

**TEKSTİL ATIKSULARINDAKİ METAL-KOMPLEKS
BOYARMADDELERİN VE KROM İYONLARININ *Saccharomyces
cerevisiae* VE *Candida tropicalis* MAYALARIYLA BİYOBİRİKİMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

MÜJGAN OKUR

**DOKTORA TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

OCAK 2011

ANKARA

Müjgan OKUR tarafından hazırlanan “TEKSTİL ATIKSULARINDAKİ METAL-KOMPLEKS BOYARMADDELERİN VE KROM İYONLARININ *Saccharomyces cerevisiae* VE *Candida tropicalis* MAYALARIYLA BİYOBİRİKİMİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı bu tezin Doktora Tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof.Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

Tez Danışmanı, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Prof.Dr. Zümriye AKSU

Tez Danışmanı, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof.Dr. Mübeccel ERGUN

.....

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

.....

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Prof.Dr. Serpil TAKAÇ

.....

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Prof.Dr. Gönül DÖNMEZ

.....

Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Prof.Dr. İrfan AR

.....

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Tarih : 14 / 01 / 2011

Bu tez ile G. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Doktora derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Bilal TOKLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

MÜJGAN OKUR

**TEKSTİL ATIKSULARINDAKİ METAL-KOMPLEKS
BOYARMADDELERİN VE KROM İYONLARININ *Saccharomyces
cerevisiae* VE *Candida tropicalis* MAYALARIYLA BİYOBİRİKİMİNİN
ARAŞTIRILMASI
(Doktora Tezi)**

Müjgan OKUR

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

Ocak 2011

ÖZET

Bu çalışmada, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis* mayalarının canlı formunun, şekerpancarı melasını karbon ve enerji kaynağı olarak içeren üreme ortamında, Violet 90 metal-kompleks boyarmaddesi ve krom iyonlarını, biyobirikimi araştırılmıştır. Çalışmanın ilk kısmında, *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları ile boyarmadde biyobirikim performansına, mayanın boyarmaddeye adaptasyonu, ortam başlangıç pH'ı, başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin etkileri incelenmiştir. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* ile 10 g/L başlangıç indirgen şeker ve 50 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, elde edilen en yüksek boyarmadde giderimleri pH 5'te sırasıyla % 74,4 and % 42,9 bulunmuştur.

Boyarmadde ve krom içermeyen besin ortamında, *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis*'in üremesini tanımlamak için Monod eşitliği kullanılmıştır. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları için μ_m (en yüksek özgül üreme hızı) ve K_s (Monod doygunluk sabiti) değerleri Monod eşitliğinin lineerleştirilmesiyle, sırasıyla, 0,473 saat⁻¹, 3,16 g/L ve 0,253 saat⁻¹, 0,765 g/L olarak hesaplanmıştır.

S. cerevisiae ve *C. tropicalis* mayalarının üremesine boyarmadde inhibisyonunu tanımlayabilmek için lineer karma tip inhibisyon modeli denenmiştir. K_I (inhibisyon sabiti) *S. cerevisiae* için 1132 mg/L ve *C. tropicalis* için 546 mg/L olarak bulunmuştur.

Çalışmanın daha sonraki kısmında *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları ile krom (VI) giderimine, başlangıç pH'ının etkisi incelenmiştir. pH 5'te krom gideriminin daha yüksek olduğu görülmüş ve bu pH'ta *S. cerevisiae* ile % 4,5, *C. tropicalis* ile % 30 krom giderimi elde edilmiştir. Krom (III) biyobirikimine başlangıç indirgen şeker ve krom (III) derişiminin etkisi *C. tropicalis* mayası ile incelenmiştir. Krom (III)'ün *C. tropicalis*'in özgül üreme hızına etkisi lineer karma tip inhibisyon modeline uygunluk göstermiş ve K_I (inhibisyon sabiti) 96,6 mg/L olarak hesaplanmıştır.

10 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, başlangıç boyarmadde ve krom (III) derişiminin *C. tropicalis* mayası ile boyarmadde ve krom (III)'un biyobirikimine birlikte etkisi Box-Wilson deneysel tasarım metoduna göre incelenmiştir. Design Expert 7.0 programında yapılan ANOVA analizine göre, her iki değişkenin, boyarmadde ve krom biyobirikimi üzerinde istatistiksel açıdan etkili olduğu görülmüştür.

Çalışmanın son bölümünde, *S. cerevisiae* ile boyarmadde giderimi, sürekli beslemeli reaktör sisteminde araştırılmıştır. Seyrelme hızının boyarmadde giderimine etkisi araştırılmış ve en uygun seyrelme hızı $0,104 \text{ saat}^{-1}$ ($0,87 \text{ mL/dak}$) olup bu hızda % 30 boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir.

Bilim Kodu :912.1.023

Anahtar Kelimeler :Tekstil boyarmaddeleri, Krom, Biyobirikim, Mayalar

Sayfa Adedi :233

Tez Yöneticisi :Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

**INVESTIGATION OF BIOACCUMULATION OF METAL COMPLEX DYES
AND CHROMIUM IONS IN TEXTILE WASTEWATERS BY *Saccharomyces
cerevisiae* AND *Candida tropicalis* YEASTS**

(Ph.D. Thesis)

Müjgan OKUR

**GAZİ UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

January 2011

ABSTRACT

In this study, the bioaccumulation of Violet 90 metal-complex dye and chromium by growing cells of *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis* yeasts were investigated in growth media containing sugarbeet bagasse as carbon and energy source. At the first part of the study, the effect of yeast adaptation on dye, initial pH, initial dye and reducing sugar concentration on bioaccumulation performance of dye *S. cerevisiae* and *C. tropicalis* yeasts were examined. The highest dye removal yields obtained with adapted *S. cerevisiae* and *C. tropicalis* cells at 10 g/L initial reducing sugar concentration and 50 mg/L initial dye concentration and at pH 5 were 74.4 % and 42.9 % respectively.

Monod equation was used to describe the growth of *S. cerevisiae* and *C. tropicalis* in the absence of dye and chromium ions. The values of μ_m (specific growth rate) and K_s (Monod saturation constant) for *S. cerevisiae* and *C. tropicalis* were determined as 0.473 saat⁻¹, 3.16 g/L and 0.253 saat⁻¹, 0.765 g/L respectively from Monod equation by linear regreassion method. Linear mixed type inhibition model was tested to characterize the dye inhibition on growth of *S. cerevisiae* and *C. tropicalis* yeasts. The values of K_i (Inhibition constant) were estimated as 1132 mg/L for *S. cerevisiae* and 546 mg/L for *C. tropicalis*.

At the next part of study, the effect of initial pH on bioaccumulation of chromium (VI) by *S. cerevisiae* and *C. tropicalis* yeast was investigated. Chromium uptake percentage was seen to be maximum at pH 5 and obtained as 4.5 % with *S. cerevisiae* and 30 % *C. tropicalis* at this pH. The effect of initial reducing sugar and initial chromium concentration on bioaccumulation of chromium by *C. tropicalis* was also investigated. The inhibition effect of chromium (III) on the specific growth rate of yeast was expressed by linear mixed type inhibition model and K_I (Inhibition constant) was determined as 96.6.

The combined effect initial dye and chromium(III) concentration on binary bioaccumulation of dye and chromium (III) was investigated using Box-Wilson experimental design method in 10 g/L reducing sugar concentration. ANOVA analysis done by Design Expert 7.0 package programme demonstrated that both have statistically significant effect on dye and chromium removal.

At the last part of this study, dye bioaccumulation by *S. cerevisiae* was investigated in the continuous reactor flow system. The effect of dilution rate of dye removal was investigated and optimum dilution rate for dye bioaccumulation was estimated as 0.104 saat^{-1} (0.87 mL/dak.) with 30 % dye uptake percentage.

Science Code :912.1.023

Key Words :Textile dye, chromium, bioaccumulation, yeasts

Page Number :233

Adviser :Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım süresince, değerli yardım ve katkılarını hiçbir zaman esirgemeyen, beni her zaman sabırla dinleyen, yol gösteren, yönlendiren, moral ve motivasyon veren, engin deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanlarım sayın Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU ve sayın Prof. Dr. Zümriye AKSU'ya, katkılarından dolayı çok teşekkür ederim. Tez izleme toplantılarım süresince bana ve tezime olan katkılarından dolayı sayın hocalarım Prof. Dr. Mübeccel ERGUN ve Prof. Dr. Serpil TAKAÇ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Deneysel çalışmalarım sırasında, bana destek ve yardımda bulunan Araştırma Görevlisi arkadaşım Dr. İlknur Kayacan'a, laboratuarda çalışan doktora öğrencisi arkadaşım Meriç Bütün'e ve laboratuvar teknisyenlerine teşekkürlerimi sunarım.

Doktora tez çalışmalarım, mikroorganizmaların mikroskop görüntülerini almamda bana yardımcı olan Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümünde Araş. Gör. Dr. Mehlika Benli'ye çok teşekkür ederim.

Tez çalışmalarım, maddi desteklerinden ötürü Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimine çok teşekkür ederim.

Benim bugünlere gelmemde emeği ve katkısı tartışmasız olan, sabırla ve ilgiyle doktora tez çalışmama destek olan, her zaman yanımda olan canım anneme, babama ve katkılarından dolayı kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim. Doktora tez çalışmamın başından itibaren her aşamada beni sabırla bekleyen, dinleyen, yaşına göre fazla olan anlayışıyla, bana her zaman destek olan biricik kızım Zehra Okur'a, her türlü yardımı benden esirgemeyen ve bana destek olan eşim Melih Okur'a çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xiv
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xvi
RESİMLERİN LİSTESİ	xxiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xxv
1. GİRİŞ	1
2. SU KAYNAKLARI VE SU KİRLİLİĞİ.....	6
2.1. Suyun Kalite Kriterleri	8
2.2. Atıksular	11
2.3. Atıksu Karakteristikleri	13
2.3.1. Evsel atıksular.....	15
2.3.2. Endüstriyel atıksular	15
2.4. Tekstil Boyarmaddeleri	18
2.4.1. Metal-kompleks boyarmaddeleri	19
2.4.2. 1:1'lik Metal-kompleks boyarmaddeler.....	19
2.4.3. 1:2'lik metal-kompleks boyarmaddeler	20
2.5. Tekstil Endüstrisi Atıksuları.....	22
2.6. Tekstil Boyarmadde Atıksularının Arıtım Yöntemleri	26

Sayfa

2.6.1. Fiziksel yöntemler.....	26
2.6.2. Kimyasal yöntemler	27
2.6.3. Biyolojik yöntemleri	30
2.7. Ağır Metaller	33
2.8. Krom.....	35
2.9. Ağır Metal Giderim Yöntemleri.....	37
2.9.1. Kimyasal yöntemler	37
2.9.2. Fiziksel yöntemler.....	39
2.9.3. Biyolojik yöntemler	40
2.10. Biyobirikim	40
2.11. Mikroorganizmalar	42
2.11.1. Bakteriler.....	43
2.11.2. Mantarlar	44
2.11.3. Yosunlar (Algler)	46
2.11.4. Protozoalar	47
2.12. Kesikli Fermantasyon Kinetiği.....	47
2.12.1 Kesikli sistemde substrat için madde denklığı.....	50
2.12.2 Kesikli sistemde ürün oluşumu için madde denklığı	51
2.12.3. Substrat derişimine göre üreme kinetiği	53
2.12.4. İnhibisyon kinetiği	54
2.12.5. Mikroorganizmanın kirletici (boyarmadde/krom) biyobirikim kapasitesi	59
2.13. Sürekli Sistemde Eşitlikler	60

	Sayfa
2.14. Mikrobial Besi Ortamı.....	64
2.15. Melas	66
2.16. Deneysel Tasarım	69
2.16.1. Faktöriyel tasarım	70
2.16.2. Ayrımsal tasarım.....	71
2.16.3. Box-Wilson tasarımı (Cevap yüzey yöntemi).....	71
3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	74
3.1. Boyarmadde İle İlgili Çalışmalar	74
3.2. Reaktör Sisteminde Boyarmadde Giderimi İle İlgili Çalışmalar	87
3.3. Krom Giderimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar	90
4. DENEYSEL ÇALIŞMA	94
4.1. Mikroorganizmalar ve Kültür Koşulları.....	94
4.2. Üreme Ortamı.....	95
4.3. Melasın Hidrolizi.....	96
4.4. Adaptasyon ve Biyobirikim Deneyleri.....	96
4.5. Analiz Yöntemleri	99
4.5.1. Mikroorganizma değişiminin belirlenmesi.....	99
4.5.2. İndirgen şeker analizi.....	99
4.5.3. Boyarmadde değişiminin belirlenmesi	99
4.5.4. Krom değişiminin belirlenmesi	100
4.5.5. Mikroorganizmaların mikroskopta incelenmesi	100
4.6. Reaktör Sisteminde Deneylerin Gerçekleştirilmesi	100
5. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA	102

