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisi  
(pH :4,  $C_{ORBS}$ : 200 mg/l<sup>-1</sup>S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)



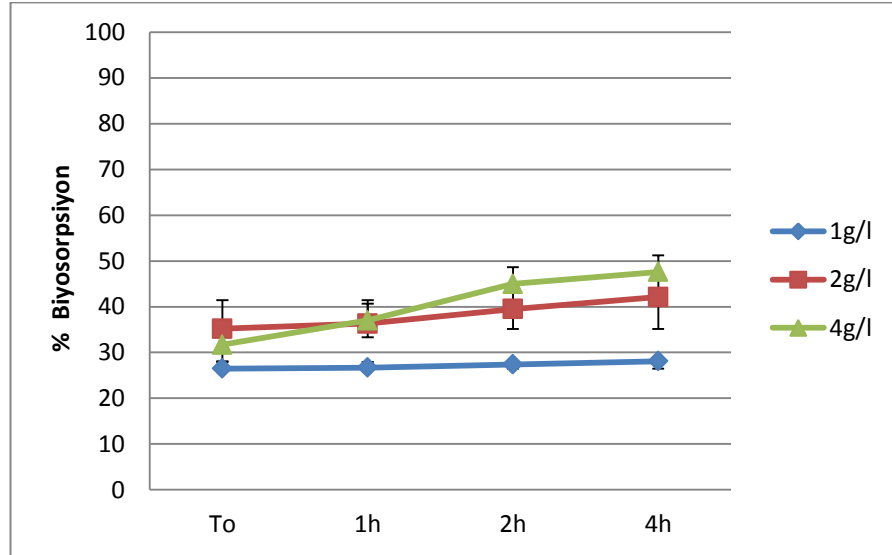
Şekil 4.24 *K.marxianus* yaş biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisi  
(pH :4,  $C_{ORBS}$ : 200 mg/l<sup>-1</sup>S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)

#### 4.5.5 Kuru biyokütle

*C. tropicalis* ve *K. marxianus* türlerinin kuru biyokütlesi ile yapılan çalışmada 4.saat sonunda en yüksek biyokütleyle sahip olan düzenekte sırasıyla *C. tropicalis*'de % 35, *K. marxianus*'da % 47.6 daha fazla biyosorpsiyon gözlenmiştir (Şekil 4.25 - 4.26).



Şekil 4.25 *C. tropicalis*'e ait biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisi  
(pH: 4; CoRB5: 200 mg/l<sup>-1</sup>;S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)



4.26 *K. marxianus*'a ait biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisi  
(pH: 4; CoRB5: 200 mg/l<sup>-1</sup>;S: 30 ± 1 °C; Çh: 100 devir/dakika; İS: 4 saat)

Çalışmalarda *K. marxianus*'un dört saat sonunda yaş ve kuru hücrelerinin boya bulundurma miktarları karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.3). Buna göre kuru hücrelerle yapılan biyosorpsiyon sonucu daha çok boya absorbe edilmiştir.

Çizelge 4.3 *K. marxianus* için 4. saat sonunda yaş ve kurutulmuş hücrelerin boyarmadde bulundurma oranları

Maya kütle miktarı g/l	Yaş biyosorpsiyon		Kuru biyosorpsiyon	
	% BS	q <sub>m</sub>	% BS	q <sub>m</sub>
1g/l	% 1.3	3.1	% 28.1	64.4
2g/l	% 1.8	2	% 42.1	48.15
4g/l	% 2.4	1.42	% 47.6	27.22

(BS:

Biyosorpsiyon, q<sub>m</sub>: Bir gram hücredeki maksimum boyarmadde miktarı (mgg-1)

Çalışmalarda *C. tropicalis*'in dört saat sonunda yaş ve kuru hücrelerinin biyosorpsiyondan sonra hücrede boya bulundurma miktarları karşılaştırılmıştır (Çizelge 4.4). Buna göre kuru hücrelerle yapılan biyosorpsiyon sonucu hücreler daha çok boyayı absorplanmıştır.

Çizelge 4.4 *C. tropicalis* için 4. saat sonunda yaş ve kurutulmuş hücrelerin boyarmadde bulundurma oranları

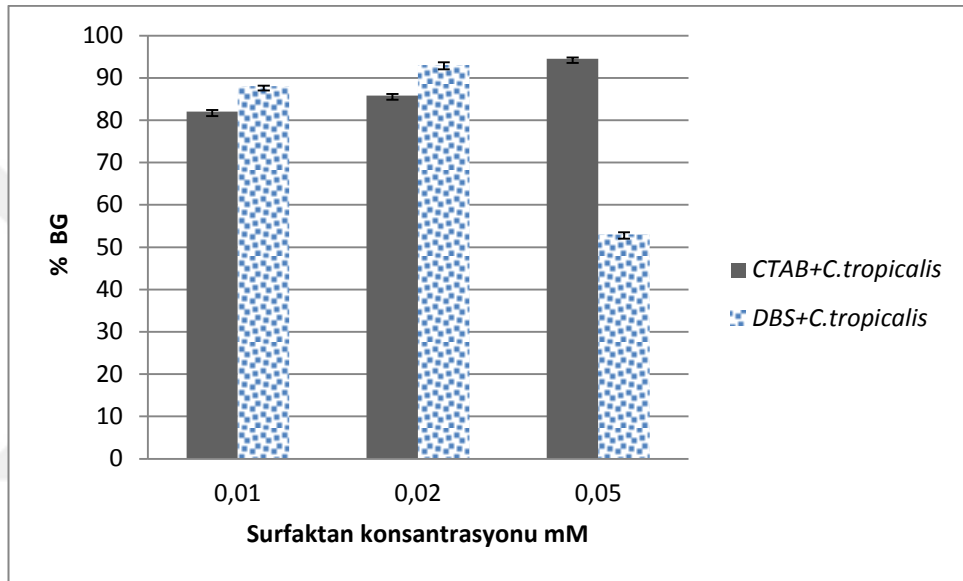
Maya kütle miktarı g/l	Yaş biyosorpsiyon		Kuru biyosorpsiyon	
	% BS	q <sub>m</sub>	% BS	q <sub>m</sub>
1g/l	% 2.4	5.7	% 26	59.6
2g/l	% 2.6	2.35	% 34.5	39.5
4g/l	% 2.9	1.7	% 36	20.67

(BS: Biyosorpsiyon, q<sub>m</sub>: Bir gram hücredeki maksimum boyarmadde

miktarı (mg/g)

