

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KALSİYUM ALGİNATTA İMMOBİLİZE EDİLEN TERMOFİL *Phormidium* sp.
İLE BOYA GİDERİMİ**

Melike BAKIR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2006**

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

KALSİYUM ALJİNATTA İMMOBİLİZE EDİLEN TERMOFİL *Phormidium* sp. İLE BOYA GİDERİMİ

Melike BAKIR

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Üniversitesi
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Sıcak su kaynaklarından izole edilen termofil siyanobakteri *Phormidium* sp. ile reaktif boya biyobirikim çalışmalarında, izolatin en yüksek boya giderimi yaptığı pH, sıcaklık ve konsantrasyon kesikli sistemlerde termofilik şartlar altında araştırıldı. Denemelerde pH; 6.5, 7.5, 8.5, 9.5'ayarlanmış Reactive Black B ve Remazol Blue içeren BG11 besiyerlerinde izolatin optimum giderim yaptığı pH 8.5 olarak belirlendi. 40 °C, 45 °C ve 50 °C'de hem Remazol Blue hemde Reactive Black B ile yapılan denemelerde en yüksek giderim 45 °C'de gerçekleşti. *Phormidium* sp. üzerine başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi 12mg^l⁻¹, 25 mg^l⁻¹, 50 mg^l⁻¹ ve 75 mg^l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonlarında araştırıldı, artan boya konsantrasyonu ile biyobirikimin azaldığı belirlendi. En yüksek biyobirikim, Reactive Black B için, 12.1 mg^l⁻¹ başlangıç konsantrasyonunda %87.42, Remazol Blue için 9.06 mg^l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda %87.9 olarak belirlendi. Tez çalışması sonunda, *Phormidium* sp. termofilik koşullarda tekstil atıksularındaki reaktif boyaların uzaklaştırılmasında kullanılabileceği sonucuna varıldı.

2006, 46 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Phormidium* sp., siyanobakteri, termofil, boya, atıksu

ABSTRACT

Master Thesis

REMOVAL OF DYE THERMOPHILIC *Phormidium* sp. IMMOBILIZED WITH CALCIUM ALGINATE

Melike BAKIR

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

Supervisor: Prof. Dr. Gönül DÖNMEZ

Reactive dye bioaccumulation of thermophilic cyanobacteria *Phormidium* sp., isolated from hot water springs, was examined under thermophilic conditions with a batch system to determine the optimal conditions required for the highest dye removal. Optimum pH value for dye removal of *Phormidium* sp. was determined as 8.5 in BG11 media containing Reactive Black B ve Remazol Blue. In the experiments both with Remazol Blue and Reactive Black B at 40 °C, 45 °C and 50 °C maximum removal was obtained at 45 °C'. The effect of initial dye concentration on *Phormidium* sp. was investigated at the concentrations of 12mg^l⁻¹, 25 mg^l⁻¹, 50 mg^l⁻¹ and 75 mg^l⁻¹ and it was shown that bioaccumulation decreases with increasing dye concentrations. The maximum bioaccumulation was 87.42 % for Reactive Black B at initial concentration of 12.1 mg^l⁻¹ and 87.9 % for Remazol Blue at initial concentration of 9.06 mg^l⁻¹. At the end of this study, it was determined that thermophilic *Phormidium* sp. can be used in removal of reactive dyes from textile wastewaters under thermophilic conditions.

2006, 46 pages

Key Words: *Phormidium* sp., Cyanobacteria, thermophile, dye, wastewater

TEŞEKKÜR

Tez konumun belirlenmesinde ve çalışmalarımın her aşamasında beni yönlendiren, sonuçlanmasında çok büyük emeği geçen, ilgi, teşvik ve desteğini gördüğüm tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gönül Dönmez'e, tezimin deneysel aşamasında yardımlarını benden esirgemeyen Dr. Sevgil Sadettin'e, Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümü'ne ve Fen Bilimleri Enstitüsü'ne, tezimin yazım aşamasında bana destek olan bütün arkadaşlarıma, varlıklarıyla her zaman gurur duyduğum ve mutlu olduğum, hayatım boyunca her konuda desteklerini gördüğüm canım aileme ve tezimin deneysel ve yazım aşamasından basım aşamasına kadar katkıda bulunan, burada isimlerini tek tek sayamadığım emeği geçen herkese, sonsuz şükran ve teşekkürlerimi sunarım.

Melike BAKIR

Ankara, Aralık 2006

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1.GİRİŞ.....	1
2.TEMEL BİLGİLER.....	2
2.1 Tekstil Boyarmaddeleri.....	2
2.1.1 Tekstil boyarmaddelerinin sınıflandırılması.....	2
2.1.1.1 Çözünürlük özelliklerine göre boyarmaddeler.....	2
2.1.1.2 Kimyasal yapılarına göre boyarmaddeler.....	3
2.1.1.3 Uygulandıkları elyaf türüne göre boyarmaddeler.....	3
2.1.1.4 Boyama özelliklerine göre boyarmaddeler.....	4
2.1.2 Reaktif boyarmaddeler ve genel özellikleri.....	5
2.1.2.1 Reaktif boyarmaddelerin kimyasal yapısı.....	5
2.1.2.2 Reaktif boyarmaddelerin sınıflandırılması.....	5
2.1.2.3 Reaktif boyarmaddelerin avantajları.....	6
2.1.2.4 Reaktif boyaların dezavantajları.....	6
2.1.2.5 Reaktif boyarmaddelerle boyama yöntemleri.....	6
2.2 Atıksular.....	7
2.2.2 Atıksu arıtım yöntemleri.....	9
2.2.1 Genel özellikleri ve sınıflandırılması.....	9
2.2.2.1 Fiziksel arıtım yöntemleri.....	9
2.2.2.2 Kimyasal arıtım yöntemleri.....	9
2.2.2.3 Biyolojik arıtım yöntemleri.....	10
2.3 Tekstil Endüstrisi Atıksuları.....	11
2.3.1 Reaktif boyarmadde içeren atıksular.....	11

2.3.2 Tekstil boyarmaddesi içeren atıksuların arıtım yöntemleri.....	12
2.3.2.2 Kimyasal yöntemler.....	12
2.3.2.1 Fiziksel yöntemler.....	12
2.3.2.3 Biyolojik yöntemler	12
3. TUTUKLAMA.....	14
3.1 Tutuklama Yöntemleri.....	14
3.2 Tutuklamanın (İmmobilizasyon) Mikroorganizmalara Etkisi.....	15
4. BİYOSORBENTLER.....	17
4.1 Termofil Siyanobakteriler.....	17
4.2 Siyanobakteri Hücre Yapısı.....	17
4.2.1 Hücre içi granüler yapılar.....	18
4.2.2 Fikobilizom.....	18
4.2.3 Heterosist.....	18
4.2.4 Akinet ve hormogonyum.....	19
5. MATERYAL YÖNTEM.....	20
5.1 Üretim.....	20
5.2 <i>Phormidium</i> sp.'nin Kalsiyum Aljinat Jele Tutuklanması.....	21
5.3 Farklı Konsantrasyonlarda Mikroorganizma İçeren Granüllerin Hazırlanması.....	22
5.4 Biyobirikim Çalışmaları.....	22
5.4.1 Granüllerdeki optimum mikroorganizma konsantrasyonunun belirlenmesi.....	22
5.4.2 Boya biyobirikimi.....	23
5.5 Analiz Yöntemleri.....	23
5.5.1 Kuru ağırlığın belirlenmesi.....	23
5.5.2 Boya konsantrasyonunun belirlenmesi.....	23
5.5.3 Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan formüller.....	24
6. ARAŞTIRMA BULGULARI.....	25
6.1 Optimum Mikroorganizma Konsantrasyonu.....	25
6.2 Boya Biyobirikiminde Başlangıç pH'nın Etkisi.....	26

6.3 Boya Biyobirikiminde Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi.....	27
6.4 Boya Biyobirikiminde Sıcaklığın Etkisi.....	30
7. SONUÇ ve TARTIŞMA.....	33
KAYNAKLAR.....	38
EKLER.....	43
EK 1 Yaş ve kuru ağırlık standart eğrisi.....	44
EK 2 Reactive Red RB, Remazol Blue ve Reactive Black B boyaların 5, 10, 15, 20 ve 25 mg l⁻¹ konsantrasyonlarda standart eğrileri.....	45
ÖZGEÇMİŞ.....	46

SİMGELER DİZİNİ

C_{byb}	Biriktirilen boya konsantrasyonu (mg l^{-1})
C_o	Başlangıç konsantrasyonu (mg l^{-1})
C_g	Son boya konsantrasyonu (mg l^{-1})
q_m	Hücre kuru ağırlığı başına en yüksek biyobiriktirilen boya miktarı (mg g^{-1})
X_m	En yüksek kuru hücre miktarı (g l^{-1})

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.2 <i>Phormidium</i> sp.'nin genel görünüşü.....	18
Şekil 5.1 <i>Phormidium</i> sp.'nin hücre yapısı.....	21
Şekil 5.2 Reactive Black B boyasının moleküler yapısı.....	22
Şekil 6.1 Optimum mikroorganizma miktarının belirlenmesi (S: 45°C ; ışık şiddeti 2400 lüks, inkübasyon süresi: 8 gün).....	25
Şekil 6.2 Boya biyobirikimine pH'nın etkisi (S: 45°C ; ışık şiddeti 2400 lüks, inkübasyon süresi: 8 gün).....	27
Şekil 6.3 Farklı Reactive Black B konsantrasyonlarının(mgl ⁻¹) inkübasyon süresi boyunca <i>Phormidium</i> sp.'nin boya biyobirikim kapasitesine etkisi (S:45°C; ışık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5).....	29
Şekil 6.4 Farklı Remazol Blue konsantrasyonlarının(mgl ⁻¹) inkübasyon süresi boyunca <i>Phormidium</i> sp.'nin boya biyobirikim kapasitesine etkisi (S:45°C; ışık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5).....	29
Şekil 6.5 İmmobilize <i>Phormidium</i> sp.'nin Reactive Black B boya biyobirikim kapasitesine farklı sıcaklıkların etkisi (Işık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5).....	32
Şekil 6.6 İmmobilize <i>Phormidium</i> sp.'nin Remazol Blue boya biyobirikim kapasitesine farklı sıcaklıkların etkisi (Işık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5).....	32

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 5.1 Yaş mikroorganizma konsantrasyonunun belirlenmesi.....	22
Çizelge 6.1 Boya biyobirikimine pH'nın etkisi(S: 45°C ; ışık şiddeti 2400 lüks, inkübasyon süresi: 8 gün)......	26
Çizelge 6.2 <i>Phormidium</i> sp.'nin farklı sıcaklık ve başlangıç boya Konsantrasyonunda (C_o) elde edilen maksimum spesifik boya konsantrasyonunun (q_m , mg g ⁻¹) karşılaştırılması (Işık şiddeti: 2400 lüks, pH: 8.5).....	31
Çizelge 7.1 İmmobilize <i>Phormidium</i> sp. ve serbest <i>Phormidium</i> sp.'nin farklı sıcaklık ve başlangıç boya konsantrasyonunda (C_o) elde edilen spesifik boya biyobirikim oranlarının karşılaştırılması (Işık şiddeti: 2400 lüks, pH: 8.5).....	34

1.GİRİŞ

Günümüzde çevre kirliliği, geleceğimizi tehdit eden en büyük tehlikelerden biridir. Su kirliliği ise çevre kirliliğinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Sanayileşmenin giderek artmasıyla birlikte, doğada kendi kendini temizleme olarak bilinen süreç artık atıksuyun yeniden kazanımını sağlamada yetersiz kalmakta ve dolayısı ile atıksuların arıtımında yeni teknolojilerin oluşturulması ve geliştirilmesiyle ilgili çalışmalar giderek önem kazanmaktadır.

Tekstil endüstrisi atıksuları, çok çeşitli organik madde, ağır metal, çözünmüş tuzlar, renk, bulanıklık içeren ve değişik pH' larda dış ortama verilen ve birinci derecede arıtım gerektiren atıksulardır. Bu atıksuların, içerdiği boyarmaddelerin alıcı ortamlardaki ışık geçirgenliğini azaltmaları nedeniyle, bitkilerin fotosentez hızlarının ve dolayısıyla doğal yoldan oksijen üretiminin düşmesine neden olmaktadır. Ayrıca boyarmaddeler belirli derişimlerin üzerinde, içerdikleri metal iyonları ve klorür nedeniyle suda yaşayan canlılara toksik etki yapmaktadırlar. Renk kirliliğinin ise alıcı ortamlarda estetik görüntüyü bozulduğu da bilinmektedir. Bu nedenle tekstil endüstrisi atıksularının çevreye kontrolsüz bir şekilde verilmesi hem insan sağlığı hem de ekosistem açısından tehlikelidir (Tatlı 2003).

Reaktif boyarmaddeler, tekstil boyarmaddelerinin önemli sınıflarından biridir. Günümüzde reaktif boyarmaddelerin arıtımında adsorpsiyon, oksidasyon, ozonlama gibi yöntemlerin pahalı, yatırım ve işletme maliyeti yüksek, yeni kirlilikler üreten yöntemler olması nedeniyle alternatif olarak ucuz, kullanımı kolay ve çevreyi kirliletmeyen yeni yöntemlerin geliştirilmesi önem kazanmaktadır. Çeşitli mikroorganizmaların (mantarlar, mayalar, bakteriler ve algler) boyarmaddeleri adsorplama (biyosorpsiyon) özelliği vardır (Tezer 2002).