Sayfa

5.1. <i>S. cerevisiae</i> ile Boyarmadde Biyobirikimi Çalışmaları	104
5.1.1. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimine adaptasyonun etkisi	104
5.1.2. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde giderimine pH etkisi.....	107
5.1.3. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde giderimine karıştırma hızı etkisi	111
5.1.4. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde giderimine başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin etkisi.....	112
5.1.5. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi.....	128
5.2. <i>Candida tropicalis</i> ile Boyarmadde Giderimi Çalışmaları.....	132
5.2.1. <i>Candida tropicalis</i> ile boyarmadde giderimine adaptasyonun etkisi	132
5.2.2. <i>Candida tropicalis</i> ile boyarmadde giderimine pH etkisi.....	136
5.2.3. <i>Candida tropicalis</i> mayası ile boyarmadde giderimine başlangıç indirgen şeker derişiminin ve başlangıç boyarmadde derişiminin etkisi	139
5.2.4. <i>C. tropicalis</i> ile boyarmadde biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi.....	155
5.3. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> Mayalarının Boyarmadde Giderimi Açısından Karşılaştırılması	159
5.4. Krom Giderimine pH Etkisi	164
5.4.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ile krom giderimine pH etkisi	164
5.4.2. <i>Candida tropicalis</i> ile krom giderimine pH etkisi	166
5.4.3. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayalarının krom biyobirikimlerinin karşılaştırılması	169
5.5. <i>Candida tropicalis</i> ile Krom Biyobirikimine İndirgen Şeker ve Krom Derişiminin Etkisi	173

Sayfa

5.5.1 Başlangıç krom ve indirgen şeker derişimlerinin <i>C. tropicalis</i> üremesi ve üreme hızına etkisi	174
5.5.2 Başlangıç krom (III) derişiminin ve indirgen şeker derişiminin biyobirikime birlikte etkisi	176
5.5.3 <i>C. tropicalis</i> mayası ile krom biyobirikiminin incelendiği deneylerde üreme kinetiği	178
5.5.4 <i>C. tropicalis</i> mayası ile krom biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi.....	184
5.6. <i>C. tropicalis</i> ile Boyarmadde ve Krom (III) Biyobirikiminin Karşılaştırılması	186
5.7. <i>C. tropicalis</i> ile C.I. Violet 90 Boyarmaddesinin ve Krom (III)'ün Birlikte Giderimi	188
5.7.1 <i>C. tropicalis</i> ile krom (III) ve boyarmadde biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi.....	194
5.8. Reaktör Sisteminde Gerçekleştirilen Biyobirikim Deneyleri.....	196
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	202
KAYNAKLAR	208
EKLER.....	217
EK-1. Mikroorganizma kuru ağırlık tayini	218
EK-2. Melasta indirgen şeker analizi	219
EK-3. Boyarmadde Derişiminin Belirlenmesi	221
EK-4. Krom Derişiminin Belirlenmesi	223
EK-5. ANOVA analiz sonuçları	227
ÖZGEÇMİŞ	231

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kıtaiçi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri.....	9
Çizelge 2.2. Endüstriyel atık standartlarını oluşturan parametreler.....	17
Çizelge 2.3. Boyama atıksularının karakteristikleri.....	23
Çizelge 2.4. Boyama prosesinde en sık kullanılan yardımcı kimyasallar.....	24
Çizelge 2.5. Boyama atıksularındaki metal içeriği	25
Çizelge 2.6. Sektör: Tekstil sanayii (Dokunmuş kumaş terbiyesi ve benzerlerinin alıcı ortama deşarj standartları).....	25
Çizelge 2.7. Atıksulara metal bırakan endüstriyel sektörler	34
Çizelge 2.8. Krom'un fiziksel özellikleri.....	35
Çizelge 2.9. Krom(VI) içeren atıksu kaynakları ve içerdikleri krom derişimleri	36
Çizelge 2.10. Melasın mikro element ve vitamin içeriği	68
Çizelge 2.11. Pancar melasının aminoasit içeriği	69
Çizelge 2.12. Deneysel tasarım için kodlanmış değerler	73
Çizelge 5.1. <i>S. cerevisiae</i> mayasının boyarmaddeye adaptasyonunun boyarmadde giderimine etkisi	105
Çizelge 5.2 Her bir başlangıç indirgen şeker derişiminde değişen farklı boyarmadde derişimlerinde <i>Saccharomycess cerevisiae</i> 'nın özgül üreme hızı, % boyarmadde giderimi ve q değerleri	113
Çizelge 5.3. Şekil 5.15'ten hesaplanan, boyarmadde derişimine karşı K_S^{-1} ve $1/\mu_{mi}$ değerleri	122
Çizelge 5.4. <i>C. tropicalis</i> mayasının boyarmaddeye adaptasyonunun boyarmadde giderimine etkisi	133
Çizelge 5.5. Her bir başlangıç indirgen şeker derişimide değişen farklı boyarmadde derişimlerinde <i>Candida tropicalis</i> 'in özgül üreme hızı,%boyarmadde giderimi ve q değerleri	140

Çizelge	Sayfa
Çizelge 5.6. Boyarmaddelerin mayalarla giderimi ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar	162
Çizelge 5.7. Metal-kompleks boyarmaddelerin giderimi ile ilgili yapılan çalışmalar	164
Çizelge 5.8. Krom iyonlarının mayalarla giderimi ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar	171
Çizelge 5.9. Her bir farklı başlangıç indirgen şeker derişiminde ve farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde <i>Candida tropicalis</i> 'in özgül üreme hızı,% boyarmadde giderimi ve q değerleri	173
Çizelge 5.10. Deneysel tasarım ve bağımsız değişkenlerin seviyeleri.....	189
Çizelge 5.11. Parametrelerin kodlanmış ve gerçek değerleri.....	190
Çizelge 5.12. Deneysel ve modelden hesaplanan cevap değerleri	191
Çizelge 5.13. Reaktör sistemindeki deneylerde, farklı akış hızları için elde edilen seyrelme hızı, % boyarmadde giderimi ve reaktör çıkışındaki indirgen şeker derişimleri	197

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Katı, sıvı ve gaz atıkların suya deşarjının muhtemel sağlık ve ekonomik etkileri	13
Şekil 2.2. Suyun kalite kriteri ile atık standartı arasındaki ilişki	14
Şekil 2.3. C.I.Violet 90 boyarmaddesinin kimyasal formülü.....	21
Şekil 2.4. Fermantasyon ve atıksuların arıtılmasında kullanılan mikroorganizmaların sınıflandırılması.....	43
Şekil 2.5. Maya teknolojileri.....	45
Şekil 2.6. Mikroorganizmaların üreme evreleri	47
Şekil 2.7. Sürekli çalışan bioreaktör	60
Şekil 4.1 Mikroorganizmanın boyarmadde ve kroma adaptasyon yöntemi.....	97
Şekil 4.2 Reaktör sistemi	101
Şekil 5.1. Farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde AM, AOM ve AOMHY için üreme eğrileri (20 g/L ind. şeker, pH=5)	106
Şekil 5.2. AM, AOM ve AOMHY ile farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinin boyarmadde tutma kapasitesine (q) etkisi (20 g/L ind. şeker, pH=5).....	107
Şekil 5.3. Kontrol deneylerinde başlangıç pH'ının <i>S. cerevisiae</i> 'nın özgül üreme hızına etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, So=10g/L).....	108
Şekil 5.4. Boyarmadde içeren ortamda, başlangıç pH'ının <i>S. cerevisiae</i> 'nın özgül üreme hızına etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, So=10g/L, C _{o,BM} = 50 mg/L).....	109
Şekil 5.5. Başlangıç pH'ının biyokütle üremesi ve indirgen şeker derişimi üzerine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, So= 10 g/L, C _{o,BM} = 50 mg/L).....	109
Şekil 5.6. Başlangıç pH'ının % boyarmadde giderimine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, So= 10 g/L, C _{o,BM} = 50 mg/L)	110

Şekil	Sayfa
Şekil 5.7. Karıştırma hızının <i>S. cerevisiae</i> üremesine ve indirgen şeker tüketimine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$, $\text{So}=10\text{g/L}$, $\text{C}_{0,\text{BM}}=50\text{mg/L}$).....	111
Şekil 5.8. Karıştırma hızının <i>S. cerevisiae</i> 'nin boyarmadde biyobirikimine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$, $\text{So}=10\text{g/L}$, $\text{C}_{0,\text{BM}}=50\text{mg/L}$).....	112
Şekil 5.9. Kontrol ortamında başlangıç indirgen şeker derişiminin <i>S. cerevisiae</i> üremesine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$, 140 rpm)	114
Şekil 5.10. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamlarda başlangıç indirgen şeker derişiminin <i>S. cerevisiae</i> üremesine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$, 140 rpm).....	115
Şekil 5.11. Boyarmadde derişiminin <i>S. cerevisiae</i> üremesine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$, 140 rpm, $\text{So}=20\text{g/L}$).....	116
Şekil 5.12. Özgöl üreme hızının indirgen şeker derişimi ve boyarmadde derişimi ile değişimi.....	116
Şekil 5.13. Her bir başlangıç indirgen şeker derişiminde, mikroorganizmanın boyarmadde biyobirikim kapasitesi	118
Şekil 5.14. İndirgen şeker ve boyarmadde derişiminin, boyarmadde biyobirikimine etkisi	119
Şekil 5.15. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında, kinetik sabitlerin hesaplanmasında kullanılan $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiği	121
Şekil 5.16. Boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı K_S^I ve $1/\mu_{\text{mi}}$ grafiği.....	122
Şekil 5.17. <i>S. cerevisiae</i> için farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde kinetik model ve deneysel özgöl üreme hızlarının karşılaştırılması (– kinetik model, ■ kontrol, ● 40 mg/L BM, ◆ 100 mg/L BM, ▲ 400 mg/L BM).....	124
Şekil 5.18. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (5 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı,)	125
Şekil 5.19. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (9,6 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı).....	125

Şekil	Sayfa
Şekil 5.20. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (5 g/L indirgen şeker, 60,8 mg/L BM).....	126
Şekil 5.21. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ▽: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (9,56 g/L indirgen şeker, 81,2 mg/L BM)	126
Şekil 5.22. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (21,5 g/L indirgen şeker, 74 mg/L BM)	127
Şekil 5.23. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (5 g/L indirgen şeker, 274 mg/L BM).....	127
Şekil 5.24. <i>S. cerevisiae</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (9,6 g/L indirgen şeker, 262 mg/L BM)	128
Şekil 5.25. Boyarmadde içermeyen kontrol ortamında <i>S. cerevisiae</i> ‘nin mikroskop görüntüsü	129
Şekil 5.26. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda <i>S. cerevisiae</i> ‘nin mikroskop görüntüsü.....	130
Şekil 5.27. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda <i>S. cerevisiae</i> ‘nin mikroskop görüntüsü.....	130
Şekil 5.28. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda <i>S. cerevisiae</i> ‘nin diğer bir mikroskop görüntüsü	131
Şekil 5.29. Farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde AM, AOM ve AOMHY için üreme eğrileri (10 g/L ind. şeker, pH=5)	134
Şekil 5.30. AM, AOM ve AOMHY ile farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinin boyarmadde tutma kapasitesine (q) etkisi (10 g/L ind. şeker, pH=5).....	135