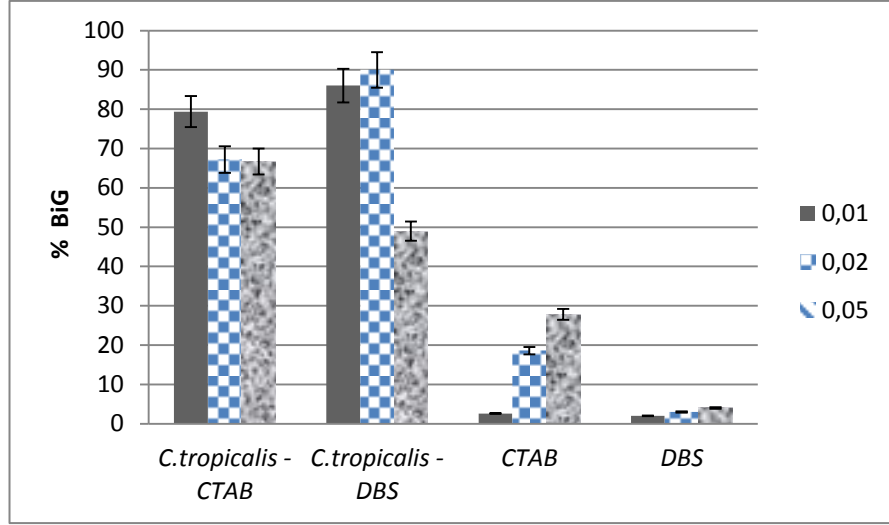
## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan deneyler sonucunda pH 6'da 30 °C, 50 mg/l RB5, CTAB ve DBS bulunan deney düzeneklerinde en fazla giderimin *C. tropicalis* türü tarafından gerçekleştirildiği saptanmıştır. Sonuçlar karşılaştırıldığında, CTAB konsantrasyonu arttıkça RB5 gideriminin arttığı, DBS konsantrasyonu arttıkça mayanın giderimi üzerinde negatif bir etkisi olduğu bulunmuştur (Şekil 5.1).



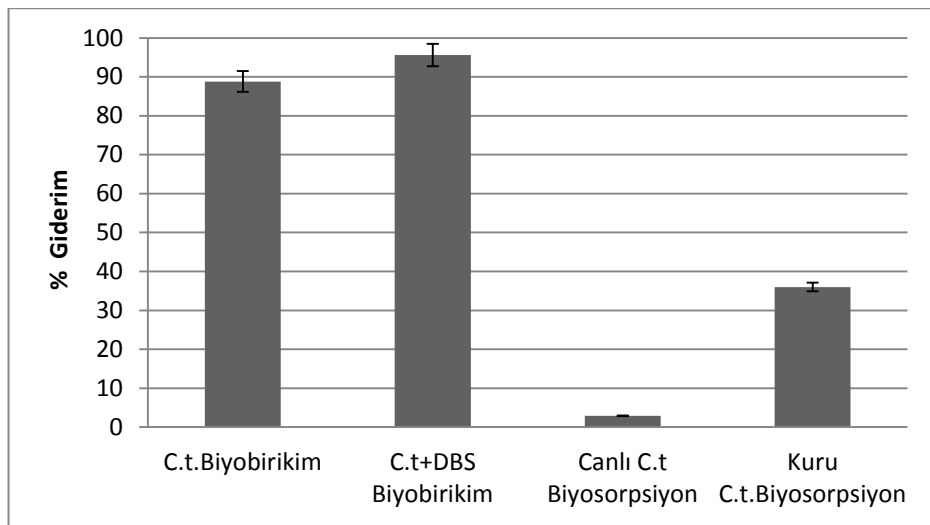
Şekil 5.1 *C. tropicalis* mayasının iki farklı surfaktan ile boyarmadde giderimine etkisi (pH: 6; CoRB5: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100; İS: 3 gün)

Surfaktan bulunan ortamda mayanın tek başına ne kadar giderim yaptığını bulabilmek için, ikisinin birlikte bulunduğu deney düzeneğinden, surfaktanın tek başına yaptığı giderim değeri çıkarılmıştır. Surfaktanın kendi başına yaptığı giderimi karşılaştırdığımızda ise DBS'in CTAB'ye göre kendi başına oldukça düşük giderim yaptığı bulunmuştur. *C. tropicalis* mayasının bulunduğu düzeneklerde mayanın CTAB'de daha fazla giderim yaptığı gözlenmiştir. DBS konsantrasyonu 0.05 mM olduğu zaman mayanın kütlesinde düşüş görülmesi, artan DBS konsantrasyonunun tür üzerinde negatif etki yarattığını düşündürmektedir (Şekil 5.2).



Şekil 5.2 Yalnız mayanın ve yalnız surfaktanın boyarmadde giderimine etkisi (pH:6 ; CoRB5: 50 mg/l<sup>-1</sup>; S: 30 ± 1 °C; Çh: 100; İS: 3 gün)

*C. tropicalis*'in farklı şartlardaki boyarmadde giderimi karşılaştırıldığında, pH 6'da 30° C, 50 mg/l RB5 bulunan surfaktansız ortamda üç günlük inkübasyon süreci sonunda mayanın tek başına % 88.8 giderim yaptığı tespit edilmiştir. Aynı koşullardaki deney düzeneğine 0.02 mM DBS eklendiğinde ise giderim % 95.6 olmuştur. Biyosorpsiyon çalışmaları pH 4'te 30°C 200 mg/l RB5, 0.02 mM DBS bulunan ortamda gerçekleştirilmiştir. Yaş mayanın bulunduğu ortamda 4. saat sonunda giderim % 2.9 iken, kuru maya bulunan ortamda 4. saat sonunda giderim % 36'ya ulaşmıştır (Şekil 5.3).



Şekil 5.3 *C. tropicalis* türünün farklı şartlardaki gideriminin karşılaştırılması

*C. tropicalis* için biyobirikim ve biyosorpsiyonu karşılaştırdığımızda, mayanın biyobirikim oranı çok daha yüksektir. Biyosorpsiyonda ise kuru hücreler ile yapılan deneyde, yaş hücreler ile yapılan deneyden daha çok boyarmadde giderimi gerçekleşmiştir (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1 200 mg/l RB5, 0.02 mM DBS bulunan ortamda biyobirikim ve biyosorpsiyonun *C. tropicalis* için karşılaştırılması

	pH	İS(saat)	% Giderim	$q_m$	X g/l
<b>Biyobirikim</b>	6	60	% 95.6	0.658	0.323
<b>Biyosorpsiyon yaş hücre</b>	4	4	% 2.9	1.7	4
<b>Biyosorpsiyon kuru hücre</b>	4	4	% 36	20.675	4

Bu tez çalışmasında kullanılan türler, surfaktanlar ve boyarmadde farklı araştırmacılar tarafından da tekstil boyarmaddesi arıtımı için biyobirikim veya biyosorpsiyon çalışmalarında farklı kombinasyonlarda kullanılmıştır.