Bu tez çalışmasında amaç, sıcak su kaynaklarından izole edilen termofil bir siyonabakteri türü olan *Phormidium* sp.'nin tekstil endüstrisi atıksularında bulunan çeşitli boyaların giderimin de kullanım kapasitesinin belirlenmesidir.

2.KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Tekstil Boyarmaddeleri

Boyarmadde; bir materyale kendiliğinden veya uygun reaksiyon maddeleri sayesinde renk veren organik maddelerdir. Renk madde üzerine düşen ışınların absorpsiyon, yansıma değerleri ile ilgili olarak ortaya çıkar (Tezer 2002).

Kromofor, organik bir molekül içinde renkli görünümü sağlayan atom, atom grubu veya elektronlardır. Kromofor gruplarının hepsi azot, nitro, nitroso ve karbonil grubu gibi çift bağ içerirler. Boyarmadde içersinde yer alan ve kromofor içeren aromatik halkalı bileşiklere kromojen denir. Genellikle bunların renkleri soluk olduğundan oksokrom denilen elektron verici hidroksil, amin, karboksil, sulfo gibi birinci dereceden yer değiştiricilerin ve antioksokrom denilen karbonil, nitroza gibi ikinci dereceden yer değiştiricilerin bağlanmasıyla hem renk koyulaşır hem de renkli bileşik liflere karşı afinite kazanarak boyarmadde niteliği kazanır (Yakartepe1977, Tezer 2002, Tatlı 2003).

2.1.1 Tekstil boyarmaddelerinin sınıflandırılması

Tekstil endüstrisinde kullanılan boyarmaddeler çözünürlüklerine, kimyasal yapılarına, uygulandıkları elyaf türüne ve boyama özelliklerine göre dört ana sınıfa ayrılmaktadır (Başer ve İnancıcı 1990, Tatlı 2003).

2.1.1.1 Çözünürlük özelliklerine göre boyarmaddeler

Suda çözünen boyarmaddeler

- suda çözünen anyonik boyarmaddeler
- suda çözünen katyonik boyarmaddeler
- zwitter iyon karakterli boyarmaddeler

Substratta çözünen boyarmaddeler

- organik çözücülerde çözünen boyarmaddeler
- geçici çözünürlüğü olan boyarmaddeler
- polikondensasyon boyarmaddeleri
- elyaf içinde oluşturulan boyarmaddeler
- pigmentler (Özgünces 2003)

2.1.1.2 Kimyasal yapılarına göre boyarmaddeler

- azo boyarmaddeleri
- nitro ve nitroza boyarmaddeleri
- polimetin boyarmaddeleri
- arilmetin boyarmaddeleri (Özgünces 2003)

2.1.1.3 Uygulandıkları elyaf türüne göre boyarmaddeler

Selülozik esaslı elyaf (pamuklu,keten v.b.) boyamada kullanılan boyalar

- direkt (substantif) boyarmaddeler
- azoik (naftol) boyarmaddeler
- küp boyarmaddeler
- reaktif boyarmaddeler
- kükürt boyarmaddeler

Protein esaslı elyaf (deri v.b) boyamada kullanılan boyarmaddeler

- asit boyarmaddeler
- metal-kompleks boyarmaddeler
- krom boyarmaddeler
- reaktif boyarmaddeler

Sentetik esaslı elyaf boyamada kullanılan boyarmaddeler

Poliamid elyaflarda,

- dispers boyarmaddeler
- asit boyarmaddeler
- metal-kompleks boyarmaddeler

Polyester elyaflarda,

- dispers boyarmaddeler

Poliakrilonitril elyaflarda,

- katyonik bazik boyarmaddeler (Tatlı 2003).

2.1.1.4 Boyama özelliklerine göre boyarmaddeler

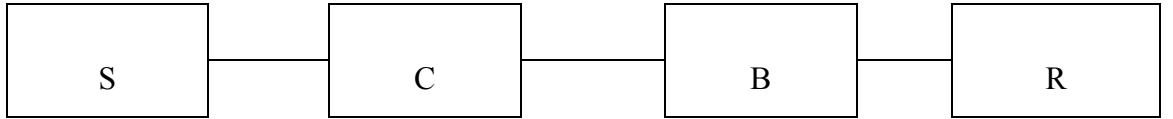
- Bazik Katyonik Boyarmaddeler
- Direkt Boyarmaddeler (Substantif Boyarmaddeler)
- Mordan Boyarmaddeler
- Küp Boyarmaddeler
- İnkişaf Boyarmaddeleri
- Metal- Kompleks Boyarmaddeler
- Dispersiyon Boyarmaddeleri
- Pigment Boyarmaddeleri
- Asit Boyarmaddeler (Tatlı 2003)

2.1.2 Reaktif boyarmaddeler ve genel özellikleri

Boyanacak elyaf yapısındaki fonksiyonel gruplar ile gerçek kovalent bağ oluşturabilen reaktif gruplar içeren boyarmaddelerdir. Gerçek kovalent bağ nedeniyle elyaf üzerine kuvvetle tutunurlar. Reaktif grup molekülün renkli kısmına bağlıdır. Bütün reaktif boyar maddelerde ortak olan özellik hepsinin kromofor grup taşıyan renkli grup yanında bir reaktif, birde moleküle çözünürlük sağlayan grup içermesidir (Clarke and Anliker 1980).

Reaktif boyarmaddeler Türkiye’de en fazla tüketilen boyarmaddelerdendir. Pamuklu dokuma ve pamuklu örme kumaşların %80’i reaktif boyarmaddelerle renklendirilir. Türkiye’de reaktif boyarmadde tüketimi yaklaşık 5700 ton dolayındadır (Tezer 2002).

2.1.2.1 Reaktif boyarmaddelerin kimyasal yapısı



Burada;

S: Suda çözünebilen grup (Sülfonik asit grupları)

C: Moleküle renk veren grup(Sarı, turuncu ve kırmızı boyarmaddeler monoazo yapısında, mor koyu kırmızı ve lacivert boyarmaddeler diazo yapısında, parlak ve açık mavi renkler ise antrakinon ve flalosiyenin türevleri)

B: Köprü bağları(Moleküldeki renkli grup ile reaktif grubu birbirine bağlayan –NH-, -CO-, -SO₂- gibi gruplar)

R: Reaktif grubu göstermektedir (Sumathi and Manju 2000, Tezer 2002).

2.1.2.2 Reaktif Boyarmaddelerin Sınıflandırılması

Reaktif boyarmaddeler, reaktif grupların reaktifliklerine göre yüksek ve düşük reaktifliğe sahip reaktif boyarmaddeler olmak üzere iki grupta toplanırlar. Yüksek reaktifliğe sahip boyarmaddeler; vinilsülfon, diklorotriazin, difloroprimidin,

dikloroprimidin, gibi reaktif grup içeren boyarmaddelerdir. Bu tip boyarmaddelere yüksek sıcaklıklarda 50-60 °C gibi düşük sıcaklıklarda boyama işlemi gerçekleştirilir. Düşük reaktifliğe sahip reaktif boyarmaddeler ise daha yüksek sıcaklıklarda (80-85 °C) boyama işlemi gerçekleştirilir. Yüksek reaktifliğe sahip reaktif boyarmaddelerle, düşük reaktifliğe sahip reaktif boyarmaddelere oranla daha hızlı boyama sağlanır ve aynı zamanda kimyasal madde ve enerji tüketimi daha azdır. Düşük reaktifliğe sahip reaktif boyarmaddelerle boyama işleminde ise hidroliz tehlikesinin daha az olması nedeniyle boyarmadde kaybı daha azdır (Juang *et al.* 1977, Lambert *et al.* 1988, Lee *et al.* 1999, Tezer 2002).

2.1.2.3 Reaktif boyarmaddelerin avantajları

Reaktif boyarmaddeler, iyi ışık ve yıkama haslığına sahip boyarmaddelerdir. Renkleri parlaktır ve geniş renk gramı ile her renk kolaylıkla elde edilebilir. Reaktif gruplarına bağlı olarak, basit ve çeşitli aplikasyon tekniklerine uygundur. Yüksek ölçüde tekrarlanabilirlik mümkündür (Tezer 2002).

2.1.2.4 Reaktif boyaların bezavantajları

Reaktif boyarmaddelerin, klor haslıkları ve bazik çözeltilere haslıkları iyi değildir. Merserize, soda kaynatma, ağartma gibi işlemlere dayanıklı olmadıklarından, terbiye görecekt, ipliği boyalı kumaşlarda kullanılmazlar. Yaş haslıkları iyi değildir. Reaktif boyarmaddelerle boyama yada baskı sonrası ard işlemler uzun ve zaman alıcıdır ve maliyeti artırmaktadır. Boyama sırasında istenmeyen yan reaksiyon sonucu, boyarmaddenin % 15-40'ı hidrolize olur (Mc Kay and Poots 1980).

2.1.2.5 Reaktif boyarmaddelerle boyama yöntemleri

Boyama kumaşın boyarmadde ve kimyasal madde içeren banyo ile muamele edilmesi ve boyanın kumaş elyafına sabitlenmesinin sağlanması işlemidir. Boyama işlemi, selülozun bazik ortamda reaksiyona girme isteğinin fazla olması ve boyarmaddenin selülozun –OH gruplarıyla kovalent bağ oluşturması sırasında oluşan ve elyafa zarar

veren HCl'ü n t rleştirerek ortamdan uzaklaştırması nedeniyle bazik ortamda, boyanın düzgün olmasını sağlamak amacıyla da tuz varlığında gerçekleştirilir. Reaktif boyarmaddelerle boyama sırasında, boyarmaddenin reaktif grubu, yalnız selüloz makromoleküllerinin hidroksil grubuyla değil, aynı zamanda suyun hidroksil gruplarıyla da tepkimeye girerek hidrolize uğrar. Hidrolize uğrayan boyarmadde liflerle reaksiyona girme aktivitesini kaybederek boyama veriminin düşmesine neden olur ve boyarmaddenin % 20-40'ı atıksuda kalır (Ullmann 1987).

2.2 Atıksular

Atıksu; evsel, endüstriyel, tarımsal ve diğer kullanımlar sonucunda kirlenmiş veya özellikleri kısmen veya tamamen değişmiş sular ile maden ocakları ve cevher hazırlama tesislerinden kaynaklanan sular ve yapılaşmış kaplamalı ve kaplamasız şehir bölgelerinden cadde, otopark ve benzeri alanlardan yağışların yüzey veya yüzey altı akışa dönüşmesi sonucunda oluşan sular olarak tanımlanabilir (19919 No'lu Resmi Gazete, 1988; Tezer 2002).

2.2.1 Genel  zellikleri ve sınıflandırılması

Atıksu  zellikleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak gruplandırılabilir(Weber 1972, Metcalf and Eddy 1991, Özbelge 1992, Haktanır and Arcak 1998, Tezer 2002).

I) Fiziksel  zellikler

- i) Sıcaklık: Sularda biyolojik aktiviteyi (organizma gelişim hızını) etkiler.Gazların sudaki              değiştirir. Suyun tabakalaşması, yoğunluğu, viskozitesi, yüzey gerilimi vb. sıcaklıkla değişir.
- ii) Koku ve tat: Suyun estetik değerini etkiler. Diğer kirletici parametrelerin ve aerobik/anaerobik ortamların varlığının göstergelerinden biridir.
- iii) Renk ve bulanıklık: Suya ışık sızmasını ve buna bağlı olarak organizma gelişimini etkiler. Su yaşamına zararlı etki gösterebilir. Diğer kirleticilerin varlığının göstergelerinden biridir.

- iv) Toplam katılar: çözünmüş ve çözünmemiş maddelerin göstergesidir.

II) Kimyasal özellikler

- i) Yağ ve gres: Havalanmayı, dolayısıyla sudaki oksijen miktarını etkiler. Estetik değeri ve tadı bozar. Kuşları ve balıkları etkiler.
- ii) Deterjan ve pestisitler: Köpük oluşturur, havalanmayı etkiler, oksijen gereksinimi yaratır. Toksik etkilidir.
- iii) pH: Su yaşamını etkiler, karbonat dengesini değiştirir.
- iv) İletkenlik: çözünmüş maddelerin göstergesidir.
- v) Tuzluluk: Yoğunluğu, tadı ve ozmotik basıncı, iletkenliği değiştirir. Balık türlerini ve yumurtlamayı etkiler. Oksijeni etkiler.
- vi) Azot, fosfor, ağır metal, radyoaktif maddeler: su yaşamını etkiler. Serbest amonyak ve nitrit toksik etki yaparken, nitrat insan sağlığını etkiler.

III) Biyolojik özellikler

Atıksuların içerdiği patojenik bakteri protozoa ve virüsleri içerebilir. İnsan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilirler. Suyun kullanılacağı yere ve amaca göre kalite kriterlerinin belirlenmesi gerekir. Kalite kriterleri kavramının standart kavramı ile karıştırılmaması gerekir. Kriterler herhangi bir amaç için kullanılacak suyun, o amaca uygun olup olmadığının, standartlar ise kullanıldıktan sonra çevreye bırakılacak suyun, o amaca uygun olup olmadığının, detaylı olarak tarifidir. Büyük nüfuslu yerleşim alanlarının ve endüstrinin yoğun olduğu bölgelerdeki fabrika sularının, arıtım tesislerinden geçirildikten sonra çevreye bırakılması gereklidir. Ayrıca atıksuyun karışacağı dere, nehir, göl veya denizdeki seyreltilme derecesi ve atıksuyun karıştığı su kaynağının ne amaçla kullanılacağı da standartlar getirilmesi gereken faktörlerdendir. Kalite kriterlerini saptamak için gerekli olan parametre sayısı ve bu parametrelerin alt ve üst limitleri suyun kullanılacağı amaca göre belirlenir. Atıksu standardında belirlenmesi gereken parametrelerden en önemlileri; biyolojik olarak bozulabilen çözülmüş organikler, sülfatlar, metaller, fenoller, klor ve bileşikleri ve patojenik bakterilerdir (Sundstrom and Klei1979, Ullmann 1987).