Şekil	Sayfa
Şekil 5.31. Kontrol deneylerinde başlangıç pH'ının <i>C. tropicalis</i> 'in özgül üreme hızı üzerine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, S ₀ =10g/L)	136
Şekil 5.32. 50 mg/L boyarmadde içeren ortamda başlangıç pH'ının <i>C. tropicalis</i> 'in özgül üreme hızına etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, S ₀ =10 g/L).....	137
Şekil 5.33. Başlangıç pH'ının <i>C. tropicalis</i> 'in biyokütle üremesi ve indirgen şeker tüketimine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, S ₀ = 10 g/L, C _{0,BM} = 50 mg/L)	138
Şekil 5.34. Başlangıç pH'ının % boyarmadde biyobirikimine etkisi (K.H.=140 rpm, T=30°C, S ₀ = 10 g/L, C _{0,BM} = 50 mg/L)	138
Şekil 5.35. Kontrol ortamında başlangıç indirgen şeker derişiminin <i>C. tropicalis</i> üremesine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, pH=5).....	141
Şekil 5.36. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda başlangıç indirgen şeker derişiminin <i>C. tropicalis</i> üremesine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, pH=5).....	141
Şekil 5.37. 1 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, boyarmadde derişiminin <i>C. tropicalis</i> üremesine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, pH=5).....	142
Şekil 5.38. 10 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, boyarmadde derişiminin <i>C. tropicalis</i> üremesine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, pH=5).....	142
Şekil 5.39. Farklı başlangıç boyarmadde derişimleri için özgül üreme hızı ile substrat derişimi arasındaki ilişki.....	143
Şekil 5.40. <i>C. tropicalis</i> 'in boyarmadde tutma kapasitesinin (q) indirgen şeker ve boyarmadde derişimi ile değışimi.....	145
Şekil 5.41. <i>C. tropicalis</i> 'in tutulan boyarmadde derişiminin (C _{tut}) indirgen şeker ve boyarmadde derişimi ile değışimi.....	146
Şekil 5.42. Kinetik sabitlerin hesaplanmasında kullanılan 1/S'e karşı 1/μ grafiğı	147
Şekil 5.43. Boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı ve 1/μ _{mi} grafiğı.....	148

Şekil

Sayfa

- Şekil 5.44. *C. tropicalis* için farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde kinetik model ve deneysel özgül üreme hızlarının karşılaştırılması (– kinetik model, ■ kontrol, × 100 mg/L BM, ● 400 mg/L BM) . 149
- Şekil 5.45. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (3,08 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı) 150
- Şekil 5.46. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (5,8 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı) 151
- Şekil 5.47. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (12 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı) 151
- Şekil 5.48. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (3,0 g/L indirgen şeker, 109 mg/L BM)..... 152
- Şekil 5.49. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (3,06 g/L indirgen şeker, 263,5 mg/L BM) 152
- Şekil 5.50. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (6,22 g/L indirgen şeker, 106,5 mg/L BM) 153
- Şekil 5.51. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (10,91 g/L indirgen şeker, 106,4 mg/L BM) 153
- Şekil 5.52. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (10,91 g/L indirgen şeker, 256,5 mg/L BM) 154

Şekil	Sayfa
Şekil 5.53. <i>C. tropicalis</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (19.134 g/L indirgen şeker, 117 mg/L BM).....	154
Şekil 5.54. <i>C. tropicalis</i> ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (18,57 g/L indirgen şeker, 258 mg/L BM).....	155
Şekil 5.55. Boyarmadde içermeyen kontrol ortamında <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü	156
Şekil 5.56. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü.....	157
Şekil 5.57. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü.....	158
Şekil 5.58. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü.....	158
Şekil 5.59. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü.....	159
Şekil 5.60. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayalarının boyarmadde giderimi sırasında biyokütle üremelerinin karşılaştırılması (100 mg/L boyarmadde).....	160
Şekil 5.61. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayalarının boyarmadde biyobirikimlerinin karşılaştırılması (100 mg/L boyarmadde).....	160
Şekil 5.62. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayalarının boyarmadde giderimi sırasında özgül üreme hızlarının karşılaştırılması (100 mg/L boyarmadde).....	161
Şekil 5.63. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayalarının boyarmadde giderimi sırasında boyarmadde tutma kapasitelerinin karşılaştırılması (100 mg/L boyarmadde).....	161
Şekil 5.64. 50 mg/L krom iyonu içeren ortamda <i>S. cerevisiae</i> üremesine pH etkisi (T=30°C, S ₀ = 10 g/L, C _{0,krom (III)} = 50 mg/L)	165
Şekil 5.65. <i>S. cerevisiae</i> ile özgül üreme hızına pH'ın etkisi (T=30°C, S ₀ = 10 g/L, C _{0,krom (III)} = 50 mg/L).....	166

Şekil	Sayfa
Şekil 5.66. <i>S. cerevisiae</i> ile krom(III) giderimine pH'ın etkisi (T=30°C, S ₀ = 10 g/L, C _{0,krom (III)} = 50 mg/L).....	166
Şekil 5.67. 50 mg/L Cr içeren ortamda <i>Candida tropicalis</i> üremesine pH etkisi	167
Şekil 5.68. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikiminde, pH'ın özgül üreme hızına etkisi	168
Şekil 5.69. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikiminde, pH'ın krom giderimine etkisi	168
Şekil 5.70. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayaları ile krom biyobirikimi sırasındaki özgül üreme hızına pH etkisi	170
Şekil 5.71. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayaları ile krom biyobirikimine pH etkisi	170
Şekil 5.67. 50 mg/L krom iyonu içeren ortamda <i>Candida tropicalis</i> üremesine pH etkisi (T=30°C, S ₀ = 10 g/L, C _{0,krom (III)} = 50 mg/L)	167
Şekil 5.68. <i>C. tropicalis</i> ile krom iyonu biyobirikiminde, pH'ın özgül üreme hızına etkisi (T=30°C, S ₀ = 10 g/L, C _{0,krom (III)} = 50 mg/L)	168
Şekil 5.69. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikiminde, pH'ın krom (III) giderimine etkisi (T=30°C, S ₀ = 10 g/L, C _{0,krom (III)} = 50 mg/L).....	168
Şekil 5.70. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayaları ile krom iyonu biyobirikiminde özgül üreme hızına pH etkisi (S ₀ =10 g/L, C _{0,krom} =50 mg/L)	170
Şekil 5.71. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>C. tropicalis</i> mayaları ile krom (III) biyobirikimine pH etkisi(S ₀ =10 g/L, C _{0,krom} =50 mg/L)	170
Şekil 5.72. 100 mg/L krom içeren ortamda başlangıç indirgen şeker derişiminin <i>C. tropicalis</i> üremesine etkisi (T=30°C, pH=5, 140 rpm).....	174
Şekil 5.73. Krom derişiminin <i>C. tropicalis</i> üremesine etkisi (T=30°C, pH=5, 140 rpm, S ₀ =5 g/L).....	175
Şekil 5.74. Farklı başlangıç krom derişimlerinde özgül üreme hızı ve indirgen şeker derişimi arasındaki ilişki	176

Şekil	Sayfa
Şekil 5.75. Farklı başlangıç indirgen şeker ve başlangıç krom (III) derişiminin <i>C. tropicalis</i> mayasının krom (III) biyobirikim kapasitesine etkisi	177
Şekil 5.76. <i>C. tropicalis</i> ile krom (III) gideriminde kinetik sabitlerin hesaplanmasında kullanılan $1/S'$ e karşı $1/\mu$ grafiğı	179
Şekil 5.77. Krom (III) derişimine karşı (I) K_s' ve $1/\mu_{mi}$ grafiğı	180
Şekil 5.78. <i>C. tropicalis</i> için farklı başlangıç krom derişimlerinde kinetik model ve deneysel özgül üreme hızlarının karşılaştırılması (– kinetik model, ♦ kontrol, ▲ 25mg/L Cr, ■ 50 mg/L Cr, ● 75 mg/L Cr, × 400 mg/L Cr)	180
Şekil 5.79. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (4,5 g/L indirgen şeker, 51,7 mg/L Cr)	181
Şekil 5.80. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (4,06 g/L indirgen şeker, 96,1 mg/L Cr)	182
Şekil 5.81. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (10,33 g/L indirgen şeker, 50 mg/L Cr)	182
Şekil 5.82. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (9,7 g/L indirgen şeker, 95 mg/L Cr)	183
Şekil 5.83. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (16,6 g/L indirgen şeker, 50 mg/L Cr)	183
Şekil 5.84. <i>C. tropicalis</i> ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇: deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (15,75 g/L indirgen şeker, 100,6 mg/L Cr)	184

Şekil	Sayfa
Şekil 5.85. 25 mg/L krom (III) içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü.....	185
Şekil 5.86. 100 mg/L krom (III) içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü.....	186
Şekil 5.87. <i>C. tropicalis</i> ile boyarmadde ve krom biyobirikiminde, indirgen şeker derişimi ile biyokütle derişimi değışimi ($C_{o,BM}=50$ mg/L, $C_{o,krom}=50$ mg/L)	187
Şekil 5.88. <i>C. tropicalis</i> ile boyarmadde ve krom biyobirikiminde, indirgen şeker derişimi ile özgül üreme hızı değışimi ($C_{o,BM}=100$ mg/L, $C_{o,krom}=100$ mg/L)	187
Şekil 5.89. <i>C. tropicalis</i> ile boyarmadde ve krom biyobirikiminde, indirgen şeker derişimi ile özgül üreme hızı değışimi ($C_{o,BM}=100$ mg/L, $C_{o,krom}=100$ mg/L)	188
Şekil 5.90. Krom ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, krom ve boyarmadde derişimlerinin % boyarmadde giderimine etkisi	193
Şekil 5.91. Krom ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, krom ve boyarmadde derişimlerinin % krom giderimine etkisi.....	194
Şekil 5.92. Krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in mikroskop görüntüsü	195
Şekil 5.93. Krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda <i>C. tropicalis</i> 'in başka bir mikroskop görüntüsü.....	195
Şekil 5.94. Reaktör besleme akış hızının biyokütle üremesi, boyarmadde giderimi, indirgen şeker derişimi ve pH'a etkisi.....	196
Şekil 5.95. 108 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, sürekli reaktördeki boyarmadde biyobirikimi, <i>S. cerevisiae</i> üremesi, pH ve indirgen şeker derişimi değışimi ($F=0,8$ mL/dk, $D=0,096$ saat ⁻¹ , 4,7 g/L indirgen şeker, pH=5).....	198
Şekil 5.96. 108 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, reaktördeki boyarmadde biyobirikimi, <i>S. cerevisiae</i> üremesi, pH ve indirgen şeker derişimi değışimi ($F=0,84$ mL/dk, $D=0,1$ saat ⁻¹ , pH=5 5.15 g/L indirgen şeker,).....	199
Şekil 5.97. 1/D'ye karşı 1/Y _{(X/S)g} grafiğı.....	200

Şekil	Sayfa
Şekil 5.98. $1/S$ 'e karşı $1/(D+k_d)$ grafiği	200

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Melas.....	66
Resim 4.1. Eğik agar	94
Resim 4.2. Mayaların eğik agardan üreme ortamına transferi	96
Resim 4.3. Mayaların üreme ortamından biyobirikim deney ortamına Aşılması.....	99

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simge ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
a	K_s 'e bağlı bir faktör
C_{tut}	Mikroorganizma tarafından biriktirilen (tutulan) boyarmadde derişimi (mg/L)
D	Seyrelme hızı (saat ⁻¹)
D_{opt}	Optimum seyrelme hızı (saat ⁻¹)
E	Enzim derişimi (g/L)
F	Akış hızı (L/saat)
I	İnhibisyona neden olan bileşenin derişimi (g/L)
k_d	Hücre içi solunum hızı (saat ⁻¹)
K_i	İnhibisyon sabiti (mg/L)
K_s	Monod doyumluk sabiti (g/L)
$K_{Sgöz}$	Gözlenen monod doyumluk sabiti (g/L)
m	Bakım katsayısı (g substrat / (g biyokütle*saat))
P	Ürün derişimi (g/l),
q	Mikroorganizmanın kirletici biyobirikim kapasitesi (mg kirletici/g biyokütle)
q_p	Özgöl ürün oluşum hızı (saat ⁻¹)
q_s	Özgöl substrat kullanım hızı (saat ⁻¹)
S_o	Reaktöre giren beslemedeki substrat derişimi (g/L)
S	Reaktörden çıkan akımdaki substrat derişimi (g/L)
V	Kültürün hacmi (L)
X	t anındaki mikroorganizma derişimi (g/L),
X_o	t=0 anındaki mikroorganizma derişimini (g/L)
x_i	i bileşeninin kodlanmış değeri
X_i	Bağımsız değişkenin gerçek değeri
X_o	Bağımsız değişkenin merkez noktadaki gerçek değeri