Literatürde yer alan yaygın bilgi, anyonik boyarmadde ve katyonik surfaktan elektrostatik olarak birbirleriyle etkileşime geçmeleri ve bu etkileşimim boyarmadde giderimini arttırmasıdır (Simoncic ve Span 1999). Bu çalışmada da CTAB ile yapılan deney sonuçlarının DBS ile yapılan deney sonuçlarından daha yüksek çıkması beklenmiştir. Fakat düşük DBS konsantrasyonlarında *C. tropicalis* CTAB'li ortamdakine göre daha fazla giderim yapmıştır.

Kodal ve Aksu (2017), 100 mg/l Remazol Black B boyarmadde giderimini kurutulmuş *R. arrhizus* ile 200 mg/l CTAB bulunan ve CTAB bulunmayan ortamda farklı hesaplama modellerini kullanarak çalışmışlardır. Deney sonucu maksimum boyarmadde giderimi surfaktan bulunmayan ortamda pH 2'de % 96 olarak gerçekleşmiştir. Surfaktanlı ortamda Langmuir modeline göre hesaplandığında maksimum boyarmadde giderimi pH 8'de % 68.9 olarak gerçekleşmiştir. Yaptıkları çalışma sonucunda ortama CTAB surfaktanı eklendiği zaman pH üzerinde değiştirici etkisi olduğunu bildirmişlerdir.



Yine CTAB'nin maya hücrelerine negatif bir etkisi olarak Raicu ve Turcu (1998) yaptıkları çalışmada ise *S. cerevisia* hücrelerine 0.3 mM CTAB surfaktanı uygulayarak mayanın iletkenliğini araştırmışlardır. Alınan sonuçlara göre CTAB sitoplazma ve vakuolün iletkenliğini azaltmıştır. Surfaktan uygulanması, mayanın hacmini ve yüzey alanını küçültmüştür. Öte yandan CTAB hücrenin şeklini etkilememiş; sadece büzülme sebebinde olmuştur. Hücrenin geçirgenliğini etkilemiştir. Katlanma azalırken büzülme artar ve plazma zarının spesifik elektrik kapasitesi azalır.

Negatif yüklü baş grubu bulunan anyonik surfaktanlar, anyonik boyarmaddelerin adsorpsiyonunda dezavantajlı olsa da, surfaktanın iyonik baş grubu misel oluşturur. İyonik grup misel oluşturma ve misel büyüklüğünde de rol oynar (Lin ve Wang 2017). Bu da anyonik olan DBS'li ve anyonik RB5'li ortamda neden giderim olduğunu açıklayabilir.

Genel olarak, düşük surfaktan konsantrasyonlarında, yüzey emici konsantrasyonun artmasıyla boyarmadde emilimi artar. Öte yandan yüksek konsantrasyonlarda, tam misel oluşumu ve boyarmadde çözünürlüğünün bir sonucu olarak boyarmadde emilimi bastırılır (Oakes ve Grattton 2003b).

Bracko ve Span (2001) yaptıkları çalışmada, bağlanma sabitinin surfaktanın alkil zinciri uzunluğunun artmasıyla arttığı ve daha da önemlisi, boyarmadde moleküllerinin hidrofobikliğindeki değişiklikler de boyarmadde surfaktan etkileşimlerini önemli ölçüde etkilediğini rapor etmişlerdir.

Sulu çözeltide, aralarında etkileşen moleküller arası kuvvetler yüzünden, iyonların farklı formlarının komplekslerine boyarmaddeler ve yüzey aktif cismi bağlanması meydana gelebilir (Akbaş ve Kartal 2007).

Meehan ve Banat (2000) *K. marxianus* ile yaptığı çalışmada; surfaktan kullanmadan, pH 5'te 37 °C 24 saat sonunda 50 mg/l Remazol Black B boyarmaddesi ile % 97 giderim elde etmiştir. Yüksek sıcaklıklarda ve düşük pH'da (büyümei inhibe etmek için) ve on kat yoğun biyokütle kullanılarak izlenen daha ileri inceleme, giderimin maya hücrelerinde biyosorpsiyona bağlı olduğunu ve metabolik bir reaksiyona bağlı olmadığını ortaya koymuştur. Bu da *K. marxianus* tarafından yapılan giderimin enzimatik bir aktivite ile değil de fiziksel adsorpsiyon ile, yani biyosorpsiyon ile yapıldığını gösterir.

Yapılan bu tez çalışmasında ise sadece *K. marxianus* bulunan ortamda pH 6'da ve 30 °C'de CTAB'li ortamda % 12.2 biyogiderim yaptığı gözlenmiştir. Bunun yanı sıra 0.1 mM surfaktan ile biyogiderim % 82.2 olarak belirlenmiştir. Meehan ve Banat'ın sonuçlarıyla karşılaştırıldığında, bu çalışmada tek başına mayanın biyogiderim oranının düşük olmasının nedeni deneyin gerçekleştirildiği fiziksel şartların farklı olması (pH ve sıcaklık) ve *K. marxianus*' un biyosorpsiyona yatkın olması gösterilebilir. 0.1 mM CTAB surfaktanı bulunan ortamda boyarmadde gideriminin fazla olmasının nedeni ise *K. marxianus* mayasından ziyade surfaktanın boyarmaddenin büyük bir çoğunluğunu gidermesidir. Aynı koşullarda DBS surfaktanı ile yapılan deneyde ise surfaktan mayanın gelişimini inhibe etmiş ve giderim çok az olmuştur.

Aksu ve Dönmez (2003) kurutulmuş *C. tropicalis*, *C. lipolytica*, *K. marxianus* ve *S. cerevisiae* mayaları ile 200 mg/l Remazol Blue, 25 °C pH 2'de biyosorpsiyon çalışması gerçekleştirmişlerdir. *K. marxianus* ve *S. cerevisiae* mayaları ile yaptıkları çalışmada ilk 15 dakikada % 80 giderim yapıldığını gözlemlemiş olup, 72. saatin sonuna dek giderimin stabil bir durum sergilediğini bildirmişlerdir. Boyarmadde gideriminin sabit kalmasının sebebi, bu mayaların boyarmaddeyi hücrelerinin dış yüzeyinde tutması olduğunu saptamışlardır. Bunların aksine *C. tropicalis* ve *C. lipolytica* mayaları ile yapılan çalışmada ise giderimin ilk 24 saatin sonunda maksimum seviyeye ulaştığını (*C. tropicalis*: % 78, *C. lipolytica*: % 87), sonrasında ise 72 saatin sonuna dek giderimin stabil bir durum sergilediğini aktarmışlardır. *Candida* sp. türleri ile yapılan çalışmada boyarmadde gideriminin *K. marxianus* ve *S. cerevisiae* mayalarına göre daha geç maksimum seviyeye ulaşmasının nedeni olarak, *Candida* türlerinde boyarmaddenin

hücre içine alındığı gösterilmiştir. Boyarmadde hücre içinde enzimatik olarak parçalandığı için giderim bu türlerde daha fazladır.