2.2.2 Atıksu arıtım yöntemleri

Atıksu arıtımı, suların çeşitli kullanımlar sonucu atıksu haline dönüşerek yitirdikleri kimyasal, fiziksel ve bakteriyolojik özelliklerinin bir kısmını veya tamamını tekrar kazandırabilmek ve/veya boşaldıkları alıcı ortamın doğal, fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik ve ekolojik özelliklerini değiştirmeyecek hale getirebilmek için uygulanan fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtma işlemlerinin biri veya birkaçı olarak tanımlanabilir. Genel olarak atıksu arıtımını fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtım olmak üzere üç gruba ayırmak mümkündür (Clark *et al.* 1971, Zajic 1971, Sundstrom 1979, Metcalf and Eddy 1971, Tezer 2002).

2.2.2.1 Fiziksel arıtım yöntemleri

Fiziksel arıtım prosesleri, atıksuyun içerdiği askıda koloidal partikülleri ve diğer iri katı maddeleri sudan ayırarak, ileriki proseslere arıtmak üzere hazırlayan yöntemlerdir. Bu yöntemler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

- i) Izgara ve kalbur yardımı ile büyük boyutlu asılı katı taneciklerin ayrılması
- ii) Kum tutucular yardımı ile büyük boyutlu asılı katı taneciklerin ayrılması
- iii) Yağ tutucular yardımı ile suda yüzen maddelerin ayrılması
- iv) Çöktürme havuzlarında kendi ağırlığı ile çökebilen ince maddelerin ayrılması ve yüzdürme yöntemi ile hafif maddelerin yüzeyden alınması
- v) Nötralleştirme (Tezer 2002)

2.2.2.2 Kimyasal arıtım yöntemleri

Kimyasal arıtma prosesleri atıksudaki bileşiklerin kimyasal yapısını değiştirerek onları arıtmaya yarar. Kimyasal arıtma proseslerinde daha az zararlı veya zararsız atıklar oluşur.

Kimyasal arıtım yöntemleri şu şekilde sıralanabilir.

- i) pH ve nötralizasyon
- ii) Pıhtılaştırma ve topraklaştırma
- iii) Yumaklaştırma

- iv) Kimyasal çöktürme
- v) Dezenfeksiyon

Atıksuların daha ileri düzeyde arıtılması amacı ile kullanılan fizikokimyasal yöntemler arasında

- i) Adsorpsiyon
- ii) İyon değiştirme
- iii) Ekstraksiyon
- iv) Ters osmoz
- v) Elektrodializ

sayılabilir (Aksu 1988, Tezer 2002)

2.2.2.3 Biyolojik arıtım yöntemleri

Bu işlemlerde yapay ve doğal biyolojik tesislerde, kendi ağırlığı ile çökemeyen asılı ya da kolloidal taneciklerle çözünmüş organik maddelerin giderilmesi organizmalar tarafından sağlanır. Bu maddeleri suda yaşayan canlılar besin ve enerji kaynağı olarak kullanırlar. Bu kullanım sırasında organik maddelerin bir kısmı hücre için gerekli yeni maddelerin biyosentezinde kullanılır. Atıksuların biyolojik arıtımında önem taşıyan başlıca mikroorganizmalar; bakteriler, mantarlar, algler, protozoalar; rotiferler, kabuklular ve virüslerdir.

Biyolojik arıtım yöntemleri doğal ve yapay biyolojik yöntemler olmak üzere iki grupta incelenebilir. Doğal biyolojik yöntemler atıksuların sulama tarlaları, sızdırma alanları, zemin filtreleri, kullanılmış su bekletme havuzları yardımıyla doğal olarak arıtımın sağlandığı yöntemlerdir. Yapay biyolojik yöntemler ise, doğal yöntemlere kıyasla daha erken arıtma sistemleri olup; yüksek ve hızlı arıtma kapasitesi, az yer kaplaması, pis koku ve zararlı böceklenmenin kontrol edilebilmesi nedeniyle özellikle kentlerde ve yoğun endüstri bölgelerinde yaygın uygulama alanı bulmaktadır. Yapay biyolojik arıtma yöntemleri arasında; oksidasyon havuzları, oksidasyon hendekleri, çeşitli aktif çamur işlemleri ve damlatmalı filtreler sayılabilir (Clark *et al.* 1971, Gönenç 1991, Tezer 2002).

2.3 Tekstil Endüstrisi Atıksuları

Tekstil endüstrisi atıksuları içerdikleri çok çeşitli kimyasallardan ve özellikle boyarmaddelerden dolayı arıtılması zor olan endüstriyel atıksulardır. Değişik organik madde, ağır metal, çözünmüş tuzlar, renk, bulanıklık içeren ve değişen pH'larda dış ortama verilen bu sular, birinci derece arıtma ihtiyacı duyulan atıksulardır. Arıtmada en önemli sorun atıksuların içerdiği boyarmaddelerin fiziksel ve kimyasal özelliklerinden kaynaklanmaktadır. Atıksularda renk giderimi yapılmadan alıcı ortamlara verilen bu atıksular önemli çevre problemlerine neden olmaktadır. Bunlardan en önemlisi estetik ve toksik etkilidir. Ülkemizde Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğinde, deşarj standartlarında renkle ilgili parametre olmamasından dolayı, bu atıksuların arıtımında daha çok KOI, BOI ve AKM giderimi amaçlanmaktadır. Buna karşın ABD ve Avrupa Birliği ülkelerinde renkle ilgili kesin deşarj sınırlamaları getirilmesinden dolayı son yıllarda tekstil atıksularının arıtılmasında bütün arıtma teknolojileri renk giderimi üzerine yoğunlaşmıştır (Tezer 2002, Tatlı 2003).

2.3.1 Reaktif boyarmadde içeren atıksular

Tekstil endüstrisi atıksularında yer alan reaktif boyarmaddeler gibi; renk kirliliğinin yanı sıra, ışık penetrasyonuna da neden olarak sudaki yaşamın fotosentetik aktivitesini etkilerler. Reaktif boyarmaddelerin pek çoğunun toksik etkisi yoktur. Sadece suyun renginin değişmesine, tadının ve kokusunun bozulmasına neden olurlar. Ancak özellikle siyah boyarmaddelerle yapılan boyama işlemi sonucu atıksuya zehirli arilamin gruplarının karıştığı tespit edilmiştir. Ayrıca turkuaz, parlak yeşil, mavi boyarmaddelerin bazıları bakır içermeleri nedeniyle suda yaşayan canlılar için toksiktirler. Reaktif boyarmaddelerle boyama işlemi yapılırken, boyarmaddenin elyafa iyi tutunmasını sağlamak amacıyla boyama banyosuna yüksek miktarda eklenen tuz da kirliliğe neden olmaktadır (Gurnham 1965, Larshmi *et al.* 1994, Hu 1996, Konduru *et al.* 1997, Yakartepe 1997, Tezer 2002)

2.3.2 Tekstil boyarmaddesi içeren atıksuların arıtım yöntemler

Tekstil endüstrisi atıksularından boyarmaddelerin uzaklaştırılmasında çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden en önemlileri aşağıda kısaca açıklanmaya çalışılmıştır.

2.3.2.1 Fiziksel yöntemler

- Adsorbsiyon
- Membran Sistemleri
- Koagulasyon-Flokülasyon

2.3.2.2 Kimyasal yöntemler

- Ozonlama
- Kimyasal Oksidasyon
- Kimyasal İndirgeme
- Elektrokimyasal Yöntem

2.3.2.3 Biyolojik yöntemler

Biyodegradasyon

Laktaz, mangan peroksidaz, lignin peroksidaz gibi enzimleri içeren bazı beyaz çürükçül fungusların (*Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor* gibi) havalı ortamda tekstil boyarmaddelerini yüksek verimde biyolojik bozunmaya uğrattıkları bilinmektedir. Aerobik parçalanmaya oldukça dirençli olan boyarmaddelerin ise anaerobik koşullarda bazı bakteriler tarafından biyolojik parçalanmasıyla ilgili çalışmalara literatürde rastlanılmaktadır. Ancak parçalanma ürünü olan aminlerin toksik etkilerinden dolayı arıtımın tam olarak sağlanamaması söz konusudur (Robinson *et al.* 2001)

Biyobirikim

Tekstil endüstrisi atıksularında yer alan ve klasik yöntemlerle atılamayan boyarmaddelere karşı direnci fazla olan mikroorganizmaların (genellikle mayalar), bu kirleticileri hücre yapısına alarak biriktirme (biyoaccumulation) yeteneğinden yararlanması temeline dayanan bir yöntemdir. Genellikle arıtım yapay besin ortamlarında gerçekleşir. Böylelikle bu tür atıksularda üreyebilen mikroorganizmaların üreme verimi arttırılır, dolayısıyla bünyelerinde biriktirdikleri kirletici derişimi artar (Dönmez 2002, Aksu 2003).

Biyosorpsiyon

Tekstil boyarmaddelerinin gideriminde kullanılan yeni bir yöntem de biyosorpsiyondur. Fermantasyon proseslerinden çıkan artık biyokütle, biyolojik arıtım proseslerinde fazlası atılan aktif çamur gibi biyolojik malzemeler; hızlı, verimli, ekonomik ve güvenli olarak, hemen hemen her çeşit boyarmadde içeren atıksuların arıtımında başarıyla kullanılmaktadır (Robinson *et al.* 2001).

3. TUTUKLAMA

Katalizör özelliğe taşıyan aktif enzimlerin ve mikroorganizmaların, özelliklerini geliştirme ve endüstride kullanabilme olanaklarını artırmak amacıyla inorganik yada organik taşıyıcılarda çeşitli yöntemlerle hapsedilmesi ve bağlanması işlemine tutuklama(immobilizasyon) denir (Çetin 1983).

3.1 Tutuklama Yöntemleri

Tutuklama yöntemleri 5 grupta incelenir (Norbakshs 1991).

- 1) Yüzeye Tutunma
- 2) Kovalent Bağlama
- 3) Çapraz Bağlama
- 4) Mikrokapsülleme
- 5) İnert bir Desteğe Tutuklama

1)Yüzeye tutunma

Destek maddesi olarak sentetik veya biyolojik kökenli organik maddeler kullanılır. Bağlanma zayıf ve birim hacimdeki katalitik kapasite ile sınırlıdır. Fakat biyokatalizleyici hazırlamadaki kolaylık ve zehirleyici kimyasal maddelerin olmaması yöntemin avantajlı yönleridir. Yüzeye tutunmayı etkileyen başlıca faktörler; tutucu özellikleri, mikroorganizmanın özellikleri, çevre özellikleridir.

2)Kovalent bağlama

Hücreler ile destek maddeleri arasında tersinmez kovalent bağ oluşur. Daha çok enzimlerin tutuklanmasında kullanılan bir yöntemdir. Kovalent bağlar, adsorbsiyon kuvvetlerinden daha güçlü ve daha karardır. Hücre yüzeyindeki karboksil gruplarını aktifleştirmek için ortama karboimit gibi bazı kimyasal maddeler eklenir. Bu reaktif grup içeren maddeler zehirli maddedir ve enzim aktivitesinin azalmasına neden olur.

3)Çapraz bağlama

Bağlanma tepkimesi tersinmezdir. Fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki tür çapraz bağlama vardır. Kimyasal çapraz bağlamada hücreler birbirine aldehit ve amin gibi çok fonksiyonlu maddeler ile bağlanırlar. Bu maddelerin zehirli olmaları yöntemin kararlılığını sınırlar. Fiziksel çapraz bağlama ise çöktürme ve küçük boyutlarda tabakalaşma ile yapılır.

4) Mikroapsülleme

Bu yöntemde hücreler yarı geçirgen bir zardan oluşan mikroapsüller içine tutuklanır. Sistemin temeli zarın seçiciliğine dayanır. Zarın gözenek çapından büyük olan hücre molekülleri zar dışına yayılamazlar. Bu yöntem ancak küçük molekül ağırlıklı ürün eldesinde kullanılabilir. Mikroapsüller genellikle küreseldir.

5)İnert bir desteğe tutuklama (immobilizasyon)

En çok kullanılan tutuklama yöntemlerinden biridir. Hücreler bir jel içine çeşitli yöntemlerle hapsedilirler poliakrilamid, metal hidroksitler, agar, kollajen, aljinat, karregen gibi maddeler ile jel oluşturulur. Jel oluşumu iyonik yük değişimi, çöktürme, kovalent veya çapraz bağlama ile sağlanır.

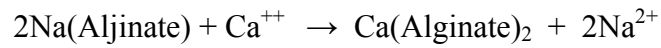
3.2 Tutuklamanın (immobilizasyon) Mikroorganizmalara Etkisi

Eşit miktarda tutuklanmış ve serbest mikroorganizmanın aktiviteleri karşılaştırıldığında, hücre aktivitesinin serbest hücreden daha büyük veya daha küçük olabileceği görülmüştür. Aktivite azalmasının nedeni, a) tutuklamada kullanılan bazı maddelerin zehir etkisi, b) heterojen sistemlerdeki difizyon kısıtlamalarıdır.