ΔX	Adım aralığı
Y	Cevap yüzeyi fonksiyonu
$Y_{X/S}$	Biyokütle verim katsayısı (g biyokütle/g substrat)
$Y_{X/S(m)}$	Maksimum biyokütle verim katsayısı (g biyokütle/g substrat)
$Y_{X/S(g)}$	Görünür biyokütle verim katsayısı (g biyokütle/g substrat)
$Y_{P/S}$	Ürün verim katsayısı (substrata göre) (g ürün/g substrat)
$Y_{P/X}$	Ürün verim katsayısı (g ürün/g biyokütle)
α	Özgül ölüm hızı (saat ⁻¹)
β	Ürün bozunma hızı (saat ⁻¹)
μ	Özgül üreme hızı, (saat ⁻¹)
μ_m	En yüksek (maksimum) özgül üreme hızı (saat ⁻¹)
μ_{mi}	Gözlenen özgül üreme hızı (saat ⁻¹)
η	Cevap yüzeyi
β_0	Regrasyon eşitliğindeki bağımsız terim,
β_i	Regrasyon eşitliğindeki lineer terim,
β_{ii}	Regrasyon eşitliğindeki ikinci derece terim,
β_{ij}	Regrasyon eşitliğindeki interaktif terim,
ε	Rastgele hata

Kısaltmalar**Açıklama**

AM	Adapte edilmiş maya
AOM	Adapte olmayan maya
AOMHY	Adapte olmayan maya ve melas hidrolizi yok
BM	Boyarmadde

1. GİRİŞ

Su canlıların yaşaması için hayati öneme sahiptir. En küçük canlı organizmadan en büyük canlı varlığa kadar, bütün biyolojik yaşamı ve bütün insan faaliyetlerini ayakta tutan sudur. Dünyadaki suyun % 98'i okyanuslarda ve iç denizlerde bulunmakta, fakat tuzlu olduğu için, içme suyu olarak kullanıma, sulamaya ve endüstriyel kullanıma uygun değildir. Dünyadaki suların ancak % 2.5'i tatlı sudur. Türkiye'nin kullanılabilir su potansiyelinin % 16'sı içme ve kullanmada, % 72'si tarımsal sulamada, % 12'si de sanayide tüketilmektedir. Sanayinin çevre üzerindeki olumsuz etkisi diğer faktörlerden çok daha fazladır. Sanayi kuruluşlarının; sıvı atıkları ile su kirliliğine, buna bağlı olarak gelişen toprak ve bitki örtüsü üzerinde aşırı kirlenmelere sebep olduğu ve doğa tahribine yol açtığı bilinmektedir. Ayrıca son yıllarda sanayi ve teknolojinin hızla gelişmesi sonucu köyden kente göç olayı da artmış, bu durum hızlı ve düzensiz yapılaşmaya yol açmıştır [Çevre ve Orman Bak., 2010].

Tekstil, kağıt ve kağıt hamuru, baskı, demir-çelik, petrol, pestisit, boya, çözücü, farmasotik gibi bir çok sanayi dalı çok büyük miktarlarda su ve organik bazlı kimyasal tüketmektedirler [Aksu, 2005]. Sentetik boyalar tekstil, boya, kağıt ve baskı endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Günümüzde 100.000'in üzerinde sentetik boya ticari olarak kullanılmakta ve yılda 700.000 tonun üzerinde boya üretimi yapılmaktadır [Aksu, 2005; Fu ve Viraraghavan, 2001; Karapınar Kapdan ve Kargı, 2000]. Tekstil endüstrisinde kullanılan boyarmaddeler ya kimyasal yapılarına göre (azo, antrakinin, indigo, polimetin, arilkarbonyum, ftalosyanin, nitro ve kükürt boyarmaddeleri) ya da boyama özelliklerine göre (direkt, küpe kükürt, azoik(naftolas), reaktif, ingrain, oksidasyon, asit, bazik, mordan, krom, metal-kompleks, dispers, pigment boyarmaddeler) sınıflandırılmaktadırlar. Bu boyarmaddeler arasında bulunan metal-kompleks boyarmaddeler, protein ve poliamid elyafın boyanmasında kullanılan koordinasyon bileşikleridir. Yapıları bakımından krom, kobalt, bakır, demir, nikel gibi bazı metal iyonlarıyla kompleksleşmeye elverişli olan boyarmaddeler 130°C'de uygun pH'larda metal tuzu

çözeltileriyle ısıtılarak metal kompleksi haline getirilirler. Metal kompleks boyarmaddeler, 1:1'lik ve 1:2'lik metal-kompleks boyarmaddeler olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. 1:1'lik Metal kompleks boyarmaddeler, bir metal iyonu ile bir boyarmadde molekülünün kompleks oluşturmasıyla, 1:2'lik Metal kompleks boyarmaddeler ise, bir metal iyonu ile iki boyarmadde molekülünün kompleks oluşturmasıyla elde edilmiştir. Bu iki boyarmadde grubu arasındaki diğer bir farkta, 1:1'lik metal-kompleks boyarmaddeler pH=2'de, 1:2'lik metal-kompleks boyarmaddeler ise, pH=5'te elyafa boyama yapmaktadırlar. Bu boyarmaddeler haslık değerlerinin çok iyi olması nedeniyle özellikle deri, ipek, yün ve pamuk boyamada tercih edilmektedirler [Özcan, 1978]. Ancak genel olarak, boyarmaddelerin kompleks yapıya sahip olmaları nedeni ile atıksulardan arıtımı oldukça zor olmaktadır. Tekstil boyama proseslerinde etkin boyamanın yapılamaması sonucunda boyarmaddenin % 5-10'u atıksulara karışarak kayıp olmakta [Arora ve ark., 2005; Rai ve ark., 2007] ve reaktif boyarmaddeler için bu kayıp % 50'ye kadar çıkmaktadır [Rai ve ark., 2007; Ertuğrul ve ark., 2009; Aksu ve Dönmez, 2005; Aksu, 2003]. Gerek üretim, gerekse kullanım sırasında arta kalan boya miktarı göz önünde bulundurulduğunda renkli atıksuların çevresel açıdan ne kadar önemli olduğu gerçeği ortaya çıkmaktadır [Aksu, 2005; Fu ve Viraraghavan, 2001; Karapınar Kapdan ve Kargı, 2000].

Diğer yandan, tekstil endüstrileri yaş dokuma prosesleri için çok büyük miktarlarda su ve kimyasal tüketmektedirler. Gerek boyamada gerekse diğer işlemlerde kullanılan bu organik ve inorganik formdaki bileşiklerin çeşitliliğine bağlı olarak, ortaya çıkan atıksuların özellikleri de farklı olmaktadır. Alıcı sulara verilen renkli atıksular su ortamındaki ışık geçirgenliğini azaltmakta ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkilemektedir. Ayrıca boyarmaddelerin bazı sucul organizmalarda birikmesi toksik ve kanserojenik ürünlerin meydana gelme riskini de beraberinde getirmektedir. Bu bağlamda boyarmadde içeren tekstil endüstrisi atıksularının renk giderim prosesleri çevresel açıdan önem kazanmaktadır [Kocaer ve Alkan, 2002].

Tekstil endüstrisi atıksularında sadece boyarmadde değil, fakat aynı zamanda ağır metallerde bulunabilir. Bu ağırmetallerden biri olan krom, Cr (III) ve Cr (VI) halinde bulunmaktadır. Vücutta insülin hareketini sağlayarak karbonhidrat, su ve protein metabolizmasını etkileyen krom, doğada her yerde bulunan bir metal olup havada $>0,1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ve kirlenmemiş suda ortalama $1 \mu\text{g}/\text{L}$ bulunur. Yapılan çalışmalarda, Cr (VI)'nın, kanserojen özelliği tespit edilmiştir [Kahvecioğlu ve ark., 2003]. Krom içeren atıksular genel olarak, organik kimya, boya ve vernik, film ve fotoğraf, metal temizleme, kaplama ve elektrokaplama işlemleri, deri, tekstil endüstrileri ve metalurji gibi endüstrilerden kaynaklanmaktadır [Gökçay ve Sağ, 1992]. Düşük seviyelerde kroma maruz kalındığında, deride tahriş ve ülser meydana gelmektedir. Uzun süreli maruz kalındığında, böbreklerde ve karaciğerde hasara yol açabildiği gibi kan dolaşımı sistemini ve sinir dokularını tahrip edebilmektedir. [Gökçay ve Sağ, 1992]. Yapılan çalışmalar, 6 değerlikli kromun Cr(VI), Cr(III)'den yaklaşık olarak 100-1000 kez daha toksik özellikte olduğunu göstermektedir. [Başaran ve ark., 2004]. Diğer yandan atıksulardaki krom bileşikleri balıkların ve diğer suda yaşayan canlıların yaşamına zehirli etkiler yapmaktadır [Nakiboğlu ve Sevindir, 2006].

Atıksular genellikle mekanik, fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerle arıtılmaktadırlar. Fiziksel yöntemler aktif karbon, turba, odun yongaları, uçucu kül ve kömür, silika jel, kil, mısır koçanı gibi maddelerle adsorpsiyon, membran filtrasyonu, iyon değişimi, elektrokinetik pıhtılaşma ve ısınlama olarak sınıflandırılmaktadır. Kimyasal yöntemler H_2O_2 -Fe(II) tuzları (Fenton ayırıcı), ozonlama, fotokimyasal yöntem, sodyum hipoklorit (NaOCl), elektrokimyasal yöntem ve cucurbituril ile oksidasyondur. [Robinson ve ark., 2001, Slokar ve Marechal, 1998, Doble ve Kumar, 2005]. Tekstil endüstrisi atıksularının arıtımı için önerilen fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yüksek maliyet gerektirmeleri ve her boya için kullanılamıyor olmaları, uygulanmalarının sınırlı olmasına neden olmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar birçok boya türünü ve ağır metalleri atıksulardan giderebilme yeteneğine sahip yaygın mikroorganizma türlerinin mevcudiyetini vurgulamış ve biyoteknolojik metodları (biyoparçalanma, biyobirikim, biyosorpsiyon

vb.) ön plana çıkarmıştır [Karapınar Kapdan ve Kargı, 2000]. Birçok bakteri ve mantar türü tekstil atıksularının arıtılmasında kullanılmaktadır. Mayalar çok iyi boya biyobirikimi kapasitesine sahip olmalarına rağmen bu konuda çok az bir çalışma bulunmaktadır. Bakteriler ve filamentli mantarlar ile anaerobik boyarmadde gideriminde, sadece boyarmadde adsorpsiyonu gerçekleşmez fakat aynı zamanda boyarmadde parçalanarak, farklı bileşenlere ayrılır. Bu parçalanma sonucu, azo boyarmaddelerinin gideriminde, zehirli ve kanserojen olan aromatik aminler oluşmakta, oluşan ürünün karmaşıklığı ve zehirliliği boyarmaddeye göre değişiklik göstermektedir. Parçalanma sonucu zehirli bileşiklerin oluşması bakteri ve mantarların en büyük dezavantajıdır [Fu ve Viraraghavan, 2001; Rai ve ark., 2005]. Mayalar, bakteri ve filamentli mantarlara göre birçok avantaja sahiptir. Mayalar, ucuz ve kolayca elde edilebilen bir biyokütle kaynağıdır [Das ve ark., 2010]. Mayalar, farklı çevre koşullarına çabuk adapte olarak, oldukça farklı çeşitlilikteki boyarmaddeleri ve ağır metal iyonlarını biyobirikirme yeteneğine sahiptirler [Aksu, 2003].

Bu çalışmada, tekstil atıksularında yer alan, Cr (III) içeren C.I.Violet 90 metal kompleks boyarmaddesi ve krom iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis* mayalarıyla biyobirikimi araştırılmıştır. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları için besin kaynağı olarak, şeker fabrikalarının bir yan ürünü olan ve yaklaşık % 50 oranında sakkaroz içeren melas kullanılmıştır. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında, öncelikle ortam başlangıç pH'ının boyarmadde biyobirikimine etkisi araştırılmıştır. Daha sonra başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin boyarmadde biyobirikimine birlikte etkisi incelenmiştir.