Tez çalışması için yapılan deneyde, pH 6'da 30°C 50 mg/l RB5 bulunan, surfaktan bulunmayan ortamda *K. marxianus* % 12.2, *S. cerevisiae* % 87, *C. tropicalis* % 94, *C. lipolytica* % 80 giderim yapmıştır. Aynı koşullarda 0.05 mM CTAB surfaktanı bulunan ortamda ise *K. marxianus*'un surfaktan ile birlikte boyarmadde giderimi % 55.6, *S. cerevisiae* % 89.5, *C. tropicalis* % 94.5, *C. lipolytica* % 96.7'dir. *Candida* türlerinin daha fazla giderim yapmasının sebebi biyoakümülyasyona yatkınlıklarından dolayı olduğu söylenebilir.

Aksu (2003) *S. cerevisiae* ile yaptığı biyoakümülyasyon çalışmasında, pH 3'te 25°C 47 mg/l Remazol Black bulunan ortamda üçüncü gün sonunda % 99 giderim elde etmiştir. Yapılan bu tez çalışmasında ise pH 6 30°C'de 50 mg/l RB5 bulunan surfaktansız ortamda % 85 giderim, 0.1 mM CTAB bulunan ortamda giderim % 92 bulunmuştur. Bu çalışmada surfaktansız ortamda giderimin Aksu (2002)'nin çalışmasına göre daha az olmasının sebebi pH'ın yüksek olması ile ilişkili olabilir.

Dönmez (2002) *C. tropicalis* ile yaptığı biyoakümülyasyon çalışmasında, pH 3'te 25 °C'de 22. gün sonunda 50 mg/l Reaktive Black boyarmaddesi kullanarak % 99 giderim sağlamıştır. Yapılan bu tez çalışmasında ise pH 6'da 30°C'de 3. günde 50 mg/l RB5 boyarmaddesi kullanılarak *C. tropicalis* mayası ile % 95; 0.02 mM CTAB surfaktanı bulunan ortamda ise % 85 giderim sağlanmıştır. Bu da CTAB surfaktanının mayanın giderim kapasitesini inhibe ettiğini gösterir.

Sarkar (2000) yaptığı çalışmada katyonik boyarmadde olan Metil Violet'in 3 farklı surfaktanlarla (anyonik SDS), noniyonik (Triton X-100) ve katyonik (CTAB) etkileşimi üzerinde çalışmıştır. Katyonik yüklü hem boyarmadde hem de CTAB surfaktanı ile yaptığı giderim çalışmasında aynı yükte sahip boyarmadde ve surfaktanın boyarmadde gideriminin az olduğunu saptamıştır. Bunun sebebi olarak aralarındaki itici elektrostatik etkileşimden dolayı Metil Violet'in CTAB miseller içinde çözünmez hale gelmesine karşın su fazında kaldıklarını göstermektedir. Bu durumda boyarmadde

gideriminin yapılmadığını ya da az yapıldığını göstermektedir. Yapılan bu tez çalışmasında ise aynı yüke sahip boyarmadde (anyonik Reaktif Black 5) ve surfaktanın (anyonik DBS) olduğu ortamda boyarmadde gideriminin surfaktan konsantrasyonu arttıkça düştüğü gözlenmiştir.

Boyarmaddelerin farklılıkları, boyarmadde molekülündeki moleküler yapı ve tip, sayı ve yer değiştiricilerin konumu gibi özelliklere bağlıdır (Reife ve Freeman 1996). Mikrobiyal biyokütle ile boyarmaddeler arasındaki etkileşimler hakkında sınırlı bilgi mevcuttur. Bunlar yaş ve kuru hücreler tarafından renksizleşmenin yüzey adsorpsiyonu, iyon değişimi, kompleksleşme ve mikro-çökeltme gibi çeşitli kompleks mekanizmaları içerdiği gerçeği ile açıklanabilir (Crini 2006).

Anyonik boyarmaddelerin adsorpsiyonu ortamın sıcaklığına, pH'ına, adsorbentin karakteristiğine, boyarmaddenin moleküler yapısına, boyarmaddedeki sulfanat grupların pozisyonuna ve miktarına bağlıdır. Bu faktörlerin giderim üzerinde önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir (Ho ve McKay 2003). Anyonik boyarmaddelerin adsorpsiyonu pH 4'te maksimumdur (Cestari vd. 2006).

Çözeltideki boyarmadde iyonik formları ve biyokütlenin yüzeysel elektrik yükü çözelti pH değerine bağlıdır. Bu nedenle, çözelti pH'ı hem fungal biyokütle- yüzey boyarmadde bağlanma bölgelerini hem de ortamdaki boyarmadde kimyasını etkiler. Fu ve Viraraghavan (2001), Basic Blue 9 ve Acid Blue 29 için, boyarmadde solüsyonunun efektif başlangıç pH'ının sırasıyla 6 ve 4 olduğunu bildirmiştir. PH 2 değerinde, yüksek konsantrasyonda protonlar nedeniyle Basic Blue 9 için biyosorpsiyon meydana gelmemiştir. Arica ve Bayramoğlu (2007), pH düştükçe Reaktif Kırmızı 120 boyarmaddenin mantar biyokütlesi üzerindeki biyosorpsiyonu arttığını bildirmiştir.. Daha düşük pH değerlerinde fungal biyokütlenin net pozitif yükü olacaktır. Bu yüklü bölgeler, reaktif boyarmaddeler gibi anyonik grupları bağlamak için kullanılabilir hale gelir.

Cestari (2006) yaptığı çalışmada, boyarmaddelerin kimyasal yapılarının boyarmadde/DBS agregatlarının oluşumunda ve boyarmadde adsorpsiyonunda önemli

bir rol oynadığını öne sürmüştür. Bu davranış, düzlemsel moleküller için yüksek hidrofilitik/hidrofobik oran nedeniyle düşük sıcaklıklarda nispeten zayıf boyarmadde/surfaktan etkileşimleri ile ilgilidir.