Aktivite artışının nedeni ise; tek enzim içeren sistemlerde geçirgenliğin artışı, çok enzim içeren sistemlerde ise protein sentezi veya hücre büyümesidir. Bazı araştırmacılar ise aktivitenin ısı muamelesi, özel iyonlar, yüzey aktif maddeler ve bazı organik çözücüler

ile artırılabilceğini tesbit etmiştir. Bu artış hücre duvarlarının kısmen veya tamamen kırılmasıyla açıklanabilir. Tutuklama sonrası yarı ömrün 10-20 kat artması mümkündür. Tutuklandıktan sonra hücrelerin canlılıklarını korudukları da saptanmıştır. Tutuklanmış *E.coli* hücresinin oksijen kullanımı ve agarlı besiyerinde üremesi, canlılığını kanıtlayan bulgulardır. Deaktive olmuş tutuklanmış hücrelerin zengin besi ortamında bekletilmekle tekrar aktifleştikleri gözlenmiştir. Tutuklanıp depo edilmiş hücrelerinde tutuklandıktan sonra bozulmadıkları elektron mikroskobu ile yapılan araştırmalar sonucu bulunmuştur.

Aljinik asit 1881 yılında, Stanford tarafından kahverengi alglerden ekstraksiyonla elde edilmiştir. Bu alglerdeki aljinik asit içerdiği % 20-40 arasında değişmekte olup, hücre zarının temel bileşenlerini oluşturur. Sodyum, kalsiyum ve magnezyum tuzları şeklinde bulunan aljinatlar aljinik asitin tuzlarıdır. Aljinat uzun zincir şeklinde bloklardan oluşan düzensiz bir şekilde sıralanmış β -D Mannurat (M) ve α -L Gluronat (G) den ibaret lineer bir polisakkarittir. Bu bloklar üç tür polimer segment içerir. Bunlardan birincisi D-Mannuronic asit birimi, ikincisi L-Gluronic asit birimi ve üçüncüsü D-Mannuronic asit ve L-Gluronic asit kalıntılarını içeren birimdir (Arıca 2002).



Aljinattın diğer materyallerden daha çok tercih edilmesinin nedenlerine ek olarak;

- biyoparçalanabilirlik
- hidrofilik özellik
- karboksilik grup içermesi
- doğal kökenli olmasını gösterebiliriz (Arıca 2004).

4. BİYOSORBENTLER

4.1 Termofil Siyanobakteriler

Mikroorganizmalar sıcaklık isteklerine göre başlıca dört gruba ayrılmaktadır:

1- Psikrofil mikroorganizmalar(0-20 °C)

2-Mezofil mikroorganizmalar(20-44 °C)

Toprak, su , patojen mikroorganizmaları kapsamaktadır.

3-Termofil mikroorganizmalar(45-75 °C): Kaplıcalar, ılıcalar, su noktaları, volkanik yüzey, termo topraklar gibi yerlerde bulunurlar.

4-Hipertermofil mikroorganizmalar(80 °C)

Bu sınıflandırma sisteminde üçüncü grupta yer alan termofil siyanobakteriler yüksek sıcaklıklarda iyi gelişebilen, optimum üreme sıcaklıkları 45-75 °C arasında değişen ve jeotermal kaplıca alanlarında gelişim gösterebilen mikroorganizmalardır. Ayrıca jeotermal olmayan tropik göller ve çöllerde bulunmaktadırlar. Farklı pH’da gelişebilen termofil siyanobakteri kolonilerinin aksenik veya aksenik olmayan kültürleri birkaç gün veya birkaç hafta karanlıkta bırakıldığında ya da 12-14°C altında canlılıklarını korurular. Termofil siyanobakterilerin içerdikleri protein ve nükleik asitler sıcaklıkta stabil bir özellik göstermekte, mezofillerde ise sıcaklıkta inaktif olmaktadır. Bu konuda yapılan çalışmalarda *Synechococcus lividens* türünün 65-73 °C arasındaki sıcaklıklarda gelişebilen tek siyanobakteri olduğu gösterilmiştir (Allen 1984, Van Den *et al.* 1995, Miller and Castenholz 2000, Castenholz *et al.* 2001, Madigan *et al.* 2003).

4.2 Siyanobakteri Hücre Yapısı ve Sınıflandırılması

Prokaryot organizmalar içinde yer alan ve gram negatif olan siyanobakteriler, fotosistem II içerdiklerinden dolayı ökaryotlara benzerlik göstermektedirler. Siyanobakterilerin kırmızı alglerde bulunan fikobilin proteinleri içerdikleri de bilinmektedir (Adams 1997). Siyanobakteri hücrelerinin sitoplazma ve dış membranları arasında peptidoglikan, dış kısımlarında ise musilaj veya kabuk adını alan polisakkarit bulunur (Shapiro and Dworkin 1997).

Siyanobakteriler 5 gruba ayrılır (Ripkka 1988b);

- 1) Tek hücreli ikiye bölünerek çoğalan siyanobakteriler
- 2) Tek hücreli çok tipli bölünerek çoğalan siyanobakteriler
- 3) Flamentli heterosist oluşturmeyan siyanobakteriler
- 4) Flamentli heterosist oluşturan siyanobakteriler
- 5) Flamentli dallanma yapan siyanobakteriler

Phormidium sp. heterosist oluşturmeyan flamentli siyanobakteriler arasında yer almaktadır. Genel görünüşü şekil 4.2’de verilmiştir.



Şekil 4.1 *Phormidium* sp.’nin genel görünüşü

4.2.1 Hücre içi granüler yapılar

Hücre içinde yüksek moleküler ağırlıkta bulunan polifosfat granülleri, nükleik asit ve fosfolipitlerin sentezi için fosfat kaynağı ve ATP sentezinde enerji kaynağı olarak kullanılırlar (Van Den *et al.* 1995). Küresel ve genelde tilakoid yüzeyinde plazma membrana yakın bölgelerde bulunan siyanofisin granülleri 50:50 oranında arjinin ve aspartik asitin co-polimerlerinden oluşur ve hücrede azot deposu olarak görev görür (Jensen 1993). 1,5 Ribuloz bisfosfat karboksilaz-oksijenaz (RuBisCO) enzimi içeren karboksizom granülleri inorganik karbon asimilasyonunda görev alıp, fotosentezin ilk

aşaması olan karanlık reaksiyonu katalizleyerek karbohidrat sentezini sağlamaktadır (Van Den *et al.* 1995). Hücrelerinde gerektiğinde enerji kaynağı olarak glikojen granülleri de bulunmaktadır (Jensen 1993).

4.2.2 Fikobilizom

Fotosentetik pigmentler ve elektron transfer edici komponentlerden oluşan fikobilizomlar tilakoid adı verilen bir membran içerisine yerleşmiştir. Siyanobakteri türlerinin çoğu fikosiyaninden dolayı mavi-yeşil renkte görünür. Bazı siyanobakteri türleri ise fikoeritrinden dolayı kırmızı renkte görünürler. Siyanobakteriyel hücrelerde en çok bulunan proteinlerden olan fikobiliproteinler, fikobilizomlarda bulunmaktadır (Van Den *et al.* 1995).

4.2.3 Heterosist

Işık mikroskopunda görülebilen heterosistler, vejetatif hücrelerden daha büyük, filamentli siyanobakterilerde görülen kalın hücre duvarlı yapılardır. Flamentin uç ya da orta kısmındaki hücreler arasında bulunmaktadırlar. Siyanobakterilerde bulunan heterosistlerin en önemli görevlerinden biri havadaki azotu fikse etmektir. Böylece azotca fakir ortamlarda diğer alglere nazaran daha iyi gelişirler (Allen 1984, Bottomley *et al.* 1979, Van Den *et al.* 1995).

4.2.4 Akinet ve hormogonyum

Akinet kalın duvarlı anormal sıcaklık ve soğuğa karşı dayanıklı hücrelerdir. Siyanobakterilerin eşeysiz üremelerinde yeni falmentleri oluşturan akinetler, vejetatif hücreden daha büyüktürler (Herdman 1988). Hormogonyum (yunancada hormos; zincir goneta; jenerasyon anlamındadır) uzun trikomdan yada ölü hücreden ayrılan kısa flamenlerdir (Hertman and Rippka 1988).

5. MATERİYAL YÖNTEM

5.1 Üretim

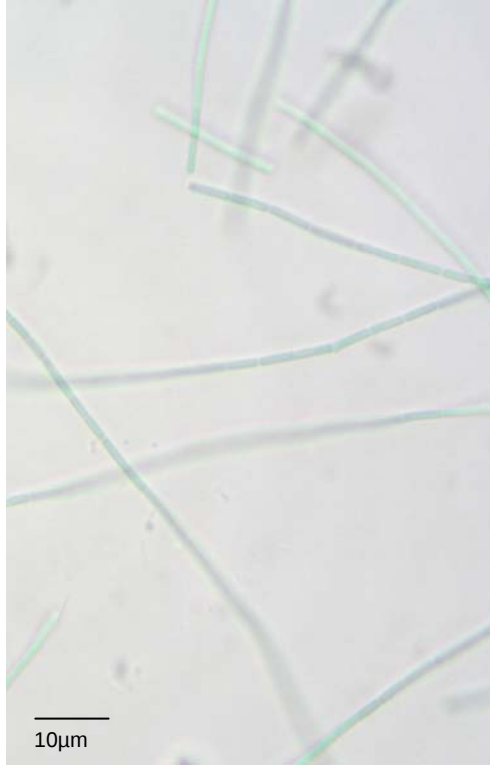
Daha önce laboratuvarımızda yapılan çalışmada Ankara'nın Kızılcahamam ilçesindeki bir kaplıcadan izole edilen *Phormidium* sp. tez çalışmasında kullanılmıştır. Denemelerde kullanılan *Phormidium* sp.'nin hücre yapısı şekil 5.1 de verilmiştir. *Phormidium* sp. aşağıda besiyeri bileşimi verilen BG 11 besiyerinde pH:8.5 de, 45 °C sıcaklıkta ve 2400 lüksde sürekli ışık altında iklim dolabında 14 gün inkübe edilerek geliştirilmiştir (Sadettin 2005).

BG 11 Besiyeri bileşimi (g/ml) (Rippka 1988a). :

Agar.....	15
NaNO ₃	1.5
MgSO ₄ .7H ₂ O.....	1.25
K ₂ HPO ₄	0.5
CaCl ₂ .2 H ₂ O	0.03
Na ₂ CO ₃	0.02
Sitrik asit.....	0.1
Ferrik amonyum sitrat.....	0.1
Na ₂ EDTA.....	0.016
İz element A5 solusyonu.....	1.0

İz element A5 Solusyonu (g/ml):

H ₃ BO ₄	0.286
MnCl ₂ .4H ₂ O.....	0.181
NaMoO ₄ .2H ₂ O.....	0.036
ZnSO ₄ .7H ₂ O.....	0.022
CuSO ₄ .5H ₂ O.....	0.008
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O.....	0.005



Şekil 5.1 *Phormidium* sp.'nin hücre yapısı (Sadettin, 2005)

5.2 *Phormidium* sp.'nin Kalsiyum Aljinat Jele Tutuklanması

Tutuklama işleminde öncelikle aljinik asitin tuzu olan sodyum aljinat çözeltisi hazırlanmıştır. Daha sonra BG11 besiyerinde üretilen *Phormidium* sp. 5000 devir/dak hızda 5 dakika santrifüj edilmiştir. Belirli miktarda *Phormidium* sp., hazırlanan sodyum aljinat çözeltisi ile karıştırılmıştır. Düzgün küreler elde edebilmek için karışım bir şırınga yardımı ile %20'lik kalsiyum klorür çözeltisi içine damlatılmıştır. Böylece kalsiyum iyonlarının, sodyum iyonları ile yer değiştirmesi ile kalsiyum aljinat jelin çökmesi sağlanmıştır ve *Phormidium* sp. hücreleri kalsiyum aljinat jeli içine hapsolmuştur. Kalsiyum aljinat kürelerinin jel oluşumlarını tamamlayabilmeleri için tutuklanmış *Phormidium* sp. içeren kalsiyum aljinat küreleri 2 saat süreyle kalsiyum klorür çözeltisi içerisinde buzdolabında bekletilmiştir.

5.3 Farklı Konsantrasyonlarda Mikroorganizma İçeren Granüllerin Hazırlanması

Denemelerde optimum biyobirikimin gerçekleştiği mikroorganizma miktarını belirlemek için dört farklı mikroorganizma konsantrasyonu kullanılmıştır (Çizelge 5.1). 1g, 2g, 4g, ve 5.9 g'lık mikroorganizmalar %2'lik sodyum aljinat ile karıştırılarak kalsiyum aljinat küreler oluşturulmuştur.

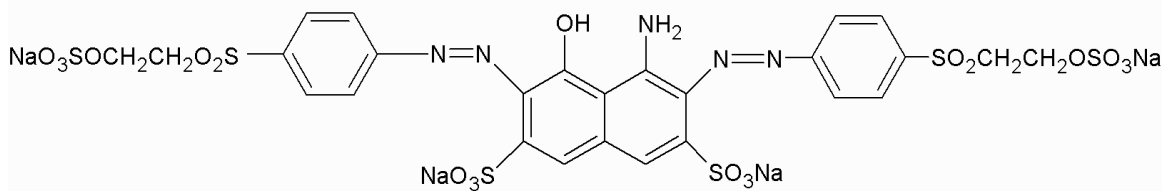
Çizelge 5.1 Yaş mikroorganizma konsantrasyonunun belirlenmesi

Yaş Mikroorganizma Miktarı(g)	Sodyum Aljinat Miktarı(g)
1	0.06
2	0.12
4	0.24
5.9	0.354

5.4 Biyobirikim Çalışmaları

5.4.1 Granüllerdeki optimum mikroorganizma konsantrasyonunun belirlenmesi

Optimum boya biyobirikiminin gerçekleştiği yaş mikroorganizma miktarını belirlemek için hazırlanan 1 g, 2 g, 4 g, ve 5.9 g yaş mikroorganizma içeren kalsiyum aljinat küreleri 45°C'de pH 8.5'e ayarlanmış ve 12.5 mg^l⁻¹ Reactive Black B içeren BG 11 besiyerinde araştırılmıştır. Reactive Black B boyasının moleküler yapısı şekil 5.2'de verilmiştir.