Mayalarla krom biyobirikimi çalışmalarında, *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları ile öncelikle başlangıç pH'ının krom (VI) biyobirikime etkisi incelenmiştir. Krom (VI) kaynağı olarak potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) kullanılmıştır. Başlangıç indirgen şeker ve başlangıç krom (III) derişiminin, krom biyobirikimine birlikte etkisi ise sadece *C. tropicalis* mayası kullanılarak incelenmiş ve krom (III) kaynağı olarak

krom sülfat ($\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$) kullanılmıştır. Krom (III) ve boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında, krom ve boyarmaddeyi içermeyen ortamda başlangıç indirgen şeker derişimi ile özgül üreme hızı arasındaki ilişkiyi belirlemek için Monod tipi eşitliklerden yararlanılmıştır. Diğer yandan boyarmadde ve krom (III) derişiminin, mayaların özgül üreme hızına inhibisyon etkisini belirlemek için lineer karma tip inhibisyon eşitlikleri kullanılmıştır. Kinetik model ile deneysel veriler, çizilen grafikler yardımıyla karşılaştırılmıştır.

Krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, krom (III) ve boyarmadde biyobirikimi *C. tropicalis* mayası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Krom (III) ve boyarmadde derişiminin krom ve boyarmadde biyobirikimine birlikte etkisini incelemek için, bağımsız değişkenler için çalışma aralıkları seçilmiş ve deneysel tasarım matrisi, Box Wilson deneysel tasarım metodu ile belirlenmiştir. Box Wilson deneysel tasarımına göre elde edilen verilerin analizi Design Expert 7.0 programında yapılmıştır.

Biyobirikim deneylerinde, *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayalarının boyarmadde ve krom (III) biyobirikimlerini incelemek için mikroskopta resimleri çekilmiştir.

Çalışmanın son kısmında, boyarmadde giderimi sürekli çalışan bir reaktör sisteminde *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Reaktör sistemine, sabit indirgen şeker derişiminde 50 mg/L boyarmadde içeren steril besleme verilmiş ve steril besleme hızının boyarmadde biyobirikimine etkisi incelenmiştir.

2. SU KAYNAKLARI VE SU KİRLİLİĞİ

Su canlıların yaşaması için hayati öneme sahiptir. En küçük canlı organizmadan en büyük canlı varlığa kadar, bütün biyolojik yaşamı ve bütün insan faaliyetlerini ayakta tutan sudur. Dünyamızın %70'ini kaplayan su, bedenimizin de önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Ancak yeryüzündeki su kaynaklarının yaklaşık % 0.3'ü kullanılabilir ve içilebilir özelliktedir.

Nüfusun hızla artması, buna karşılık su kaynaklarının sabit kalması sebebiyle su ihtiyacı her geçen gün artmaktadır. Dünyadaki mevcut suyun hacmi 141 milyar m³'tür. Bu miktar dünya yüzeyini 3 km. kalınlığında bir tabaka halinde sarabilecek büyüklüktedir. Bu suyun % 98'i okyanuslarda ve iç denizlerde bulunmakta, fakat tuzlu olduğu için, içme suyu olarak kullanıma, sulamaya ve endüstriyel kullanıma uygun değildir. Dünyadaki suların ancak % 2,5'i tatlı sudur. Bunun da % 87'si buzullarda, toprakta, atmosferde, yeraltı sularında bulunur ve kullanılamaz durumdadır.

İnsanoğlu, su ihtiyacını yüzeysel sular ve yeraltı su kaynaklarından temin etmektedir. Tatlı suların en önemli kaynağı yağışlardır. Küresel yıllık yağış 500 bin m³ olup, her yıl yeryüzüne inen yağış aynı miktardadır. Ülkemizde ise tatlı su kaynakları oldukça sınırlıdır ve ihtiyaca ancak cevap vermektedir. Türkiye'nin kullanılabilir su potansiyeli 110 milyar m³ olup, bunun % 16'sı içme ve kullanmada, % 72'si tarımsal sulamada, % 12'si de sanayide tüketilmektedir [Çevre ve Orman Bak., 2010a].

Su kaynağının kimyasal, fiziksel, bakteriyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yoldan biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, balıkçılıkta, su kalitesinde ve suyun diğer amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde veya enerji atıklarının boşaltılmasına su kirliliği denir [Resmi Gazete, 31.12.2004]. Doğada bulunan su kaynakları genel olarak yeraltı suları ve yerüstü suları olmak üzere iki grupta toplanabilir.

Yeraltı suları ve kirliliği : Yağış sularının yaklaşık üçte biri yeraltına sızar. Bu sular yeraltında kayaların çatlakları ve boşluklarını doldurarak bir su tabakası (akifer) oluşturur. Yeraltı suları, yüzeysel sulara göre daha temiz ve berraktır [Yalçın ve Gürü, 2002]. Ancak yağmur suyu yeryüzüne indiği andan itibaren kirlilik oranında ani bir artış olur. Hayvansal ve bitkisel artıklar, doğal ve suni gübreler, pestisitler ve mikroorganizmalar su ile yeraltına doğru taşınır. Yeraltı suyu kirlenmesinin en büyük sebebi, evsel ve endüstriyel atıkların arıtılmadan alıcı ortamlara verilmesidir. Katı, sıvı ve gaz atıklar alıcı ortama verildikten sonra; iklim durumuna, toprağın yapısına, yeryüzü şekline, atığın cinsine ve zamana bağlı olarak yeraltı sularına karışır. Ayrıca zirai mücadele ilaçlarının aşırı ve bilinçsiz kullanımı önemli bir kirlilik sebebidir. Kanalizasyon sisteminin bulunmadığı yerlerde, tuvalet çukurlarından ve gübrelerden sızan kirli sular yeraltı suyuna karışarak, özellikle yaz aylarında ölümlere yol açan bulaşıcı hastalıklara sebep olmaktadır [Çevre ve Orman Bak, 2010a].

Yerüstü suları ve kirliliği : Akarsu, göl ve denizler yerüstü sularını oluştururlar. Akarsular; küçük dereler, yağmur, kar ve kaynak sularıyla beslenirler. Kanalizasyon suları, fabrika atıkları ile havayı kirleten etkenlerin yağmur ve yüzey akışlarıyla taşınması, tarımsal faaliyetler sonucu oluşan pestisit ve gübre gibi kimyasal atıklar, akarsuları kirleten başlıca etkenlerdir. Akarsular ve okyanuslar belli bir seviyeye kadar olan kirliliği arıtma özelliğine sahiptir. Bu sınır aşıldığında suda aşırı kirlilik ve bozulma başlar. Akarsuların bazı etkenlerle kirlenmesi sonucu akarsularda mevcut olan ekolojik denge bozulmakta, bitkiler ve hayvanlar olumsuz yönde etkilenmektedir.

Göl kirlenmesinin ana unsurları akarsular ve atmosferik olaylardır. Akarsularla taşınan çözünmüş ve askıdaki maddelerin önemli miktarı erozyon ve kimyasal çözünme sonucu oluşur. Ayrıca asit yağmurları da kirliliği artırmaktadır. Göle karışan kirleticilerin büyük bir kısmı akarsular, endüstriyel atıklar ve drenaj yoluyla taşınmasına karşılık, atmosferle kirliliğin taşınması da son derece önemlidir. Havadaki kirleticilerin yağışlar ve rüzgar gibi atmosferik etkenlerle uzun mesafelere taşınması ve yerüstü sularına karışması sonucu su kirliliği meydana gelmektedir.

Denizlerin taşımacılık ve turizm amacıyla kullanılması, evsel, endüstriyel atıkların arıtılmadan veya kısmen arıtılarak denize verilmesi, deniz kazaları sonucu meydana gelen petrol akıntıları, akarsulardan denizlere ulaşan tarımsal atıklar, kirlenmeyi meydana getiren başlıca etkenlerdir. Deniz kirliliğine sebep olan atıklar belirli bir zamanda, bir bölgedeki kirlenme yoğunluğuna bağlı olarak insan sağlığına ve çevreye olumsuz yönde etki etmektedir [Çevre ve Orman Bak., 2010a].

2.1. Suyun Kalite Kriterleri

Suyun kullanılacağı yere ve amaca göre değişen kalite kriterleri vardır. Kriterler herhangi bir amaç için kullanılacak suyun o amaca uygun ve yeterli özelliklerinin, standartlar ise kullanıldıktan sonra çevreye bırakılacak atıksuyun özelliklerinin detaylı tarifidir. Kalite kriterini saptamak için gerekli olan parametre sayısı ve bu parametrelerin alt ve üst limitleri suyun kullanılacağı amaca göre belirlenir [Özbelge, 1992]. Türkiye’de Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, su kalite kontrolüne yönelik, yasal ve teknik esasları kapsamaktadır. Yönetmelikte kıta içi su kaynaklarının (Karalarda bütün yapay ve doğal yeraltı ve yüzeysel suları, denizle bağlantısı olan su kaynaklarında ise, tatlı su sınır noktasına kadar olan sular) kullanımına göre sınıflandırılması ve her sınıf için gerekli su kalitesi parametreleri incelenmiştir. Bu yönetmelikten yararlanarak, başlıca dört ana su sınıfının kullanım ve kalite kriterleri belirlenerek Çizelge 2.1.’de sunulmuştur.

Çizelge 2.1. Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri [Resmi Gazete, 31.12.2004]

Su Kalite Parametreleri	Su Kalite Sınıfları			
	I	II	III	IV
A) Fiziksel ve inorganik- kimyasal Parametreler				
1) Sıcaklık (°C)	25	25	30	> 30
2) pH	6,5-8,5	6,5-8,5	6,0-9,0	6,0-9,0 dışında
3) Çözünmüş oksijen (mg O ₂ /L) ^a	8	6	3	< 3
4) Oksijen doygunluğu (%) ^a	90	70	40	< 40
5) Klorür iyonu (mg Cl ⁻ /L)	25	200	400 ^b	> 400
6) Sülfat iyonu (mg SO ₄ ⁻ /L)	200	200	400	> 400
7) Amonyum azotu (mg NH ₄ ⁺ -N/L)	0,2 ^c	1 ^c	2 ^c	> 2
8) Nitrit azotu (mg NO ₂ ⁻ -N/L)	0,002	0,01	0,05	> 0,05
9) Nitrat azotu (mg NO ₃ ⁻ -N/L)	5	10	20	> 20
10) Toplam fosfor (mg P/L)	0,02	0,16	0,65	> 0,65
11) Toplam çözünmüş madde (mg/L)	500	1500	5000	> 5000
12) Renk (Pt-Co birimi)	5	50	300	> 300
13) Sodyum (mg Na ⁺ /L)	125	125	250	> 250
B) Organik parametreler				
1) Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) (mg/L)	25	50	70	> 70
2) Biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ)(mg/L)	4	8	20	> 20
3) Toplam organik karbon (mg/L)	5	8	12	> 12
4) Toplam kjeldahl-azotu (mg/L)	0,5	1,5	5	> 5
5) Yağ ve gres (mg/L)	0,02	0,3	0,5	> 0,5
6) Metilen mavisi ile reaksiyon veren yüzey aktif maddeleri (MBAS) (mg/L)	0,05	0,2	1	> 1,5
7) Fenolik maddeler (uçucu) (mg/L)	0,002	0,01	0,1	> 0,1
8) Mineral yağlar ve türevleri (mg/L)	0,02	0,1	0,5	> 0,5
9) Toplam pestisid (mg/L)	0,001	0,01	0,1	> 0,1
C) İnorganik kirlenme parametreleri^d				
1) Civa (µg Hg/L)	0,1	0,5	2	> 2
2) Kadmiyum (µg Cd/L)	3	5	10	> 10
3) Kurşun (µg Pb/L)	10	20	50	> 50
4) Arsenik (µg As/L)	20	50	100	> 100
5) Bakır (µg Cu/L)	20	50	200	> 200
6) Krom (toplam) (µg Cr/L)	20	50	200	> 200
7) Krom (µg Cr ⁺⁶ /L)	Ölçüleme yacek kadar	20	50	> 50

Çizelge 2.1. (Devam) Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri
[Resmi Gazete, 31.12.2004]

	Su Kalite Sınıfları			
Su Kalite Parametreleri	I	II	III	IV
8) Kobalt ($\mu\text{g Co/L}$)	10	20	200	> 200
9) Nikel ($\mu\text{g Ni/L}$)	20	50	200	> 200
10) Çinko ($\mu\text{g Zn/L}$)	200	500	2000	> 2000
11) Siyanür (toplam) ($\mu\text{g CN/L}$)	10	50	100	> 100
12) Florür ($\mu\text{g F}^-/\text{L}$)	1000	1500	2000	> 2000
13) Serbest klor ($\mu\text{g Cl}_2/\text{L}$)	10	10	50	> 50
14) Sülfür ($\mu\text{g S}^-/\text{L}$)	2	2	10	> 10
15) Demir ($\mu\text{g Fe/L}$)	300	1000	5000	> 5000
16) Mangan ($\mu\text{g Mn/L}$)	100	500	3000	> 3000
17) Bor ($\mu\text{g B/L}$)	1000 ^e	1000 ^e	1000 ^e	> 1000
18) Selenyum ($\mu\text{g Se/L}$)	10	10	20	> 20
19) Baryum ($\mu\text{g Ba/L}$)	1000	2000	2000	> 2000
20) Alüminyum (mg Al/L)	0,3	0,3	1	> 1
21) Radyoaktivite (pCi/L)				
alfa-aktivitesi	1	10	10	> 10
beta-aktivitesi	10	100	100	> 100
D) Bakteriyolojik parametreler				
1) Fekal koliform($\text{EMS}/100 \text{ mL}$)	10	200	2000	> 2000
2) Toplam koliform ($\text{EMS}/100 \text{ mL}$)	100	20000	100000	> 100000

Yukarıda belirtilen kalite sınıflarına karşılık gelen suların, aşağıdaki su kullanım alanları için uygun olduğu kabul edilir.