Çoğunlukla polisakaritler, proteinler ve lipidlerden oluşan hücre duvarları, birçok işlevsel grup sunar. Boyarmaddeler hücre yüzeyindeki bu aktif gruplarla farklı bir şekilde etkileşime girebilirler. Adsorpsiyon, boyarmadde molekülündeki hidroksil, nitro ve azo gruplarının varlığı ile artar ancak sülfonik asit grupları tarafından azaltılır. Mikrobiyal biyokütle ile adsorpsiyon verimliliğinin ve seçiciliğinin, iyon değiştirme mekanizmalarından kaynaklandığı bilinmektedir. Boyarmaddenin moleküler büyüklüğü de hücre içine alımı etkiler (Reife ve Freeman 1996).

Yang ve Yediler (2004) yaptıkları çalışmada *Debaryomyces polymorphus* mayasının enzimatik aktivitesi ile pH 6'da 48 saat inkübasyon ile 200 mg/l RB5 boyarmaddesinin % 98.6 giderildiğini göstermişlerdir. Araştırmacılar RB5 boyarmaddesinden kopan SO<sub>3</sub> grubu sonucu oluşan asitlerin boyarmadde giderimine yardımcı olduğu kanısına varmışlardır. Yapılan bu tez çalışmasında ise kullanılan boyarmadde RB5 olduğu için, bu asitler ortamın pH'ını arttırarak boyanın maya hücresine daha iyi tutunmasını sağlamıştır.

Spadaro vd. (1992), hidroksil, amino, asetamido veya nitro fonksiyon grupları gibi aromatik halkaların boyarmadde renklerinin renk bozulması sırasında bu grupların bulunmadığı halkalara göre daha fazla mineralize olduğunu gözlemişlerdir. Boyarmaddelerin molekül yapısının renk açma derecesine etkisi olduğunu ve renk gideriminin boyarmadde yapılarına bağlı olduğunu bildirmişlerdir. Bu da RB5 ile yaptığımız çalışmada giderim oranlarının yüksek olmasının sebeplerinden biridir.

Düşük RB5 konsantrasyonlarında daha fazla giderim yapılmasının sebebi ise boyarmadde konsantrasyonun aynı zamanda renk giderim verimliliğini de etkilemesidir. (Kapdan vd. 2000).

Reaktif boyarmaddelerin aktif gruplarındaki anyonlar serbest bırakılınca bu gruplar mayaların hücre duvarındaki lipidler, aminoasitler gibi pozitif yüklü yapılar ile etkileşime geçer (Brady 1994, Volesky 1995, Fu 2001). Ortamın pH'ı hücre-boyarmadde bağlantısını ve solüsyon içindeki boyarmadde yapısını etkiler. Boyarmaddeler düşük pH'larda daha çok anyon vererek hidrojen miktarını artırır. Hidrojen hücre duvarı ve boyarmadde arasında bağlantı kurmaktadır. (Banks 1992, Fu 2001). Kurulan bu bağlantı giderimin üzerinde etkilidir. Yapılan bu tez çalışmasında pH 6 olarak sabit tutulduğu için RB5 boyarmaddesi daha az anyon vererek hidrojen miktarında fazla değişim sergilememiş olabilir. Bu durum hidrojenin hücre duvarı ve boyarmadde arasında bağlantısını azaltmakta ve bazı deney sonuçlarının neden az giderim yaptığını açıklayabilir.

Bu tez çalışmasında katyonik bir surfaktan olan CTAB ve anyonik bir surfaktan olan DBS ile yapılan çalışmalar farklı maya türleri ile karşılaştırılmıştır. Yapılan çalışmalara en verimli tür olan *C. tropicalis* ve kendi izole ettiğimiz türlerden en verimli olan *K. marxianus* ile devam edilmiştir. Surfaktanların bu mayalara RB5 bulunan ortamda nasıl bir etkisi olduğunu görebilmek için ise biyobirikim ve biyosorpsiyon yapılmıştır.

Bu tez çalışmasının sonucunda:

- Kullanılan mayalar arasında en fazla giderim yapan türün *C. tropicalis* olduğu,
- En yüksek giderimin biyobirikim ile elde edildiği,
- Kuru hücre ile yapılan biyosorpsiyonda yaş hücre ile yapılabildiğine göre daha fazla verim elde edildiği,
- Boyarmadde ve surfaktanın aynı yüklere sahip olduğu ortamda da giderimin olabileceği gösterilmiştir.
- Ayrıca literatürde *C. lipolytica* ile ilk defa boyarmadde giderimi denenmiştir.

Çalışma sonucu elde edilen bulguların, ülkemizde büyük bir kirlilik payı bulunan tekstil sektörü sorunlarına ışık tutması ümit edilmektedir.

## KAYNAKLAR

- Anonim. 2012. Türkiye Tekstil ve Hazır Giyim Sektöründe Kurumsal Sosyal Sorumluluk Durum Raporu.
- Anonim. 2017a. Web Sitesi:  
<http://www.kimyaevi.org/TR/Genel/BelgeGoster.aspx?F6E10F8892433CFF679A66406202CCB08999DEE6B259E049>. Erişim Tarihi: 03.04.2017
- Anonim. 2017b. Web Sitesi:  
<http://www.sigmaldrich.com/catalog/product/sial/306452?lang=en&region=TR>. Erişim Tarihi:04.04.2017
- Anonim.2017c. Web Sitesi:  
<http://www.wikizero.org/index.php?q=aHR0cHM6Ly90ci53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvWcO8emV5X2FrdGlmX21hZGRl>. Erişim Tarihi: 15.12.2017.
- Anonim. 2017d. Web Sitesi: <https://tr.wikipedia.org/wiki/Boya> Erişim Tarihi: 02.04.2017
- Anonim.2018. Web Sitesi: [http://www.wikiwand.com/tr/Y\\_%C3%BCzey\\_aktif\\_madde](http://www.wikiwand.com/tr/Y_%C3%BCzey_aktif_madde) Erişim Tarihi: 04.04.2018
- Akbasx, H. and Kartal, C. 2007. Conductometric studies of the interaction of C.I. reactive orange 16 with cationic alkyltrimethyl ammonium bromide surfactants. *Dyes Pigments* 72: 383-386. DOI: 10.1016/j.dyepig.2005.09.024
- Aksu, Z. 2003. Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*, 38(10), 1437-1444.
- Aksu, Z. and Dönmez, G. 2003. A comparative study on the biosorption characteristics of some yeasts for Remazol Blue reactive dye. *Chemosphere*, 50(8), 1075-1083.
- Aksu, Z. and Dönmez, G. 2005. Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*. *Process Biochemistry*, 40(7), 2443-2454.
- Aksu, Z. 2005. Application of biosorption for the removal of organic pollutants: A review. *Process Biochemistry*, 40(3-4), 997-1026.
- Banat I.M., Nigam P., Singh D., Marchant R. 1996. Microbial decolorization of textile-dye-containing effluents: A review. *Bioresource Technology* 1996;58:217/27.