Şekil 5.2 Reactive Black B boyasının moleküler yapısı

5.4.2 Boya Biyobirikimi

İzolatan optimum boya biyobirikimi yaptığı pH, başlangıç pH'ları 6.5, 7.5, 8.5, 9.5 'e ayarlanmış yaklaşık 25 mg^l⁻¹ Remazol Blue ve Reactive Black B içeren BG 11 besiyerinde araştırılmıştır. Denemelerde kullanılan her boya için en yüksek biyobirikimin olduğu pH'larda hazırlanan BG 11 besiyerlerinde *Phormidium* sp.' nin Reactive Black B ve Remazol Blue boya tipleri 12 mg^l⁻¹, 25 mg^l⁻¹, 50 mg^l⁻¹, 75 mg^l⁻¹ oranlarında kullanılan farklı konsantrasyonlarda ve 40°C, 45°C, 50°C deki farklı sıcaklıklarında boya biyobirikim kapasitesi saptanmıştır. Denemeler 250 ml'lik erlenlerdeki 100 ml'lik BG 11 besiyerlerinde 2400 lüks ışık altında iklim dolabında gerçekleştirilmiştir.

5.5 Analiz Yöntemleri

5.5.1 Kuru Ağırlığın Belirlenmesi

Yaş ağırlığı bilinen örnekler, boş ağırlığı alınmış aliminyum folyolara alınarak etüvde (Nüve FN 400) 90°C de 12 saat kurutulmuştur ve tartılmıştır(Becker 1994, Saadettin 2005).

5.5.2 Boya Konsantrasyonunun Belirlemesi

Remazol Blue ve Reactive Black B boyaları Aytemizler Tekstil'den saf ve toz halde alınarak stok solusyonları, boyanın distile su içerisinde %2 (w/v) oranında çözülmesiyle elde edilmiştir. İnkübasyon süresi boyunca belirli konsantrasyonda boya içeren her bir erlenden günde 3ml örnek alınmıştır. Örnekler biyokütleyi çöktürmek için 5000 rpm'de 5 dakika süre ile santrifüjlenmiştir. Süpernetantın içerdiği boya konsantrasyonu Remazol Blue için 600nm ve Reactive Black B için 590 nm dalga boyundaki absorbanslar okunarak ölçülmüştür (Sadettin 2005).

5.5.3 Sonuçların değerlendirilmesinde kullanılan formüller

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

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

$$C_{byb} = C_o - C_g$$

$$\% \text{ Biyobirikim} = (C_o - C_g) / C_o \times 100$$

$$q_m = (C_o - C_g) / X_m$$

C_{byb} = Biriktirilen boya konsantrasyonu (mg l^{-1})

C_o = Başlangıç konsantrasyonu (mg l^{-1})

C_g = Son boya konsantrasyonu (mg l^{-1})

q_m = Hücre kuru ağırlığı başına en yüksek biyobiriktirilen boya miktarı (mg g^{-1})

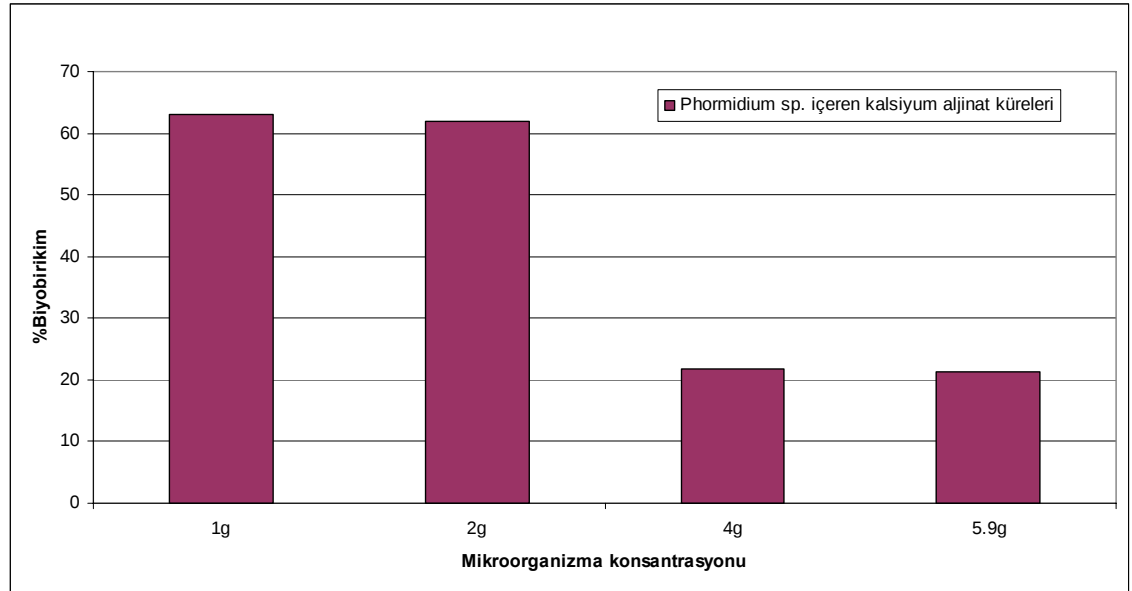
X_m = En yüksek kuru hücre miktarı (g l^{-1})

6. ARAŞTIRMA BULGULARI

6.1 Optimum Mikroorganizma Konsantrasyonu

Denemelerde, 1 g, 2 g, 4 g, 5.9 g olarak tartılıp kalsiyum aljinat jele tutuklanan *Phormidium* sp.'nin, en yüksek boya giderimi yaptığı yaş hücre konsantrasyonunu belirlemek amacı ile, immobilize hücreler 45°C' de, pH 8.5'e ayarlanmış, 12.5 mgL⁻¹ Reactive Black B boya konsantrasyonu içeren BG 11 besiyerinde 8 gün süreyle inkübe edilmiştir.

Denemeler sonucunda, en yüksek boya biyobirikimi 1 g ve 2 g'da gözlenmiştir. 4 g ve 5.9 g yaş mikroorganizma ile yapılan denemelerde ise aljinat nedeni ile kendiliğinden giderim fazla olmuştur. Örnekten kontrolün çıkartılması sonucunda, en yüksek boya giderimi 1g yaş mikroorganizma konsantrasyonu ile yapılan denemelerde elde edilmiştir. Denemeler, aljinatın kendiliğinden giderim oranının en az olduğu 1g ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.1).



Şekil 6.1 Optimum mikroorganizma miktarının belirlenmesi(S: 45°C ; ışık şiddeti 2400 lüks, inkübasyon süresi: 8 gün)

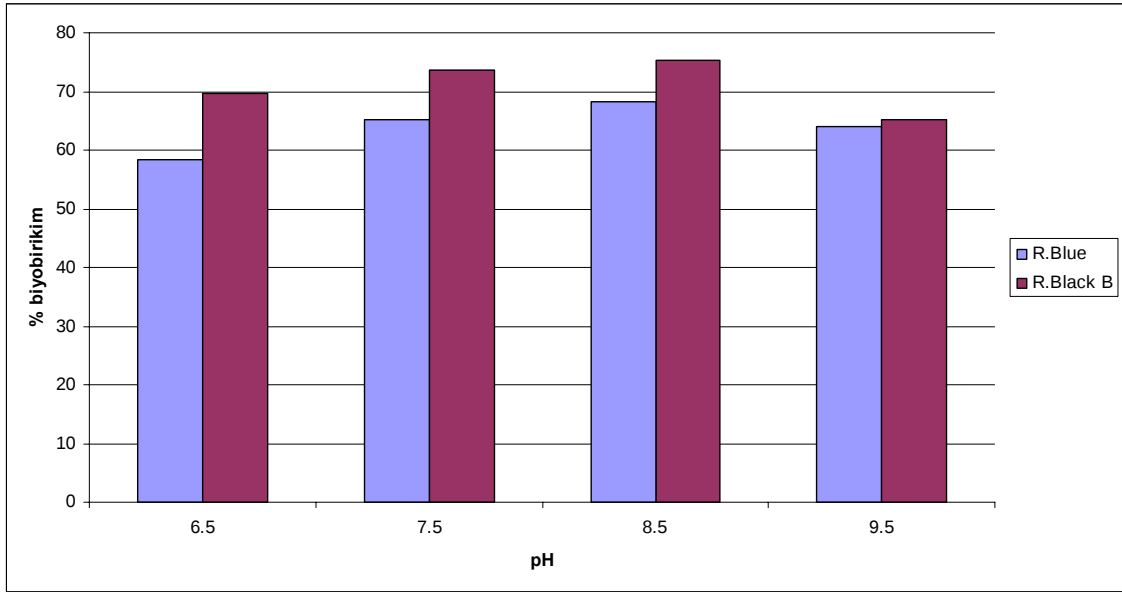
6.2 Boya Biyobirikiminde Başlangıç pH'nın Etkisi

Termofil bir siyanobakteri olan *Phormidium* sp.'nin en iyi boya giderimi yaptığı optimum pH'ı belirlemek amacıyla, 23.33 mg l^{-1} - 27.71 mg l^{-1} Reactive Black B başlangıç boya konsantrasyonu ve 30.93 mg l^{-1} -40.23 mg l^{-1} Remazol Blue başlangıç boya konsantrasyonu içeren besiyerleri pH 6.5, 7.5, 8.5, 9.5 olmak üzere 4 farklı pH'ya ayarlanmıştır (Çizelge 6.1). Boyalı besiyerlerinde yapılan bir ön deneme ile kültürel özelliklerde belirlenen optimum ışık şiddetinde daha yüksek ışıktaki kültürlerin iyi gelişme göstermesi nedeniyle, biyobirikim çalışmalarında 2400 lüks ışık şiddeti kullanılmıştır (Sadettin 2005).

Sekiz günlük inkübasyon süresi sonunda hem Remazol Blue'da hemde Reactive Black B'de pH 9.5 hariç pH arttıkça boya biyobirikiminde artış gözlenmiştir. Her iki boya ile yapılan denemelerde ise pH 9.5'de biyobirikim oranı düşmüştür. Gerek Reactive Black B'de gerekse Remazol Blue'da optimum boya biyobirikimi pH:8.5'de gerçekleşmiştir. Denenen tüm pH değerlerinde Reactive Black B Remazol Blue'dan daha iyi giderilmiştir. Remazol Blue ve Reactive Black B birbirine en yakın giderimi pH:9.5'de göstermiştir (Şekil 6.2).

Çizelge 6.1 Boya biyobirikimine pH'nın etkisi (S: 45°C ; ışık şiddeti 2400 lüks, inkübasyon süresi: 8 gün)

Boya	Ph	C_o (mg l^{-1})	C_{byb} (mg l^{-1})	% B_b (mg l^{-1})
Remazol Blue (mavi)	6,5	40,23	23,49	58,39
	7,5	35,34	23,02	65,14
	8,5	38,13	26,05	68,32
	9,5	30,93	19,76	63,91
Reactive Black B (siyah)	6,5	27,19	18,95	69,7
	7,5	23,33	17,20	73,72
	8,5	25,61	19,28	75,28
	9,5	27,71	18,07	65,21



Şekil 6.2 Boya biyobirikimine pH'nın etkisi (S: 45°C ; ışık şiddeti 2400 lüks, inkübasyon süresi: 8 gün)

6.3 Boya Biyobirikiminde Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisi

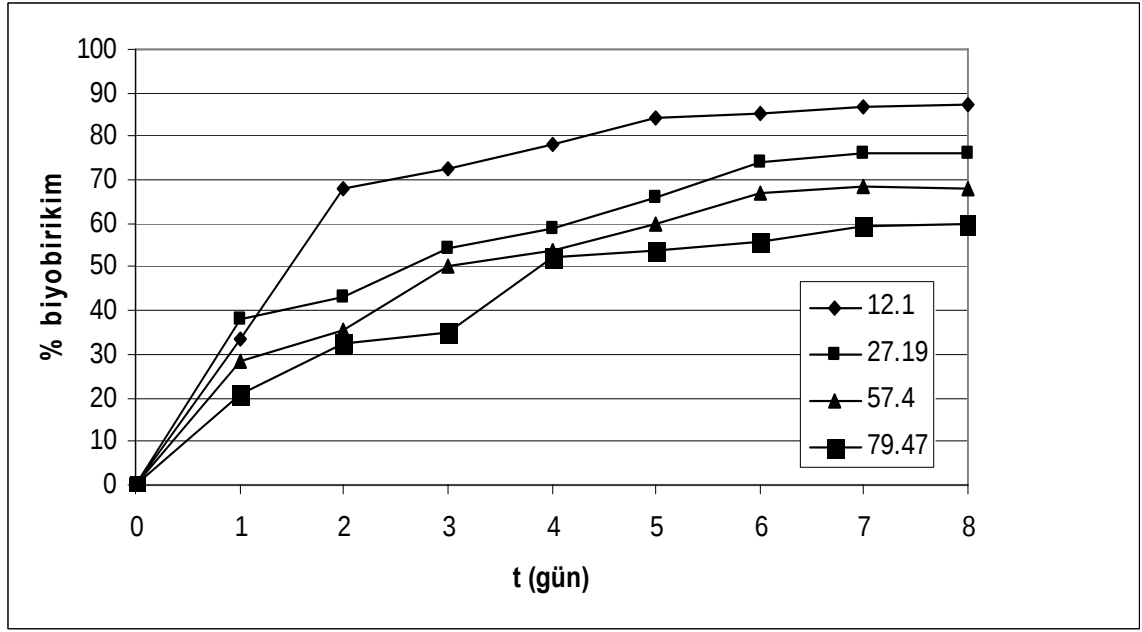
İmmobilize *Phormidium* sp.'nin boyabirikimin kapasitelerine boya konsantrasyonlarının etkisi; Remazol Blue için 9.06 mg^l⁻¹, 25.58 mg^l⁻¹, 56.74 mg^l⁻¹, 82.09 mg^l⁻¹, Reactive Black B için 12.1 mg^l⁻¹, 27.19 mg^l⁻¹, 57.4 mg^l⁻¹, 79.47 mg^l⁻¹ başlangıç konsantrasyonlarında araştırılmıştır.