Sınıf I (Yüksek kaliteli su)

- 1) Yalnız dezenfeksiyon ile içme suyu temini,
- 2) Rekreatiyonel amaçlar (yüzme gibi vücut teması gerektirenler dahil),
- 3) Alabalık üretimi,
- 4) Hayvan üretimi ve çiftlik ihtiyacı,
- 5) Diğer amaçlar.

Sınıf II (Az kirlenmiş su)

- 1) İleri veya uygun bir arıtma ile içme suyu temini,
- 2) Rekreatyoneel amaçlar,
- 3) Alabalık dışında balık üretimi,
- 4) Teknik Usuller Tebliği'nde verilmiş olan sulama suyu kalite kriterlerini sağlamak şartıyla sulama suyu olarak,
- 5) Sınıf I dışındaki diğer bütün kullanımlar.

Sınıf III (Kirlı su)

Gıda, tekstil gibi kaliteli su gerektiren endüstriler hariç olmak üzere uygun bir arıtmadan sonra endüstriyel su temininde kullanılabilir.

Sınıf IV (Çok kirlenmiş su)

Sınıf III için verilen kalite parametrelerinden daha düşük kalitede olan ve üst kalite sınıfına iyileştirilerek kullanılabilcek yüzeysel sulardır.

2.2. Atıksular

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 yüzeyaltı akışa dönüşmesi sonucunda gelen sulara atıksu denir [Resmi Gazete, 31.12.2004]. Bir ekosisteme giren çeşitli kirleticiler, özelliklerine göre üç sınıfta toplanabilir:

Bozunabilir kirleticiler: Kanalizasyon suyu gibi kompleks organik maddeler ve derece derece mikrobik bozunmaya uğrayan ölü organizmalardır. Bozunabilir

maddeler, aynı zamanda fiziksel bozunmaya ve çürümeye uğrayan maddeleri de içerir.

Bozunmayan maddeler : Biyolojik etkilere karşı inert yapıdadırlar. Bu grupta inorganik kimyasal maddeler (klorin vb.), ağır metaller ve bazı inatçı organik maddeler (PCB, DDT, vb.) yer almaktadır.

Biyolojik olarak biriken maddeler : Besin zincirinde birikmeye müsait maddelerdir. Bunlar arasında civa, kadmiyum, arsenik, kurşun, manganez, pestisidler ve radyoaktif izotoplar sayılabilir.

Şekil 2.1’de bir insanın endüstriyel ve kentsel aktiviteleri neticesinde deşarj ettiği kirleticilerin akıbeti gösterilmektedir. Çevreyi oluşturan toprak, su ve gaz fazları arasında sınırlar bulunmamaktadır. Bu nedenle bir fazda oluşan kirlenme, gelecekte başka bir faza da transfer olabilir [Arceivala, 2002].

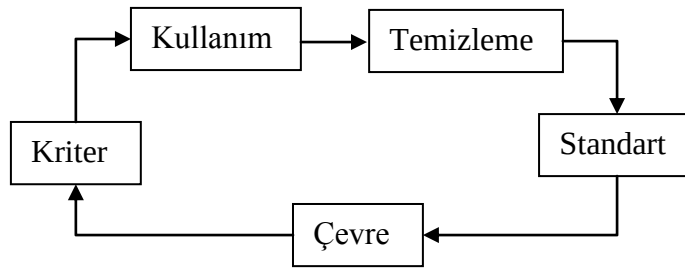
Su kirliliğinin en önemli etkenlerinden olan evsel ve endüstriyel atık suların arıtılması ile ilgili ülkemizdeki durum şöyledir;

- Endüstriyel işletmelerde arıtma tesisine sahip işletmeler sadece % 9’dur.
- Arıtma tesisi bulunmayan kuruluşlardan; özel sektörün oranı % 16 iken, kamu sektörünün oranı ise % 84’tür.
- Ülkemizde faaliyette bulunan organize sanayi bölgelerinden sadece % 14’ünde arıtma tesisi bulunmaktadır.
- Ülkemizdeki turistik tesislerin % 81’inde arıtma tesisi bulunmamaktadır.
- 3215 belediyenin bulunduğu ülkemizde 141 belediyede kanalizasyon sistemi vardır, bunun da sadece 43 tanesinde arıtma tesisi bulunmaktadır. Bir başka ifade ile kanalizasyon sularının % 98.67’si hiç arıtılmadan ırmaklara, göllere ve denizlere bırakılmaktadır.
- Endüstrinin ürettiği zehirli ve ağır metaller ihtiva eden atık suların sadece % 22’si arıtılmakta, % 78’i ise arıtmaksızın doğrudan göl, ırmak ve denizlere verilmektedir [Çevre ve Orman Bak., 2010].

benzeri atıkların boşaltımı,

- Gemi ve diğer deniz araçlarından kaynaklanan petrol türevli katı ve sıvı atıklar (sintine suyu, kirli balast, slaç, slop, yağ ve benzeri atıklar),
- Yukarıda sayılanların dışında kalan Tehlikeli ve Zararlı Maddeler Tebliğinde sınır değerler getirilen maddelerdir [Resmi Gazete, 31.12.2004].

Dünyada su kaynakları sınırlı olduğundan, kullanılan su belli bir arıtım işleminden geçirildikten sonra çevreye bırakılırsa tekrar kullanımı mümkün olabilecektir. Örneğin, nehirden alınıp kullanılan su arıtma işleminden sonra nehre bırakılmalıdır. Buna göre, kalite kriteri ile standart arasındaki ilişki Şekil 2.2 de görüldüğü gibidir.



Şekil 2.2. Suyun kalite kriteri ile atık standartı arasındaki ilişki [Özbelge, 1992]

Atıksuda standartı belirtilmesi gerekli olan parametrelerden en önemlileri şunlardır:

- Biyolojik olarak bozunabilen çözülmüş organikler; aerobik ortamda bakterilerin yardımı ile oksitlenerek sudaki çözülmüş oksijenin azalmasına sebep olurlar.
- Sülfatlar; bakterilerin yardımı ile önce H_2S 'e ve daha sonra H_2SO_3 'e dönüşerek suyun pH değerini değiştirirler.
- Metaller; biyolojik aktiviteyi durdurarak uzun bir süre balık ve insanlarda toksik etki yaratırlar.
- Azot ve fosfor; suda istenmeyen tek hücreli bitkilerin (alg) büyümesini hızlandırır.

- Fenol, merkaptan, klor ve bileşikleri; suyun tadını ve kokusunu bozarak uzun bir süre insan sağlığına zarar verirler.
- Patojenik bakteriler; hastalık yaparlar.

Bahsedilen bu parametrelerin standartını saptarken, atıksuyun çevreye bırakılabilecek toplam kirletici miktarı kontrol edilmelidir. Ayrıca atıksuyun karışacağı dere, nehir, göl veya denizdeki seyreltilme derecesi ve atıksuyun karıştığı su kaynağının ne amaçlarla kullanılacağı da standartların saptanmasında düşünülmesi gereken faktörlerdir [Özbelge, 1992].

2.3.1. Evsel atıksular

Konutlardan ve okul, hastane, otel gibi küçük işletmelerden kaynaklanan, insanların günlük normal yaşam faaliyetlerindeki ihtiyaç ve kullanımları nedeniyle oluşan atıksuları evsel atıksularıdır [Resmi Gazete, 31.12.2004]. Evsel atıksular askıda, koloidal ve çözünmüş halde organik ve inorganik maddeler ihtiva eder. Atıksuyun derişimi, kullanılan suyun kirletilmeden önceki asıl derişimlerine ve suyun kullanılış gayesine bağlıdır. Gerek iklimsel şartlar, gerekse de insanların yaşam standartları ve kültürleri atıksu karakteristiğini önemli ölçüde etkiler [Arceivala, 2002].

2.3.2. Endüstriyel atıksular

Endüstri kuruluşlarından, imalathanelerden, atölyelerden, tamirhanelerden, küçük sanayi sitelerinden ve organize sanayi bölgelerinden kaynaklanan her türlü işlem ve yıkama artığı suları, proses suları ile karıştırılmadan ayrı olarak işlem görüp uzaklaştırılan kazan ve soğutma suları endüstriyel atıksularını ifade etmektedir [Resmi Gazete, 31.12.2004]. Endüstriyel atıksuların özellikleri, endüstriden endüstriye oldukça farklılıklar göstermektedir. Aynı daldaki endüstrilerde bile, kullanılan hammaddeler ve uygulanan proseslerin farklılığı, diğer birçok faktörle birlikte çıkan atık suyun yapısında farklılıklar oluşturmaktadır [Arceivala, 2002].

Yiyecek endüstrisi, indirgendikleri zaman nehirlerdeki çözünmüş oksijen miktarını düşüren organikleri daha çok içerir ve bu da balıkları ve sudaki hayatı olumsuz etkiler. Koku ve anaerobik ortam oluşabilir. Bazı besin endüstrileri sadece mevsimsel olarak çalışır ve genellikle katı atıklar üretirler.

İçecek endüstrisi atıkları, yiyecek endüstrisi ve evsel atıklara benzemekle birlikte çok yüksek BOİ değerleri içerebilir.

Yemek ve içecek endüstrisi atıkları bitkileri sulama suyu amacıyla kontrollü olarak kullanılabilir. Atıksuda katı madde miktarı ve renk problem olabilir. Biyolojik arıtma sırasında besin maddesi ilavesi gerekebilir.

Tekstil endüstrisindeki ana problemler boya bölümünden renk, işleme esnasında NaOH'dan kaynaklanan yüksek pH ve ani oynamalar görülmektedir. Makine yağları, yüksek BOİ, sülfidler ve Zn sektör çeşidine göre diğer kirletici parametrelerdir.

Kimya endüstrisi atıksularda ise yağ emisyonları, sülfid ve fenoller, makine yağları, katılar, yüksek pH, fosfatlar ve indirgenemeyen organikler içerebilirler. Tipik etkileri ise tat ve koku problemleri, zehirlenme olabilmektedir. Ayrıca termal kirlenmeye yol açabilir. Metal üretiminden kaynaklanan atıksuda Cr, Cd, CN- (siyanür) , Zn metal kirlilikleri görülebilir. Bazı metaller besi zincirinde kalırlar.

Tabakhanelerden kaynaklanan atıksuların tipik yapıları kıl, katı madde, çamur, BOİ, azot, Cr, Sülfid kirliliği, yüksek pH ve kokudur [Çevre ve Orman Bak., 2010b].

Endüstriyel atıksuların özellikleri, endüstriden endüstriye oldukça farklılıklar göstermektedir. Aynı daldaki endüstrilerde bile, kullanılan hammaddeler ve uygulanan proseslerin farklılığı, diğer birçok faktörle birlikte çıkan atık suyun yapısında farklılıklar oluşturmaktadır [Arceivala, 2002]. Çizelge 2.2.'de değişik endüstrilerin standartlarında önemli olan parametreler gösterilmektedir.