- Banat, I. M., Makkar, R.S. and Cameotra, S.S. 2000. Potential commercial applications of microbial surfactants. *Applied microbiology and biotechnology*, 53(5), 495-508.
- Banks, C.J. and Parkinson, M.E. 1992. The mechanism and application of fungal biosorption to colour removal from raw waters. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 54(2), 192-196.
- Başer, İ. ve İnanıcı, Y. 1990. Boyarmadde Kimyası Marmara Üniversitesi Yayın No:482 Teknik Eğitim Fakültesi Yayın No:2.
- Batıgöç, Ç. 2010. Sürfaktanlerin Etkileşimlerinin ve Fiziksel Özelliklerinin İncelenmesi. Doktora Tezi. Trakya Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Brady, D. and Duncan, J. R. 1994. Bioaccumulation of metal cations by *Saccharomyces cerevisiae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 41(1), 149-154.
- Bracko, S. and Span, J. 2001. Anionic dye-cationic surfactant interaction in water-ethanol mixed solvent. *Dyes and Pigment* 50(1): 77-84. DOI: 10.1016/S0143-7208(01)00025-0
- Cestari, A.R., Vieira, E.F., Vieira, G.S. and Almeida, L.E. 2006. The removal of anionic dyes from aqueous solutions in the presence of anionic surfactant using aminopropylsilica: A kinetic study. *Journal of hazardous materials*, 138(1), 133-141.
- Cestari, A.R., Vieira, E.F. and Silva, E.S. 2006. Interactions of anionic dyes with silica-aminopropyl: 1. A quantitative multivariate analysis of equilibrium adsorption and adsorption Gibbs free energies. *Journal of colloid and interface science*, 297(1), 22-30.
- Cestari, A.R., Vieira, E.F., Vieira, G.S., and Almeida, L.E. 2007. Aggregation and adsorption of reactive dyes in the presence of an anionic surfactant on mesoporous aminopropyl silica. *Journal of colloid and interface science*, 309(2), 402-411.
- Charumathi, D. and Das, Nilanjana. 2010. Removal of synthetic dye basic Violet 3 by immobilised *Candida tropicalis* grown on sugarcane bagasse extract medium. *Int J Eng Sci Technol*, 2(9), 4325-4335.
- Chinwetkitvanich, S., Tuntoolvest, M., and Panswad, T. 2000. Anaerobic decolorization of reactive dyebath effluents by a two-stage UASB system with tapioca as a co-substrate. *Water Research*, 34(8), 2223-2232.
- Correia, V.M. Stephenson, T. and Judd, S.J. 1994. Characterisation of textile wastewaters-a review. *Environmental technology*, 15(10), 917-929.



- Crini, G. 2006. Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review. *Bioresource technology*, 97(9), 1061-1085.
- Çiftçi, F.M. Mühendisler Odası Dergisi. Aralık 2015.
- De Guertechin, L.O. 2001. Classification of surfactants. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 431.
- Dönmez G., Aksu Z. 1999. The effect of copper(II) ions on the growth and bioaccumulation properties of some yeasts. *Process Biochem* 1999;35:135/42.
- Dönmez, G. 2002. Bioaccumulation of the reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium. *Enzyme and Microbial Technology*, 30(3), 363-366.
- Elwakeel, K. Z. 2009. Removal of Reactive Black 5 from aqueous solutions using magnetic chitosan resins. *Journal of hazardous materials*, 167(1-3), 383-392.
- Ertuğrul, S., San, N.O., and Dönmez, G. 2009. Treatment of dye (Remazol Blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters. *Ecological Engineering*, 35(1), 128-134.
- Fabry, B. 1991. Tenside. Eigenschaften, Rohstoffe, Produktion, Anwendungen. *Chemie in unserer Zeit*, 25(4), 214-222.
- Fairhead, M., and Thöny-Meyer, L. 2012. Bacterial tyrosinases: Old enzymes with new relevance to biotechnology. *New biotechnology*, 29(2), 183-191.
- Fu, Y. and Viraraghavan, T. 2001. Fungal decolorization of dye wastewaters: a review. *Bioresource technology*, 79(3), 251-262.
- Gül, Ü.D. and Dönmez, G. 2012. Comparison the dye removal activity of systems contained surfactants and fungus. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 57(2), 1170-1173.
- Gül, Ü. D. 2013. Treatment of dyeing wastewater including reactive dyes (Reactive Red RB, Reactive Black B, Remazol Blue) and Methylene Blue by fungal biomass. *Water SA*, 39(5), 593-598.
- Hameed, B.H., Ahmad, A.A. and Aziz, N. 2007. Isotherms, Kinetics And Thermodynamics Of Acid Dye Adsorption On Activated Palm Ash. *Chemical Engineering Journal*, 133, 195–203.
- Hauthal, H.G. 2008. Tenside, Nachhaltigkeit: Rohstoffe, Produkte, Prozesse, SÖFW-Journal, 6-2008, S. 10
- Holmberg, K., Jönsson, B., Kronberg, B., and Lindman, B. 2003. *Surfactants and polymers in aqueous solution (Vol. 2)*. Chichester: Wiley.