Reactive Black B ile yapılan denemelerde başlangıç boya konsantrasyonu arttıkça boya biyobirikiminin azaldığı belirlenmiştir. 12.1 mg^l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda ilk 2 günde yaklaşık % 70 oranında giderim gerçekleşmiştir, daha sonraki günlerde giderim devam etmiş ve inkübasyon süresi sonunda yaklaşık % 88 oranında giderim gerçekleştirmiştir. En yüksek boya biyobirikimi 12.1 mg^l⁻¹ boya konsantrasyonunda gözlenmiştir. En yüksek başlangıç boya konsantrasyonu 79.47 mg^l⁻¹'de ise 4 günde boyanın yaklaşık % 35'i giderilmiştir ve sekizinci güne kadar ise giderim çok fazla değişmeden devam etmiştir. Denemelerde 8 günlük inkübasyon süresi sonunda, 12.1 mg^l⁻¹'de % 87.42, 27.19 mg^l⁻¹'de % 75.98, 57.4 mg^l⁻¹'de % 67.96, 79.47 mg^l⁻¹'de % 60.1 oranında boya giderimi gerçekleşmiştir (Şekil 6.3).

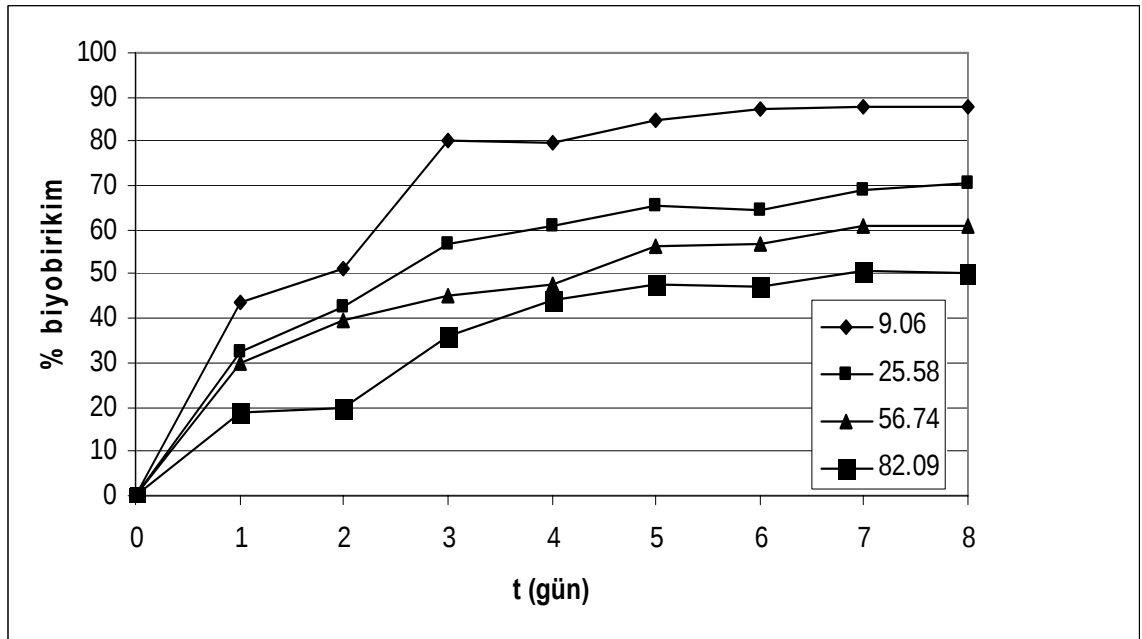
Remazol Blue ile yapılan denemelerde ise Reactive Black B ile benzer olarak 9.06 mg l^{-1} başlangıç boya konsantrasyonunda yaklaşık % 88 oranında giderim gözlenmiştir. 27.19 mg l^{-1} ve 57.4 mg l^{-1} başlangıç boya konsantrasyonunda ise, 3 güne kadar hızlı bir giderim gözlenmiştir, 3 günden sonra değişiklik olmadan giderim devam etmiştir. İnkübasyon süresi sonunda 9.06 mg l^{-1} 'de % 87.9, 25.58 mg l^{-1} 'de % 70.78, 56.74 mg l^{-1} 'de % 60.86, 82.09 mg l^{-1} 'de % 50.3 oranında boya giderimi gerçeklemiştir(Şekil 6.4).

Her iki boya biribiri ile karşılaştırıldığı zaman, gerek Reactive Black B'de gerekse Remazol Blue'da artan başlangıç boya konsantrasyonu ile boya biyobirikimi azalmıştır. Denenen tüm konsantrasyonlarda Reactive Black B, Remazol Blue'dan daha iyi giderilmiştir.

Hem Remazol Blue hem de Reactive Black B'de ilk 3 günde boya gideriminin hızlı, sonraki günlerde ise boya gideriminin ilk 3 güne oranla daha yavaş olduğu gözlenmiştir.



Şekil 6.3 Farklı Reactive Black B konsantrasyonlarının(mg l^{-1}) inkübasyon süresi boyunca *Phormidium* sp.'nin boya biyobirikim kapasitesine etkisi (S:45°C; ışık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5)



Şekil 6.4 Farklı Remazol Blue konsantrasyonlarının(mg l^{-1}) inkübasyon süresi boyunca *Phormidium* sp.'nin boya biyobirikim kapasitesine etkisi (S:45°C; ışık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5)

6.4 Boya Biyobirikiminde Sıcaklığın Etkisi

İmmobilize *Phormidium* sp.'nin 40°C, 45°C ve 50°C deki boya biyobirikim kapasiteleri farklı boya kapasiteleri farklı boya konsantrasyonlarında araştırılmıştır. Yapılan denemelerde 8 günlük inkübasyon süresi boyunca sıcaklığın, denenen tüm boyalarda oldukça önemli bir etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Reactive Black B ile yapılan denemelerde, denenen tüm sıcaklıklarda konsantrasyon arttıkça boya gideriminin arttığı gözlenmiştir. En yüksek giderim, en düşük boya konsantrasyonunda gözlenmiştir. Denemelerde 45°C ve 50°C'de birbirine yakın değerler elde edilmiştir. Yaklaşık 75 mg l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda en yüksek boya giderimi 45°C'de % 60,1 olarak gerçekleşmiştir.

Remazol Blue ile yapılan denemelerde ise Reactive Black B ile yapılan denemelere paralel sonuçlar elde edilmiştir. En düşük başlangıç boya konsantrasyonunda en yüksek giderim gerçekleşmiştir. Denemelerde Reactive Black B'de olduğu gibi 45°C ve 50°C'de birbirine yakın değerler elde edilmiştir. 40 °C'de Remazol Blue, immobilize *Phormidium* sp. ile oldukça düşük kapasite ile ortamdan giderilmiştir ve yaklaşık 75 mg l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda ancak % 42.6 oranında giderim gerçekleşmiştir.

Sıcaklık denemeleri sonucunda, her iki boya için immobilize *Phormidium* sp. ile 40°C ve 45°C'de oldukça yüksek biyobirikim değerleri elde edilmiştir. 40 °C'de giderim gerçekleşmiş, düşük boya konsantrasyonlarının giderim oranlarının düşük olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, *Phormidium* sp.'nin immobilize halinin denenen tüm sıcaklıklarda biyobirikim yapabildiği belirlenmiştir.

Denenen farklı sıcaklıklarda yapılan denemelerde maksimum spesifik boya konsantrasyonundaki değişimi çizelge 6.2'de verilmiştir. Reactive Blue konsantrasyonu arttıkça kültürlerin gram başına biriktirdikleri boya miktarı (q_m) artmıştır. En yüksek q_m değeri 45°C'de 75 mg l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda 41.29 mg g⁻¹ olarak elde edilmiştir. Yaklaşık 12 mg l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda q_m 7.77 mg g⁻¹ olarak

elde edilmiştir. % Biyobirikim ise konsantrasyon artışı ile birlikte denenen tüm sıcaklıklarda q_m ile ters orantılı olarak azalmıştır. En yüksek biyobirikim oranı en düşük konsantrasyonda gerçekleşmiştir.

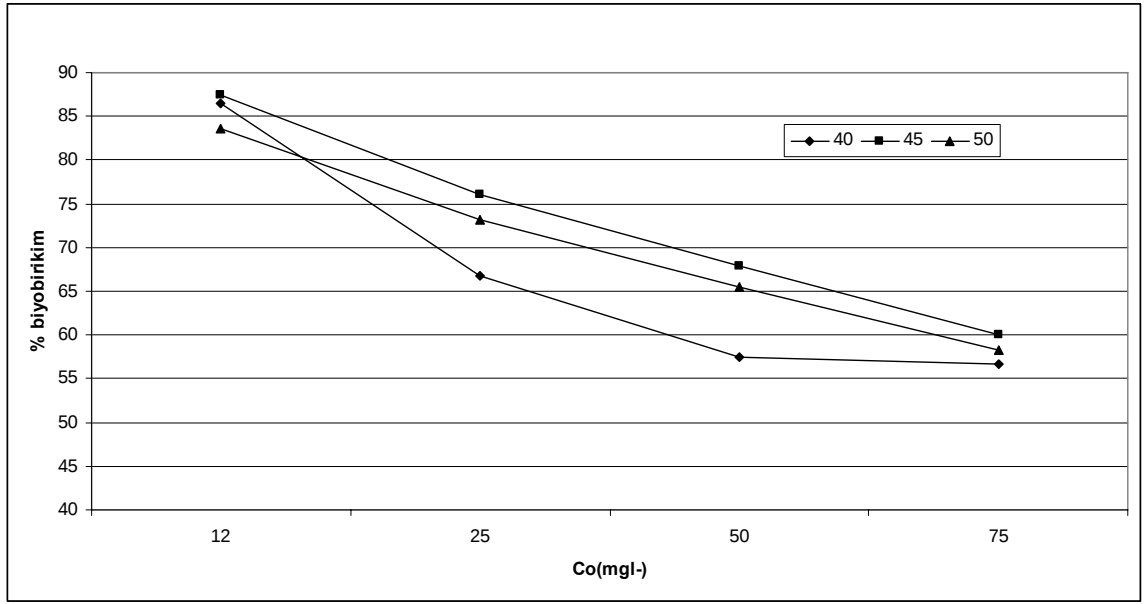
Reactive Black'de en yüksek q_m değeri % biyobirikimde olduğu gibi 45°C'de elde edilmiştir ve 47.60 mg g⁻¹ birikim yapmıştır. Remazol Blue'da olduğu gibi maksimum spesifik boya giderimi 40°C'de 12 mg l⁻¹'de elde edilmiştir.

Çizelge 6.2 *Phormidium* sp.'nin farklı sıcaklık ve başlangıç boya konsantrasyonunda (C_o) elde edilen maksimum spesifik boya konsantrasyonunun (q_m , mg g⁻¹) karşılaştırılması (Işık şiddeti: 2400 lüks, pH: 8.5)

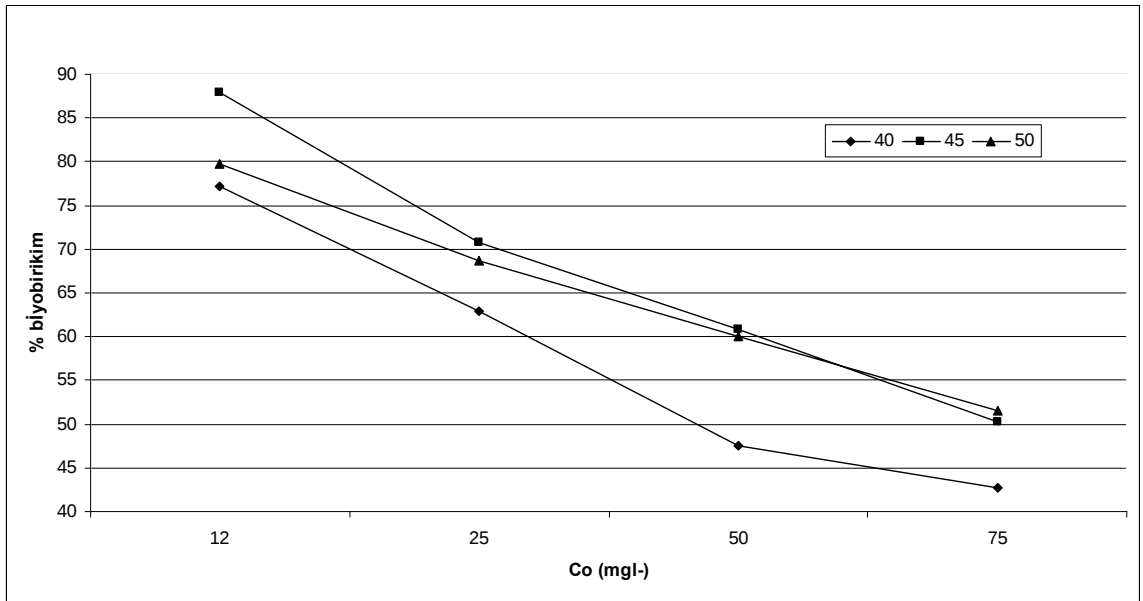
C_o mg l ⁻¹		Remazol Blue			Reactive Black B		
		40 °C	45 °C	50 °C	40 °C	45 °C	50 °C
12	q_m	7.73	7.96	8.52	9.56	10.58	10.38
	% B_b	77.14	87.9	79.67	86.52	87.42	83.54
25	q_m	16.91	18.11	18.81	17.68	20.66	18.08
	% B_b	62.98	70.78	68.76	66.75	75.98	73.1
50	q_m	23.86	34.53	32.40	31.01	39.10	34.12
	% B_b	47.51	60.86	60.01	57.39	67.96	65.47
75	q_m	32.64	41.29	41.17	40.87	47.69	43.82
	% B_b	42.66	50.3	51.5	56.63	60.01	58.21

En yüksek boya giderimi 75 mg l⁻¹ boya konsantrasyonu ve 45°C'de gerçekleşmiştir (Şekil 6.5).