Çizelge 2.2. Endüstriyel atık standartlarını oluşturan parametreler [Özbelge, 1992]

	Otomobil	İçecekler	Konserve	Gübre	İnorganik Kimya	Organik Kimya	Et ürünleri	Metal endüstrisi	Plastik	Kağıt	Petrol rafinerisi	Çelik	Tekstil	Süt
BOİ ₅	X	X		X	X	X		X	X	X		X	X	
KOİ	X		X	X	X	X		X	X	X	X		X	X
TOK			X			X				X	X			X
TOİ					X									
pH		X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X
Toplam kat.	X				X									
Asılı katı	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Çökebilir katı		X					X							
Toplam çöz.katı		X	X	X	X	X	X		X	X	X		X	
Uçucu asılı katı									X					
Yağlar	X	X		X		X	X	X	X	X	X	X	X	
Ağır metaller						X		X		X			X	
Krom	X			X	X						X	X	X	
Bakır											X			
Nikel	X													
Demir	X			X	X						X	X		
Çinko	X			X					X		X	X		
Arsenik					X									
Civa				X	X									
Kurşun	X				X						X			
Kalay	X											X		
Kadmiyum	X													
Kalsiyum				X										
Flor				X	X									
Siyanür					X	X		X	X		X	X		
Klorür	X			X	X	X					X	X		X
Sülfat	X			X	X				X		X	X		
Amonyak	X			X		X	X		X	X	X	X		
Sodyum				X										
Silikatlar					X									
Sülfid									X					
Nitrat	X			X		X			X	X	X			X
Fosfor			X	X	X	X	X		X	X	X			X
Üre				X										
Renk	X	X				X			X	X		X	X	
T.Koliform		X					X			X				
F.koliform			X							X				
Zehirli madde		X					X		X	X	X		X	X
Sıcaklık		X	X	X	X						X	X	X	X
Türbidite		X					X			X	X			X

Çizelge 2.2. (Devam) Endüstriyel atık standartlarını oluşturan parametreler
[Özbelge, 1992]

Köpük		X												
Koku										X				
Fenoller	X					X			X	X	X	X	X	
Klorlu benzoller ve aromatikler				X				X						
Merkaptan									X	X	X			

2.4. Tekstil Boyarmaddeleri

Cisimlerin (elyaf, kumaş vb.) kendilerini renkli hale getirmede uygulanan maddelere boyarmadde denir. Bütün boyarmaddeler organik bileşiklerdir. Boyanacak cisimler boyarmadde ile devamlı ve dayanıklı bir şekilde birleşerek 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 İnandırıcı, 1990]

Boyarmaddeler, ya kimyasal yapılarına göre ya da boyama özelliklerine göre sınıflandırılırlar. En uygun sistem boyaların kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmasıdır. Çünkü bir grubu oluşturan boyalar belirli karakteristik özelliklere sahiptirler. Örneğin antrakinon boyaları dayanıksız ve pahalıdır. Ayrıca çok sayıda kimyasal grup vardır. En önemlisi ise, bu sınıflandırma sentetik boya kimyacıları ve boya teknolojilerinde oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Boyarmaddeler kimyasal yapılarına göre; azo, antrakinon, indigo, polimetin, arilkarbonyum, ftalosyanin, nitro ve sülfür boyaları olarak sınıflandırılabilirler. Bir boyacı her şeyden önce boyarmaddelerin boyama özellikleri bakımından hangi gruba girdiğiyle ilgilenir. Boyama özelliklerine göre boyarmaddeler şu şekilde sınıflandırılabilirler:

- ✓ Direkt boyarmaddeler
- ✓ Küpe boyarmaddeler

- ✓ Kükürt boyarmaddeler
- ✓ Azoik (Naftol AS) boyarmaddeler
- ✓ Reaktif boyarmaddeler
- ✓ Ingrain boyarmaddeler
- ✓ Oksidasyon boyarmaddeler
- ✓ Asit boyarmaddeler
- ✓ Bazik boyarmaddeler
- ✓ Mordan boyarmaddeler
- ✓ Krom boyarmaddeler
- ✓ Metal-kompleks boyarmaddeler
- ✓ Dispers boyarmaddeler
- ✓ Pigment boyarmaddeler [Özcan, 1978].

2.4.1. Metal-kompleks boyarmaddeler

Protein ve poliamid elyafın boyanmasında kullanılan bu sınıf boyarmaddeler, koordinasyon bileşikleridir. Yapıları bakımından krom, kobalt, bakır, demir, nikel gibi bazı metal iyonlarıyla kompleksleşmeye elverişli olan boyarmaddeler 130°C’de uygun pH’larda metal tuzu çözeltileriyle ısıtılarak metal kompleksi haline getirilirler. Bu boyarmaddelere premetalize boyarmaddeler de denir. Kimyasal yapıları bakımından krom boyarmaddeleriyle ilgili olmakla beraber, boyacı gözüyle asit boyarmaddelere benzediklerinden “Colour Index”, bunları asit boyarmaddeler grubunda göstermiştir. Kompleks boyarmaddeler, yapıları ve boyama özellikleri bakımından iki farklı grup altında toplanırlar. Bunlar:

- Asidik ortamda boyayan 1:1’lik Metal-kompleks boyarmaddeler
- Nötral ortamda boyayan 1:2’lik Metal-kompleks boyarmaddeler

2.4.2. 1:1’lik Metal-kompleks boyarmaddeler

1915 yılında İsviçre’de CIBA, Almanya’da BASF firması sülfolanmış o.o’-dihidroksi azo boyarmaddelerini asidik ortamda krom (III) tuzlarıyla muamele

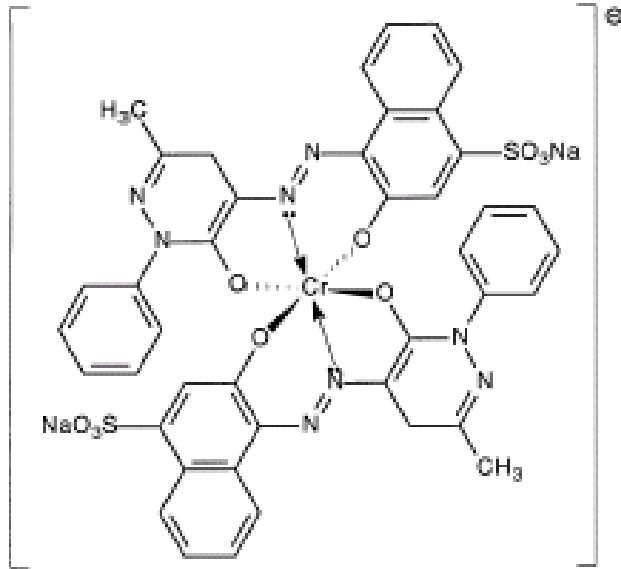
ederek, bunların krom-komplekslerini elde etmiş ve CIBA firması Neolan, BASF firması Palatinecht adı altında piyasaya çıkarmıştır.

Suda çözünebilen bileşikler olan bu boyarmaddelerde bir krom (III) iyonuna karşılık bir boyarmadde molekülü bulunduğundan bunlara 1:1'lik metal-kompleks boyarmaddeler dendiği gibi, sülfürik asitli banyoda pH 2 civarında yüne uygulandıkları için asidik ortamda boyayan premetalize boyarmaddeler de denir. Kolay egalize olmaları ve haslıklarının yüksek olması nedeniyle kumaş boyamada tercih edilirler [Özcan, 1978]. 1:1'lik metal kompleksler suda çözündürücü grup olarak bir veya iki sülfonik grubu taşırlar [Başer ve İnandırıcı, 1990]. 1:1 metal kompleks boyarmaddeleri, deri yüzeyinde homojen boyama yaparlar ve ışık haslıkları çok iyidir. [Hunger, 2003]. Asidik ortamda boyama yapan 1:1'lik metal-kompleks boyarmaddeler, boyama ortamının fazla asitli olması nedeniyle kumaşın dayanıklılığını azalttığından kullanılma alanları sınırlıdır.

2.4.3. 1:2'lik metal-kompleks boyarmaddeler

1:1'lik metal-kompleks boyarmaddelerden uzun bir süre sonra 1950-1951 yıllarında CIBA ve GEIGY firmaları, bir metal iyonuna karşı iki boyarmadde molekülü içeren ve bu nedenle de 1:2'lik metal-kompleksler denilen Cibalan ve Irgalan serilerini piyasaya çıkarmıştır. Kompleksi oluşturan boyarmadde moleküllerinin her ikisi de aynı olabildiği gibi farklı da olabilir. Her ikisinin aynı olduğu simetrik kompleksler daha stabildir. Molekülün kompleks kısmı negatif yüklü olup, bu boyarmaddeler kuvvetli anorganik asitlerin sodyum tuzlarıdır. [Özcan, 1978]. En önemli metaller krom, kobalt, bakır, demir ve nikeldir. Nikel kompleksleri, öncelikle organik pigmentlerde yaygın bir öneme sahiptir. Tekstil elyafı için istenen teknik özellikleri, sadece krom, kobalt ve bakır kompleks boyarmaddeler verirler. Krom ve kobalt kompleks boyarmaddeler ile boyama sonucunda mat bir renk elde edilir, fakat haslık standartları özellikle de ışık haslığı son derece yüksektir [Hunger, 2003]. 1:2 'lik metal kompleks boyarmaddelerin boyama özellikleri çok iyidir. Çünkü molekülün büyük olması nedeniyle Van der Waals kuvvetleri etkin olduğundan boyama hızı

yavaş, yaş haslıkları yüksektir. Bazıları ile çok düzgün boyama yapılabilir. Sıkı dokunmuş materyale bile iyi nüfuz ederler ve elyaf karakterindeki değişikliklerden etkilenmezler. 50 °C’de çözeltide kümeleşmiş olmaları, suda şişmiş elyaftan çıkarak tekrar çözeltiye geçmelerini önler. Bunun için yıkama ve dinkleme haslıkları yüksektir. 1:2 metal kompleksler üretimin her basamağında yüne uygulanabilmektedir. Bu boyarmaddelerle nötral veya zayıf asidik (pH 5,5-7) ortamda boyama yapıldığından, boyamanın başarılı olması için pH dikkatle kontrol edilmelidir. Şekil 2.3 bu çalışmada kullanılan, krom içeren C.I. Violet 90 1:2 metal-kompleks boyarmaddesinin formülünü göstermektedir.



Şekil 2.3. C.I.Violet 90 boyarmaddesinin kimyasal formülü [Blackburn ve Burkinshaw, 2002]

Acid Violet 90 boyarmaddesinin naylon, asetat ipeği, polyester, pamuk, akrilik ve yün kumaşa boyandıktan sonraki yıkama haslık değerleri 5 üzerinden 5’tir. Ayrıca ışık haslığı 8 üzerinden 6’dır. Kumaşa boyama aşaması sırasında ek bir kimyasal ihtiyacı yoktur [Blackburn ve Burkinshaw, 2002]. Bu boyarmadde ile ilgili bazı özellikler aşağıdaki gibidir.

Color İndeks adı: Acid Violet 90

Molekül formülü: $C_{40}H_{27}CrN_8O_{10}S_2Na_2$

Boyama özelliklerine göre: 1:2 metal-kompleks boyarmaddesi

Kimyasal yapısına göre: Azo grubu boyarmadde

Kimyasal yapıdaki metal: Krom

Boyama pH'ı: 5

2.5. Tekstil Endüstrisi Atıksuları

Tekstil endüstrileri yaş dokuma prosesleri için çok büyük miktarlarda su ve kimyasal tüketmektedirler. Gerek boyamada gerekse diğer işlemlerde kullanılan bu organik ve inorganik formdaki bileşiklerin çeşitliliğine bağlı olarak, ortaya çıkan atıksuların özellikleri de farklı olmaktadır. Alıcı sulara verilen renkli atıksular su ortamındaki ışık geçirgenliğini azaltır ve fotosentetik aktiviteyi olumsuz yönde etkiler. Ayrıca boyarmaddelerin bazı sucul organizmalarda birikmesi toksik ve kanserojenik ürünlerin meydana gelme riskini de beraberinde getirmektedir. Bu bağlamda boyarmadde içeren tekstil endüstrisi atıksularının renk giderim prosesleri ekolojik açıdan önem kazanmaktadır [Kocaer ve Alkan, 2002]. Boyalar, anyonik (direkt, asit ve reaktif boyarmaddeler), katyonik (bazik boyarmaddeler) ve noniyonik (dispers boyarmaddeler) olarak sınıflandırılmaktadırlar. Anyonik ve noniyonik boyarmaddedeki kromoforların çoğu azo grubu ya da antrakininon tipindedir. Azo bağlarının indirgeyici kısmı atıksudaki toksik aminleri oluşturur. Antrakininon bazlı boyalar aromatik yapıları nedeniyle bozunmaya karşı dirençlidirler ve uzun bir süre atıksudaki renklerini korurlar [Aksu, 2005; Fu ve Viraraghavan, 2001].