- Hosseinzadeh, R., Maleki, R., Matin, A. A. and Nikkhahi, Y. 2008. Spectrophotometric study of anionic azo-dye light yellow (X6G) interaction with surfactants and its micellar solubilization in cationic surfactant micelles. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 69(4), 1183-1187.
- Hunger, K. (Ed). 2007. Industrial dyes: chemistry, properties, applications. John Wiley & Sons.
- İçoğlu, H.İ. 2006. Pamuklu Dokunmuş Kumaşların Reaktif Boyarmaddelerle Boyanması ve Uygulama Yöntemlerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Çukurova Üniversitesi, Tekstil Mühendisliği Bkürümü, Adana.
- İlter, M. 2015. Tekstil Üretimi ve Yardımcı Kimyasallar TTMOB Kimya Mühendisleri Odası, İzmir.
- Kapdan, I. K., Kargia, F., McMullan, G., & Marchant, R. (2000). Effect of environmental conditions on biological decolorization of textile dyestuff by *C. versicolor*. *Enzyme and Microbial Technology*, 26(5-6), 381-387.
- Kaykıoğlu, G., and Debik, E. 2006. Color Removal From Textile Wastewater With Anaerobic Treatment Processes. *Sigma*, 4.
- Kert, M. and Simončič, B. 2008. The influence of nonionic surfactant structure on the thermodynamics of anionic dye–cationic surfactant interactions in ternary mixtures. *Dyes and Pigments*, 79(1), 59-68.
- Khanal, M. 2017. Study of Methyl Orange-Cetyltrimethyl Ammonium Bromide Interaction by Conductivity Method in Methanol-Water Mixed Solvent Media. *International Journal of Applied Sciences and Biotechnology*, 5(2), 172-179.
- Kocaer, F.O. ve Alkan, U. 2002. Boyarmadde İçeren Tekstil Atık sularının Arıtım Alternatifleri. *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi*, Cilt 7, Sayı 1, 2002.
- Kodal, S. P., and Aksu, Z. 2017. Cationic surfactant-modified biosorption of anionic dyes by dried *Rhizopus arrhizus*. *Environmental technology*, 38(20), 2551-2561.
- Kurbanova, R., Mirzaoğlu, R., Ahmedova, G., Şeker, R., Özcan, E. 1998. *Boya ve Tekstil Kimyası ve Teknolojisi*, 1. Baskı, Konya.
- Lin, C., Wang, S., Sun, H., and Jiang, R. 2018. Adsorption of anionic dye by anionic surfactant modified chitosan beads: Influence of hydrophobic tail and ionic head-group. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 39(1), 106-115.
- Martorell, M. M., Pajot, H. F., Rovati, J. I., and Figueroa, L. I. 2012. Optimization of culture medium composition for manganese peroxidase and tyrosinase

- production during Reactive Black 5 decolourization by the yeast *Trichosporon akiyoshidainum*. *Yeast*, 29(3-4), 137-144.
- Meehan, C., Banat, I. M., McMullan, G., Nigam, P., Smyth, F., and Marchant, R. 2000. Decolorization of Remazol Black-B using a thermotolerant yeast, *Kluyveromyces marxianus* IMB3. *Environment international*, 26(1-2), 75-79.
- Nigam, P., Banat, I. M., Singh, D., and Marchant, R. 1996. Microbial process for the decolorization of textile effluent containing azo, diazo and reactive dyes. *Process biochemistry*, 31(5), 435-442.
- Oakes, J. and Dixon, S. 2004. Physical interactions of dyes in solution—influence of dye structure on aggregation and binding to surfactants/polymers. *Coloration Technology*, 34(1), 110-128.
- Oakes, J. and Gratton, P. 2003. Solubilisation of dyes by surfactant micelles. Part 2; Molecular interactions of azo dyes with cationic and zwitterionic surfactants. *Coloration technology*, 119(2), 100-107.
- Oakes, J. and Gratton, P. 2003. Solubilisation of dyes by surfactant micelles. Part 1; Molecular interactions of azo dyes with nonionic and anionic surfactants. *Coloration technology*, 119(2), 91-99.
- O'Neill, 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(2), 249-254.
- Padmesh, T. V. N., Vijayaraghavan, K., Sekaran, G. And Velan, M. 2006. Biosorption of Acid Blue 15 using fresh water macroalga *Azolla filiculoides*: Batch and column studies. *Dyes and Pigments*, 71(2), 77-82.
- Peters, A.T. 1992. *Colorants and auxiliaries: organic chemistry and application properties*: Edited by John Shore, published by the society of dyers and colourists, Bradford, UK, 1990. Vol. 1 colorants, pp.(xi)+ 372, price:£ 26. ISBN 0.
- Raicu, V., Gusbeth, C., Anghel, D.F. and Turcu, G. 1998. Effects of cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) surfactant upon the dielectric properties of yeast cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1379(1), 7-15.
- Reife, A., Freeman, H., 1996. *Environmental Chemistry of Dyes and Pigments*. John-Wiley & Sons, Inc., New York

- Renganathan, S., Thilagaraj, W. R., Miranda, L. R., Gautam, P. and Velan, M. 2006. Accumulation of acid orange 7, acid red 18 and reactive black 5 by growing *Schizophyllum commune*. *Bioresource technology*, 97(16), 2189-2193.
- Robinson, T., McMullan, G., Marchant, R., and Nigam, P. 2001. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. *Bioresource technology*, 77(3), 247-255.
- Sadettin, S., & Dönmez, G. 2006. Bioaccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria. *Process Biochemistry*, 41(4), 836-841.
- Sabaté, R., and Estelrich, J. 2003. Determination of micellar microenvironment of pinacyanol by visible spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(17), 4137-4142.
- Safarik, I., Rego, L. F. T., Borovska, M., Mosiniewicz-Szablewska, E., Weyda, F., and Safarikova, M. 2007. New magnetically responsive yeast-based biosorbent for the efficient removal of water-soluble dyes. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(6), 1551-1556.
- Safarikova, M., Ptackova, L., Kibrikova, I., and Safarik, I. 2005. Biosorption of water-soluble dyes on magnetically modified *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* cells. *Chemosphere*, 59(6), 831-835.
- Saratale, R. G., Gandhi, S. S., Purankar, M. V., Kurade, M. B., Govindwar, S. P., Oh, S. E., and Saratale, G. D. 2013. Decolorization and detoxification of sulfonated azo dye CI Remazol Red and textile effluent by isolated *Lysinibacillus* sp. RGS. *Journal of bioscience and bioengineering*, 115(6), 658-667.
- Sarkar, M. and Poddar, S. 2000. Studies on the interaction of surfactants with cationic dye by absorption spectroscopy. *Journal of colloid and interface science*, 221(2), 181-185.
- Sen, S. K., Raut, S., Bandyopadhyay, P. and Raut, S. 2016. Fungal decolouration and degradation of azo dyes: a review. *Fungal Biology Reviews*, 30(3), 112-133.
- Seventekin, N. 1998. *Boyarmadde Kimyasına Giriş*, 1. Baskı, Bornova.
- Singh, A., Van Hamme, J. D. and Ward, O. P. 2007. Surfactants in microbiology and biotechnology: Part 2. Application aspects. *Biotechnology advances*, 25(1), 99-121.
- Simoncic, B., and Kovac, F. 1999. A study of dye-surfactant interactions. Part 2. The effect of purity of a commercial cationic azodye on dye-surfactant complex formation. *Dyes and Pigments*. 40(1): 1-9.