Remazol Blue ile yapılan denemelerde ise denenen tüm konsantrasyonlarda sıcaklık arttıkça boya gideriminin arttığı gözlenmiştir. 45°C ve 50°C'de benzer miktarda boya giderimi gözlenmiştir. En düşük boya giderimi ise 40°C'de gözlenmiştir (Şekil 6.6).



Şekil 6.5 İmmobilize *Phormidium* sp.'nin Reactive Black B boya biyobirikim kapasitesine farklı sıcaklıkların etkisi (Işık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5)



Şekil 6.6 İmmobilize *Phormidium* sp.'nin Remazol Blue boya biyobirikim kapasitesine farklı sıcaklıkların etkisi (Işık şiddeti 2400 lüks; pH: 8.5)

7. SONUÇ ve TARTIŞMA

Tez çalışmasında filamentli bir siyanobakteri olan termofil *Phormidium* sp., kalsiyum aljinat jele tutuklanarak Reactive Black B ve Remazol Blue boyalarının biyobirikim çalışmaları yapılmıştır. İmmobilize *Phormidium* sp. ile Reactive Black B ve Remazol Blue boyalarının biyobirikim çalışmalarında *Phormidium* sp.'nin en yüksek biyobirikim yaptığı pH, başlangıç boya konsantrasyonları ve sıcaklık belirlenmiştir.

Daha önce laboratuvarımızda serbest *Phormidium* sp. hücreleri ile Reactive Black B ve Remazol Blue boyalarının biyobirikimi doktora tezi olarak çalışılmıştır. Serbest *Phormidium* sp. ve immobilize *Phormidium* sp.'nin Reactive Black B ve Remazol Blue spesifik boya biyobirikim oranları karşılaştırıldığında gerek Reactive Black B gerekse Remazol Blue ile yapılan denemelerde boya konsantrasyonu arttıkça spesifik biyobirikim oranının artan boya konsantrasyonuna bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Ancak bu spesifik biyobirikim miktarı immobilize *Phormidium* sp.'de serbest *Phormidium* sp.'den oldukça yüksek bulunmuştur (Çizelge 7.1).

Serbest *Phormidium* sp. ile yapılan denemelerde izolatin sıcaklık artışından olumsuz yönde etkilendiği ve sıcaklık artışıyla hem Reactive Black B hem de Remazol Blue'nun biyobirikiminin azaldığı ve en yüksek biyobirikimin 40°C 'de gerçekleştiği belirlenmiştir. İmmobilize *Phormidium* sp. ile yapılan denemelerde ise hem Remazol Blue'da hemde Reactive Black B'de sıcaklık artışı ile boya biyobirikim oranının azalmadığı aksine az da olsa spesifik boya biyobirikim oranında artış olduğu gözlenmiştir, her iki boyadada 45°C ve 50°C de benzer sonuçlar görülmekle birlikte en yüksek boya biyobirikim oranının Reactive Black B için, 45°C'de gerçekleştiği Remazol Blue için 12 mg^l⁻¹-25 mg^l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda 45°C'de 50 mg^l⁻¹ 75 mg^l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonunda 50°C'de gerçekleştiği belirlenmiştir (Çizelge 7.1).

Çizelge 7.1 İmmobilize *Phormidium* sp. ve serbest *Phormidium* sp.'nin farklı sıcaklık ve başlangıç boya konsantrasyonunda (C_o) elde edilen spesifik boya biyobirikim oranlarının karşılaştırılması (Işık şiddeti: 2400 lüks, pH: 8.5)

Remazol Blue							
C_o mg l^{-1}		İmmobilize <i>Phormidium</i> sp.			Serbest <i>Phormidium</i> sp.		
		40 °C	45 °C	50 °C	40 °C	45 °C	50 °C
12	q_m	7.73	7.96	8.52	2.53	2.37	1.16
	% B_b	77.14	87.9	79.67	80.4	88.3	37.3
25	q_m	16.91	18.11	18.81	4.08	4.24	1.93
	% B_b	62.98	70.78	68.76	65.8	52.7	15.9
50	q_m	23.86	34.53	32.40	7.19	7.44	5.86
	% B_b	47.51	60.86	60.01	50.2	39.2	8.2
75	q_m	32.64	41.29	41.17	16.76	14.70	10.89
	% B_b	42.66	50.3	51.5	40.7	32.6	5.3

Reactive Black B							
C_o mg l^{-1}		İmmobilize <i>Phormidium</i> sp.			Serbest <i>Phormidium</i> sp.		
		40 °C	45 °C	50 °C	40 °C	45 °C	50 °C
12	q_m	9.56	10.58	10.38	2.64	2.73	2.25
	% B_b	86.52	87.42	83.54	92.6	97.8	30.2
25	q_m	17.68	20.66	18.08	4.91	4.94	2.32
	% B_b	66.75	75.98	73.1	79.7	69.9	16.3
50	q_m	31.01	39.10	34.12	12.77	9	4.46
	% B_b	57.39	67.96	65.47	46.2	41.2	14.4
75	q_m	40.87	47.69	43.82	16.95	14.17	6.86
	% B_b	56.63	60.01	58.21	40.7	31.6	11.9

Serbest ve immobilize *Phormidium* sp. hücrelerinin % biyobirikim oranları karşılaştırıldığında; serbest *Phormidium* sp. ile yapılan denemelerde, denenen her iki

boyada da artan sıcaklıkla % biyobirikim oranı azalmıştır ve 50°C’de bu oran oldukça düşmüştür. İmmobilize *Phormidium* sp. ile yapılan denemelerde ise, hücrelerin artan sıcaklıktan etkilenmediği, en yüksek % biyobirikim oranının 45°C’de gerçekleştiği ve serbest hücrelerin tersine 50°C’deki % biyobirikim oranının 45°C’deki % biyobirikim oranına oldukça benzer olduğu belirlenmiştir. Yapılan denemelerde her iki boyadada en düşük % biyobirikim oranının 40°C’de gerçekleştiği belirlenmiştir. İmmobilize *Phormidium* sp. ile yapılan denemeler tutuklamanın sıcaklığın hücreler üzerindeki olumsuz etkisini ortadan kaldırdığını ortaya çıkartmıştır.

Serbest *Phormidium* sp. ile yapılan denemelerde Reactive Black B ve Remazol Blue’nun optimum boya biyobirikimi 14 günlük inkübasyon süreci sonunda gerçekleşirken, immobilize *Phormidium* sp. ile optimum boya biyobirikimi 8 günlük inkübasyon süreci sonunda gerçekleşmiştir.

Atıksulardan tekstil boyalarının gideriminde bugüne kadar immobilize ve serbest bakteri (Chang *et al.* 2001), fungi (Park *et al.* 2006), alg (Acuner and Tezer 2006) hücreleri ile çok sayıda çalışma yapılmamıştır. Boyarmadde bulunan melaslı besin ortamına alıştırılmış canlı *Candida tropicalis* mayasının Remazol Blue ve Remazol Black B boyalarına biyobirikiminde başlangıç sakkoraz ve boya derişiminin fonksiyonu olarak incelemişler, sakkoroz derişiminin 15 g/l’ye kadar artmasıyla mikroorganizma derişimi ve biyobirikim kapasitesi değerlerinin arttığını gözlenmiştir ve 1000 mg/l başlangıç Remazol Blue derişiminde 167.5 mg/g; 1000 mg/l başlangıç Remazol Black B derişiminde ise 163.3 mg/g özgül gideirm kapasitesi değerleri elde edilmiştir (Aksu and Dönmez 2005).

Boya biyobirikimi ile ilgili mayalarla yapılan çalışmalar oldukça azdır. Boyarmadde bulunan ortama alıştırılmış canlı *Saccharomyces cerevisiae* mayasının Remazol Blue, Remazol Black B ve Remazol Red RB boyalarına biyobirikimini başlangıç pH’ı ve başlangıç boya derişiminin fonksiyonu olarak incelemiş, her üç boya için optimum pH değerini 3 olarak belirleyerek 380.1 mg/l başlangıç Remazol Blue derişiminde 84.6 mg/g; 410 mg/l başlangıç Remazol Black B derişiminde 88.5 mg/g; 324.4 mg/l

başlangıç Remazol Red RB derişiminde ise 48.8 mg/g maksimum biyobirikim kapasitesi değerleri elde edilmiştir (Aksu 2003).

Yeşil bir alg olan *Spyrogyra rhizopus* ile atıksulardan Asit Red 274 boyasının giderimi ile ilgili yapılan çalışmada başlangıç boya konsantrasyonu arttıkça boya giderim miktarı artmıştır. Kurutularak öldürülen alg hücreleri ile yapılan bu çalışmada optimum boya giderimi Ph 3’de ve 30°C’de gerçekleşmiştir (Özer *et al.* 2006).

Fungal biyomasla Asit Black 52 boyasının dekolorizasyon çalışmalarında %4 ’lük sodyum aljinat jeli kullanılmıştır. İmmobilize ve serbest fungal biyomasla yapılan denemelerde dekolorizasyon hızı immobilize hücrelerde serbest hücrelere göre daha yüksek bulunmuştur (Park *et al.* 2005).

Bir makroalg olan *Caulerpa lentillifera* ile Astrazan Blue boyasının giderimi çalışılmıştır. Başlangıç boya konsantrasyonu arttıkça boya giderim yüzdesi azalmıştır ve maksimum adsorbsiyon 50°C’de gerçekleşmiştir (Marungrueng *et al.* 2006).

Tekstil atıksularından Tectilon Yellow 2G adlı azo boyasının biyosorpsiyonunda *Chlorella vulgaris* ile çalışılmıştır. 50 mg^l⁻¹, 200 mg^l⁻¹, 400 mg^l⁻¹ başlangıç boya konsantrasyonları için sırasıyla %69, %66, %63’ lük bir giderim sağlanmıştır (Acuner and Dilek 2004).

Remazol Black B, Remazol Red RR, Remazol Golden Yellow RNL boyaalarının biyosorpsiyonu için yeşil bir alg olan *Chlorella vulgaris* ile kesikli sistemlerde araştırılmıştır. Denemelerde, pH, sıcaklık ve başlangıç boya konsantrasyonlarının etkisi araştırılmıştır. Biyomas maksimum giderimi tüm boyalarda pH 2’de göstermiştir. Başlangıç boya konsantrasyonunun etkisi, Reactive Black B ve Remazol Red RR için, 20-800mg^l⁻¹ Remazol Golden Yelow RNL için 10-200mg^l⁻¹ başlangıç konsantrasyonlarında 35 °C, 45 °C, 55°C de araştırılmıştır. Artan sıcaklık konsantrasyonu ve sıcaklıkla biyosorpsiyonun azaldığı belirlenmiştir. En yüksek gideri en düşük sıcaklık ve konsantrasyonda gerçekleşmiştir (Aksu ve Tezer 2004).

Literatürde bugüne kadar immobilize termofil alglerle biyobirikim çalışmaları yapılmamıştır, sadece serbest alg hücreleri ile laboratuvarımızda yapılan biyobirikim çalışmaları bulunmaktadır (Sadettin 2005). İmmobilize ve serbest alglerle ağır metal giderimi ile ilgili çalışmalar bulunmaktadır (Arıca *et al.* 2003), fakat boya giderimi yapılmamıştır. Bu çalışma ile reaktif boyaların immobilize termofil alglerle atıksulardan arıtılabileceği gösterilmiştir.

KAYNAKLAR

- Acuner, E. and Dilek, F.B. 2004. Treatment of tectilon yellow 2G by *Chlorella vulgaris*, Process Biochem., 39, 623-631.
- Adams, D.G. 1997. Cyanobacteria as Multicellular organisms. Oxford University Press, 618-624.
- Aksu. Z. 1988. Atıksulardaki ağır metal iyonlarının yeşil alglerden *Chlorella vulgaris*'e biyosorpsiyonunun kesikli düzende karıştırmalı ve akışkan yatak tepkime kaplarında incelenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Aksu, Z. and Dönmez G. 2005. Combined effects of molasses and sucrose and reactive dyes on the growth and dye bioaccumulation properties *Candida tropicalis*, Process Biochem., 40, 2443-2454.
- Aksu Z. 2003. Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*, Process Biochem., 38, 1437-1444.
- Aksu, Z. and Tezer, S. 2004. Bisorption of reactive dyes on the green algae *Chlorella vulgaris*, Process Biochemistry, 40, 1347-1361.
- Allen, M. 1984. Cyanobacterial cell inclusions. Ann. Rev. Microbiol. 38, 1-25.
- Arıca, M.Y. Arpa, Ç. Ergene, A., Bayramoğlu and G. Genç, Ö. 2003. Ca-alginate as a supporter for Pb(II) and Zn(II) biosorption with immobilized *Phanerochaete chrysosporium*, Carbohydrate polymers, 52,167-174.
- Becker, N.S.C. and Eldridge, R.J. 1994. Selective recovery of mercury(II) from industrial wastewaters II. anion exchange of Hg(II) chlorocomplexes, Reactive Polymers, 2, 131-138.
- Bottomley, P.J. Grillo, J.F. Balen, C.V. and Tabita F.R. 1979. Synthesis of nitrogenase and heterocysts by Bacteriology, 140-3, 938-949.
- Başer, İ. ve İnancı, Y. 1990. Boyarmadde kimyası, Marmara Üniversitesi, Yayın No:482, 262s, İstanbul.

- Chang, J.S. Chou, C. and Chen. S.Y. 2001. Decolorization of azo dyes with immobilized *Pseudomonas luteola*. Process Biochemistry, 36, 757-763.
- Castenholz, R.W. Boom, D. and Gerrity, G. 2001. The archaea and the deeply branching and phototrophic bacteria. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, 2; 473-599.
- Clarke E.A. and Anliker R. 1980. Organic Dyes and Pigments, in: Handbook of Environmental Chemistry, Anthropogenic Compounds, Vol. 3, Part A, Springer-Verlag, New York, p. 181 -215.
- Clark, W. J. Viessman, W. and Hammer, M. J. 1971. Water Supply and Pollution Control, 2nd ed., International Textbook Company, 285-566.
- Dönmez, G. 2002. Bioaccumulation of reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium, Enzyme and Microbial Technology, 30, 363-366.
- Gönenç. F.E. 1991. Endüstriyel atıksuların ön arıtması, Su Kirlenmesi Araştırmaları Türk Milli Komitesi Teknoloji İletimi Semineri No:, İstanbul Sanayi Odası, 16-19.
- Gurnham, C.F. 1965. Industrial wastewater control, Academic Press, USA, 168-199, 221-285, 339-357.
- Haktanır, K. and Arcak, S. 1998. Çevre Kirliliği, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, No: 1503, 204-206, Ankara.
- Herdman, M. and Ripka, H. 1988. Hormogonia and Baeocytes. Method of Enzymology, 167, 222-232.
- Hu, T.L. 1996. Removal of reactive dyes from aqueous solution by different bacterial genera, Wat Sci Tech; 34:89-101.
- Jensen, T. 1993. Cyanobacteria ultrastructure. Ultrastructure of Microalgae. 7-51, London.
- Kondurucu, R. Ramakrishna, R. and Viraraghavan, T. 1997, Dye removal using low cost adsorbents. Water Science and Technology, 36, 189-196.

- Lambert, S.D. Graham, N.J.D. Sollars, C.J. and Fowler, G.D. 1977. Evolution of inorganic adsorbents for the removal of problematic textile dyes and pesticides. Wat. Sci. Technol., 36, 173-180.
- Larshmi, K.C. Narayan, R. and Krishnaiah, A.K. 1994. Color removal from a dyestuff industry effluent using activated carbon. Indian J. Chem. Technol, 1, 13-19.
- Lee, C.K. Low, K.S. and Gan, P.Y. 1999. Removal of some organic dyes by acid treated spent bleaching earth. Process. Biochem., 34, 451-465.
- Madigan, M. Matrinko, J. and Parker, J. 2003. Microbial Growth Biology of Microorganisms, 149-177, USA.
- Marungrueng, K. and Pavasant, P. 2006. Removal of basic dye (astrazon blue FGRL) using macrolagae *Caulerpa lenilliferia*, Journal of Environmental Managament, 78, 268-274.
- Metcalf, F.E. and Eddy, H.P. 1991. Wastewater Engineering, 3rd. Ed., Mc Graw Hill, N.Y., 48-126.
- McKay, G. and Poots, J. 1980. Kinetics and diffusion process in colour removal from effluent using wood as an adsorbent, J. Chem. Technol. Biotechnol., 30;279
- Miller, S. and Castenholz, W.R. 2000. Evolution of thermotolerance in hot spring Cyanobacteria of the genus *Synechococcus*. Aplied and Environmental Microbiology. 66, 2222-4229.
- Özer, A. Akaya, G. and Turabik, M. 2006. The removal of acid red 274 from waste water: Combined biosorption and biocoagulation with *Spirogyra rhizopus*, Dyes and Pigments, 71, 83-89.
- Özbelge, T. 1992. Atıksu özellikleri ve analizleri, Endüstriyel Atıksu Arıtımı, Bölüm 1, TMMOB Kimya Mühendisliği Odası Yayınları, 1-28, Ankara.
- Özgürses, M.T. 2003. Elektrokoagulasyon ile reaktif tekstil boya çözeltilerinin arıtımı. Yüksek Lisans Tezi. Gebze İleri teknoloji Enstitüsü, Gebze.
- Park, C. Lee, B. Han, E.J. Lee, J. and Kim, S. 2005. Decolorization of acid black 52 by fungal immobilization, Enzyme and Microbial Technology, 39, 371-374.

Resmi Gazete, Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, 4 Eylül 1988, Sayı:19919.

Rippka, R. 1988a. Recognition and Identification of Cyanobacteria., Methods of Enzymology, 167, 3-27

Rippka, R. 1988b. Isolation and identification of Cyanobacteria., Methods of Enzymology, 167, 28-67.

Robinson, T. McMullan, G. Marchant, R. and Nigam, P. 2001. Remedation of dyes in textile effluent: artical review on current treatment Technologies with a proposed alternative. Biosource Technology, 77, 247-255.

Sadettin, S. and Dönmez. 2006. Biocccumulation of reactive dyes by thermophilic cyanobacteria, Process Biochem., 41, 836-841.

Sadettin, S. 2005. Sıcak su kaynaklarından izole edilen termofil siyanobakterilerin atıksu arıtımında kullanımları. Yüksek Liasan Tezi, Nnkara Üniversitesi,Ankara.

Shapiro, A. and Dworkın, M. 1997. Bacteria as Multicelluler Microorganisms. Oxford University, 11-125, New York.

Sumathu, S. and Manju, M.S. 2000. Uptake of reactive textile dyes by *Aspergillus foetidus*, Enzyme Microbiol. Technol., 27-347.

Sundstrom, D. W. and Klei, H.E. 1979. Wastewater Treatment, Prentice Hail., Inc. U.S.A.

Tatlı, A.İ. 2003. Çeşitli tekstil boyarmaddelerinin adsorbdiyon/biyosorbsiyonunun karşılaştırılmalı olarak incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

Tezer, S. 2002. Tekstil endüstrisi atıksularında yer alan reaktif boyaların biyosorbsiyonunun incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

Van Den, C. Mann, D. and Jahns, H.M. 1995. Algae anintroduction to phycology. Canbridge University, 16-41.

Ulmann's Encylopedia Of Chemical Technology, 1987, Fifth Edition, VHC Verlaggesellschaft, Germany, A7, 11.

Weber, W.J.R. 1972. Physicochemical Processes for Water Quality Control, Willey Interscience, New York.

Yakartepe, M. 1998. Genel Tekstil Terbiyesi, Tekstil Konfeksiyon Araştırmaları Merkezi Yayınları, 12, p. 520-600, İstanbul.

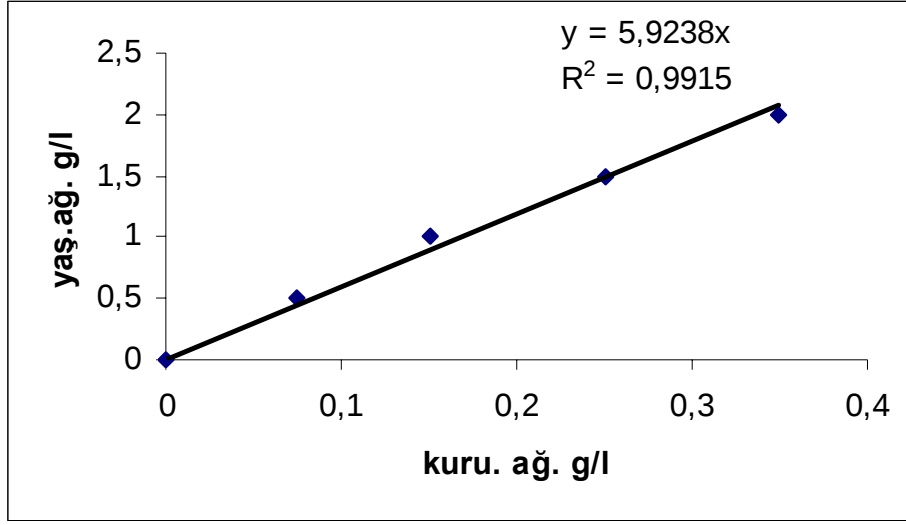
Zajic, J. E. 1971. Water Pollution, Marcel Dekker Inc., USA, 389p

EKLER

EK 1 Yaş ve kuru ağırlık standart eğrisi

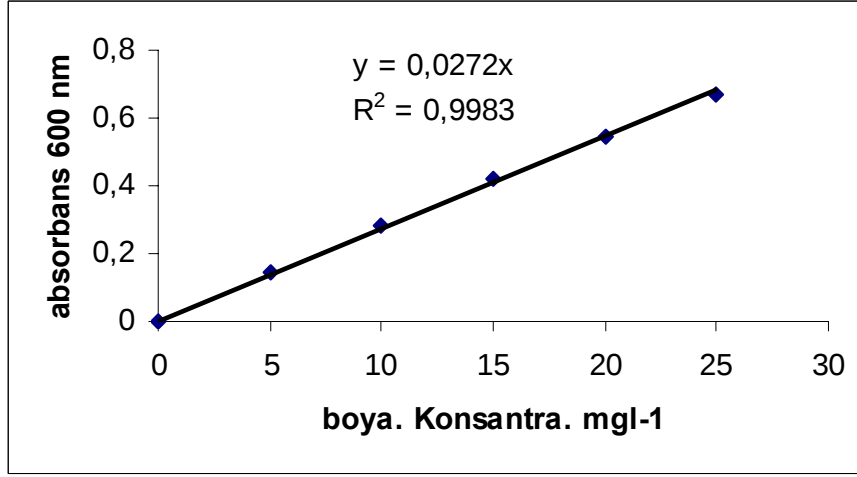
EK 2 Reactive Black B ve Remazol Blue boyalarının 5, 10, 15, 20 ve 25 mg^l⁻¹ konsantrasyonlarda standart eğrileri.

EK 1 Yaş ve kuru ağırlık standart eğrisi

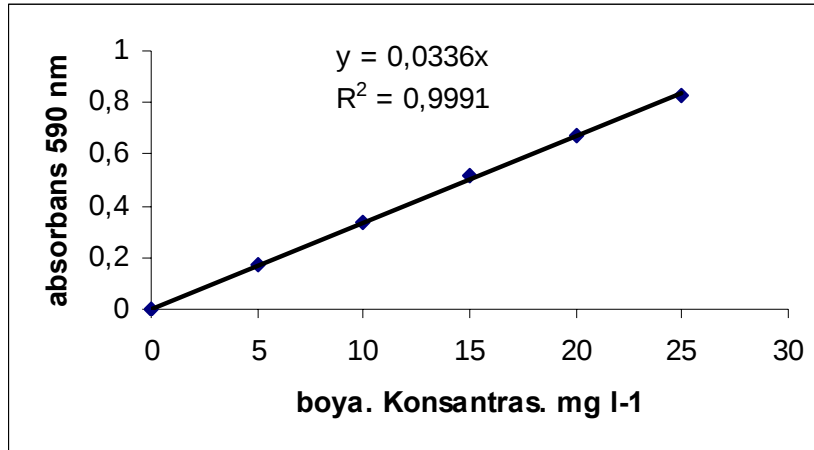


Filamentli termofil siyanobakteride yaş ağırlık ve kuru ağırlık standart eğrisi

EK 2 Reactive Red RB, Remazol Blue ve Reactive Black B boyaların 5, 10, 15, 20 ve 25 mg l⁻¹ konsantrasyonlarda standart eğrileri.



Remazol Blue boyasının 600nm dalga boyunda farklı konsantrasyona karşı abzorbanısında 5, 10, 15, 20 ve 25 mg l⁻¹ farklı konsantrasyonlarda absorbans okunmasıyla Remazol Blue için eğim bulunmuştur.



Reactive Black B boyasının 590 nm dalga boyunda 5, 10, 15, 20 ve 25 mg l⁻¹ farklı konsantrasyonlarda absorbans okunmasıyla Reactive Black B için eğim bulunmuştur.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Melike BAKIR

Doğum Yeri : Bolu

Doğum Tarihi : 03/12/1982

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu:

Lise : Bolu Atatürk Lisesi 1996-2000

Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi
Biyoloji Bölümü 2000-2004

Yüksek Lisans: Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı 2005-2006

Çalıştığı Kurum ve Kurumlar:

Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Merkez Laboratuvarı: 2006
Bitki Biyoteknolojisi Bölümü