- Spadaro, J. T., Gold, M. H., & Renganathan, V. (1992). Degradation of azo dyes by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*. *Applied and environmental microbiology*, 58(8), 2397-2401.
- Simoncic, B. And Span, J. 1999. *Dyes and Pigments*, 36, p. 1.
- Socha, K., 1991. Treatment of Textile Effluents, *Textile Month*, 12, 52-56.
- Srinivasan, A. and Viraraghavan, T. 2010. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: a review. *Journal of environmental management*, 91(10), 1915-1929.
- Şen, S. and Demirer, G.N. 2003. Anaerobic Treatment of Real Textile Wastewater With A Fluidized Bedreactor. *Water Research*, 37, 1868-1878.
- Tadros, T.F. 2005. Physical Chemistry of Surfactant Solutions, in *Applied Surfactants: Principles and Applications*.
- Tadros, T.F. 2006. *Applied surfactants: principles and applications*. John Wiley & Sons.
- Tutak, M. 2017. Boyarmadde Kimyasi Ders Notlari-TEKP 302. Erciyes Üniversitesi Tekstil Mühendisliği,Kayseri.
- Van Hamme, J.D., Singh, A. and Ward, O. P. 2006. Physiological aspects: Part 1 in a series of papers devoted to surfactants in microbiology and biotechnology. *Biotechnology Advances*, 24(6), 604-620.
- Vitor, V. and Corso, C. R. 2008. Decolorization of textile dye by *Candida albicans* isolated from industrial effluents. *Journal of industrial microbiology & biotechnology*, 35(11), 1353-1357.
- Volesky, B., and Holan, Z. R. 1995. Biosorption of heavy metals. *Biotechnology progress*, 11(3), 235-250.
- Willmott, N., Guthrie, J., and Nelson, G. 1998. The biotechnology approach to colour removal from textile effluent. *Coloration Technology*, 114(2), 38-41.
- Yakartepe, M., Yakartepe, Z., 1993, T.K.A.M. *Tekstil Ansiklopedisi*, Tekstil ve Konfeksiyon Arastırma Merkezi Yayını, İstanbul, cilt 5-6, 2158s.
- Yang, Q., Yediler, A., Yang, M., and Kettrup, A. 2005. Decolorization of an azo dye, Reactive Black 5 and MnP production by yeast isolate: *Debaryomyces polymorphus*. *Biochemical engineering journal*, 24(3), 249-253.
- Ye, J., Yin, H., Mai, B., Peng, H., Qin, H., He, B., and Zhang, N. 2010. Biosorption of chromium from aqueous solution and electroplating wastewater using mixture

of *Candida lipolytica* and dewatered sewage sludge. *Bioresource technology*, 101(11), 3893-3902.

Yu, Z., and Wen, X. 2005. Screening and identification of yeasts for decolorizing synthetic dyes in industrial wastewater. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 56(2), 109-114.

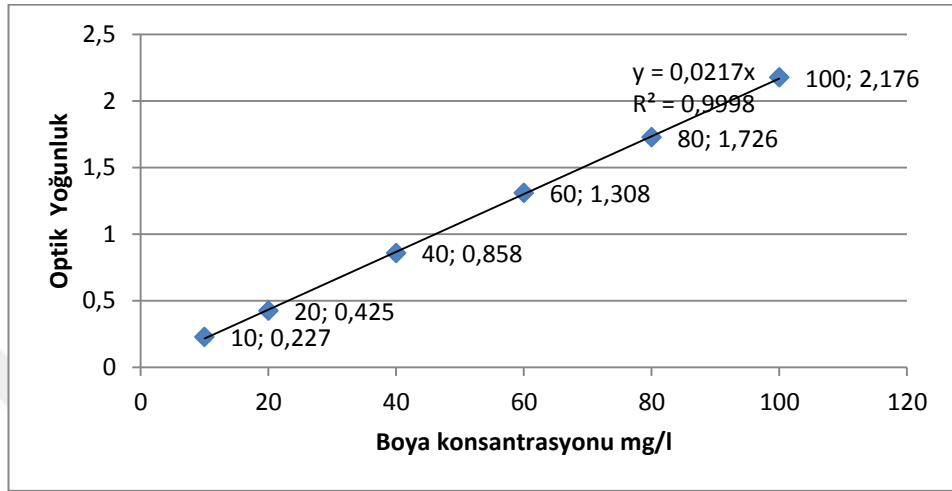
Zinjarde, S., Apte, M., Mohite, P. and Kumar, A. R. 2014. *Yarrowia lipolytica* and pollutants: interactions and applications. *Biotechnology advances*, 32(5), 920-933.

Zollinger, H. 2003. *Color chemistry: syntheses, properties, and applications of organic dyes and pigments*. John Wiley & Sons.

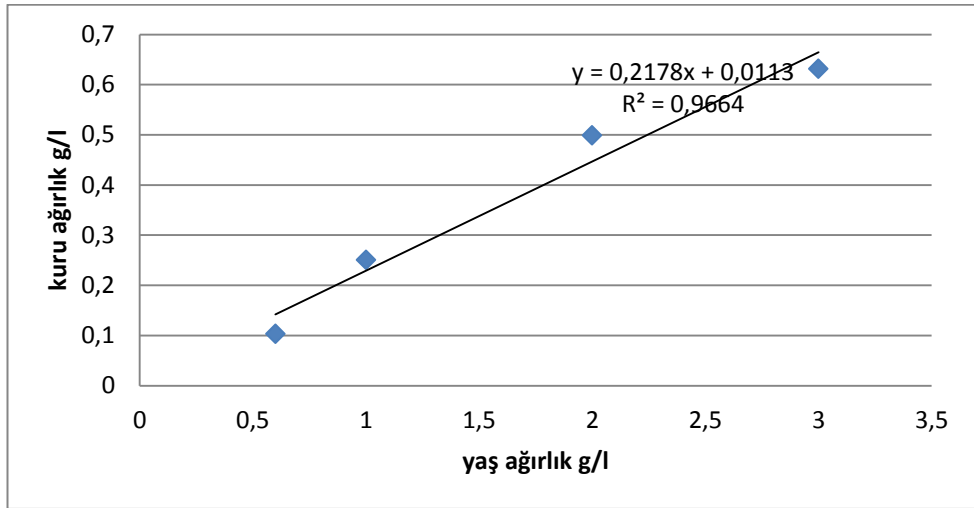


## EKLER

EK 1 Reaktif Black 5 boyarmaddesinin 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 mg/l konsantrasyonlarında standart eğrisi



Şekil 1 Reaktif Black 5 boyarmaddesinin standart eğrisi



Şekil 2 *C.tropicalis* türüne ait yaş-kuru ağırlık örnek standart eğrisi

## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Gülşah TEKATLI

Doğum Yeri : Girne

Doğum Tarihi : 19.06.1992

Yabancı Dili : İngilizce

### **Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)**

Lise : Bülent Ecevit Anadolu Lisesi (2010)

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2014)

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı  
(Eylül2014- Haziran2018)

### **Çalıştığı Kurum:**

Tamer Endüstriyel: C Sınıfı İş Sağlığı ve Güvenliği Uzmanı (2017-2018)