Tekstil endüstrisinde boyama işlemi kumaşa renk vermek için yapılır. Boyalı atıksuların karakterizasyonu, boyaların kimyasal yapısındaki farklılıklardan ve boyama prosesinin değişim göstermesi nedeniyle oldukça zordur. Çizelge 2.3 de farklı boyaların kullanıldığı ve farklı elyafların boyandığı boyahane atıksularının karakterizasyonuna ilişkin bazı değerler görülmektedir [Correia ve ark., 1994].

Boyarmaddeler genellikle iki ana bileşenden oluşan küçük moleküllerdir: rengi veren kromofor ve boyayı ipliğe bağlayan fonksiyonel grup. Literatürde kimyasal yapısına göre veya uygulandığı ipliğin tipine göre sınıflandırılmış yüzlerce çeşit boya mevcuttur. Boyanın iplik üzerine adsorbe olması tekstil ipliğine ve boyanın tipine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Adsorbsiyonun derecesi zaman, sıcaklık, pH ve yardımcı kimyasallar gibi çeşitli faktörlerin de etkisi altındadır.

Çizelge 2.4. boyama prosesi çıkış sularında boyarmaddeler haricinde çok sayıda farklı bileşiklerin de bulunabileceğini göstermektedir. Tek bir boyama işlemi için farklı kimyasal sınıftaki boyar maddelerin birlikte kullanılabilir olması çıkış suyu bileşimini daha da karmaşık hale getirmektedir [Kocaer ve Alkan, 2002].

Çizelge 2.3. Boyama atıksularının karakteristikleri

Boya türü	Elyaf çeşidi	Renk ADMI	BOİ, mg/l	TOK, mg/l	AKM, mg/l	ÇKM, mg/l	pH
Asit	Poliamid	4000	240	315	14	2028	5,1
1:2 Metal Kompleks	Poliamid	370	570	400	5	3945	6,8
Bazik	Akrilik	5600	210	255	13	1469	4,5
Direkt	Viskoz	12500	15	140	26	2669	6,6
Reaktif, (kesikli sis.)	Pamuklu	3890	0	150	32	12500	11,2
Reaktif, (sürekli sis.)	Pamuklu	1390	102	230	9	691	9,1
Vat	Pamuklu	1910	294	265	41	3945	11,8
Dispers, yüksek sıcaklıkta	Polyester	1245	198	360	76	1700	10,2

ADMI: Amerikan Boya İmalatçıları Enstitüsü renk birimi.

BOİ: Biyolojik Oksijen İhtiyacı, TOK: Toplam Organik Karbon

AKM: Askıda Katı Madde, ÇKM: Çözülmüş Katı Madde

Bunların yanı sıra tekstil atıksularında, boyarmadde molekülünün metalik kısmından (asit boyarmaddelerden krom yada direk boyarmaddelerden kobalt gibi) yada boyama proseslerinde kullanılan kimyasallardan kaynaklı ağır metaller bulunabilmektedir. Boyama prosesinde metal içermeyen boyarmaddeler kullanıldığı zaman atıksudaki ağır metal içeriği az olmakta, ancak metal içeren boyarmaddeler

kullanıldığında yada metal tuzu içeren ortamda boyama yapan boyarmaddeler kullanıldığında ortamdaki metal oranı daha yüksek olmaktadır. Çizelge 2.5 elyafın cinsine bağlı olarak kullanılan boyarmadde sınıfına göre boyama atıksuyunda bulunabilecek metalleri ve derişimlerini göstermektedir [Correia ve ark., 1994; Horning, 1978].

Boyama prosesi çıkış sularındaki kimyasal yük, prosesin kimyasının yanı sıra boyama işleminin kesikli ya da sürekli olmasına bağlı olarak da farklılıklar göstermektedir [Kocaer ve Alkan, 2002]. Ayrıca Çizelge 2.6 Türkiye’de Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğinde “Dokunmuş Kumaş Terbiyesi” çıkış atık sularının alıcı ortama deşarj standartlarını göstermektedir.

Çizelge 2.4. Boyama prosesinde en sık kullanılan yardımcı kimyasallar [Correia ve ark., 1994].

Kimyasal Madde	Bileşim	Fonksiyon
Tuzlar	Sodyum klorür Sodyum sülfat	Elyafın zeta potansiyelini nötralize edici, yavaşlatıcı
Asitler	Asetik asit Sülfürik asit	pH kontrolü
Bazlar	Sodyum hidroksit Sodyum karbonat	pH kontrolü
Tamponlar	Fosfat	pH kontrolü
Kompleks yapıcılar	EDTA	Kompleks yapma, yavaşlatıcı
Dispers edici/düzgünleştirici ve yüzey aktif maddeler	Anyonik, katyonik ve noniyonik	Boyaları dağıtma, boya uygulamasını düzene sokma
Okside edici maddeler	Hidrojen peroksit Sodyum nitrit	Boyaları çözünemez yapma
İndirgeyici maddeler	Sodyum hidrosülfıt Sodyum sülfıt	Boyaları çözünebilir yapma, reaksiyona girmemiş boyanın uzaklaştırılması
Taşıyıcılar	Fenil fenoller Klorlu benzenler	Adsorbsiyonun arttırılması

Çizelge 2.5. Boyama atıksularındaki metal içeriği

Boyarmadde türü	Elyaf tipi	Kadmiyum (mg/L)	Krom (mg/L)	Bakır (mg/L)	Kurşun (mg/L)	Civa (µg/L)	Çinko (mg/L)
Asit	Rayon	0,02	0,27	0,05	0,25	0,6	1,41
	Poliyamid	0,02	0,08	1,43	0,21	0,38	1,39
	Yün	0,04	0,11	0,07	0,22	0,48	3,43
Metal içeren asit	Poliyamid	0,02	0,85	0,48	0,12	1,23	1,78
Bazık	Yün	7,5	0,21	0,05	0,1	1,53	3,1
	Akrilik	0,03	0,03	0,09	0,12	0,39	1,06
	Polyester	0,05	0,05	0,05	0,26	0,43	0,46
Direkt	Pamuk	0,16	0,07	12,05	0,42	1,39	0,87
	Viskoz	0,18	2,71	8,52	1,95	0,5	1,32
Reaktif	Pamuk	0,2	0,12	0,23	0,54	0,62	0,65
Azo	Pamuk	0,02	0,05	0,06	0,16	1,12	2,02
Kükürt	Pamuk	0,01	0,08	0,08	0,28	1,15	0,54
Vat	Pamuk	0,05	0,07	0,37	0,42	2,2	0,83
Dispers	Poliyamid	0,02	0,03	0,04	0,08	0,27	1,06
	Polyester	0,05	0,1	0,16	0,18	0,99	1,53
	Triasetat	0,02	0,14	0,08	0,15	0,58	1,0
Direkt + Dispers	Pamuk + Polyester	0,05	0,04	1,83	0,2	0,79	0,46

Çizelge 2.6. Sektör: Tekstil sanayii (Dokunmuş kumaş terbiyesi ve benzerlerinin alıcı ortama deşarj standartları) [Resmi Gazete, 31.12.2004]

PARAMETRE	BİRİM	KOMPOZİT NUMUNE 2 SAATLİK	KOMPOZİT NUMUNE 24 SAATLİK
Kimyasal Oksijen İhtiyacı (KOİ)	(mg/L)	400	300
Askıda Katı Madde(AKM)	(mg/L)	140	100
Amonyum Azotu (NH ₄ -N)	(mg/L)	5	-
Serbest Klor	(mg/L)	0,3	-
Toplam Krom	(mg/L)	2	1
Sülfür (S ⁻²)	(mg/L)	0,1	-
Sülfıt	(mg/L)	1	-
Fenol	(mg/L)	1	0,5
Balık Biyodeneyi (ZSF)	-	4	3
pH	-	6-9	6-9

2.6. Tekstil Boyarmadde Atıksularının Arıtım Yöntemleri

Tekstil endüstrisi atıksularında yer alan boyarmaddelerin ve ağır metal iyonlarının uzaklaştırılmasında çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır.

2.6.1. Fiziksel yöntemler

Adsorpsiyon

Boyarmadde içeren tekstil atıksularının arıtımında yaygın olarak kullanılan verimli bir yöntemdir. Adsorbsiyonla renk gideriminde en çok kullanılan yöntem aktif karbon yöntemidir. Aktif karbonla renk giderimi özellikle katyonik, mordant ve asit boyalar için etkiliyken, dispers, direkt, vat, pigment ve reaktif boyalar için daha az bir renk giderimi sözkonusudur. Rejenerasyon ve tekrar kullanım performansta azalmaya neden olur ve pahalı bir malzemedir [Robinson ve ark., 2001]. Bu nedenle son yıllarda yapılan araştırmalar, kil, bentonit, silika, uçucu kül, tarımsal atıklar, mısır koçanı gibi düşük maliyetli, daha bol ve kolay bulunabilen sorbentler üzerinedir. Düşük maliyetli adsorbentlerin dezavantajı ise düşük adsorpsiyon kapasitesine sahip olmaları nedeni ile çok büyük miktarlara ihtiyaç duyulmasıdır [Fu ve Viraraghavan, 2001].

Membran Filtrasyonu

Bu yöntemle boyarmaddenin sürekli olarak arıtılması, konsantre edilmesi ve en önemlisi atıksudan ayrılması mümkün olmaktadır. Diğer yöntemlere göre en önemli üstünlüğü sistemin sıcaklığa, beklenmedik bir kimyasal çevreye ve mikrobiyal aktiviteye karşı dirençli olmasıdır. Ters osmoz membranları çoğu iyonik türler için % 90'nın üzerinde verim gösterir ve yüksek kalitede bir geçirgenlik sağlar. Boya banyoları çıkış sularındaki boyarmaddeler ve yardımcı kimyasallar tek bir basamakta giderilmiş olur. Ancak yüksek ozmotik basınç farklılığı ters osmoz uygulamalarını

sınırlandırmaktadır. Nanofiltrasyon membranları negatif yüzeysel yüklerinden dolayı iyon seçicidirler [Kocaer ve Alkan, 2002].

İyon Değişimi

Boyarmadde içeren atıksuların arıtılmasında iyon değiştiricilerin kullanılması henüz yeterince yaygın değildir. Bunun ana nedeni, iyon değiştiricilerle arıtılarak olumlu sonuç alınan boya sınıfının kısıtlı olduğu düşüncesidir. Yöntemde, atıksu, mevcut değişim bölgeleri doygunluğa erişene kadar iyon değiştirici reçineler üzerinden geçer. Bu şekilde, boyar madde içeren atıksulardaki hem katyonik hem de anyonik boyalar uzaklaştırılabilmektedir. Yöntemin avantajları, rejenerasyonla adsorban kaybının bulunmaması, çözücünün kullanıldıktan sonra iyileştirilebilmesi ve çözünebilir boyaların etkin şekilde giderilebilmesidir. En büyük dezavantaj ise kuşkusuz yöntemin maliyetidir. Organik çözücüler oldukça pahalıdır. Ayrıca iyon değişimi metodu dispers boyalar için pek etkili değildir.

Işınlama

Radyasyonla organik maddelerin parçalanması için yeterli miktarda çözünmüş oksijene gereksinim vardır. Çözünmüş oksijen çok hızlı bir şekilde tüketilmektedir ve bu nedenle yeterli miktarı sabit bir şekilde verilmelidir. Bu metot bazı boyaların ve fenolik moleküllerin, verimli bir şekilde okside olabileceği sadece laboratuvar koşullarında gözlenmiştir.

2.6.2. Kimyasal yöntemler

Tekstil atıksularının kimyasal yöntemlerle arıtılması uzun yıllardan beri en çok rağbet gören yöntem olmuştur. Bunun en büyük nedeni şüphesiz atıksu kalitesinde meydana gelen değişikliklerin kullanılan kimyasalda veya uygulanan dozda yapılan değişikliklerle kolayca tolere edilebilir olmasıdır. Tekstil endüstrisi atıksularının

arıtımında en yaygın olarak kullanılan kimyasal yöntemler oksidasyon yöntemleri, kimyasal çöktürme ve topaklanma yöntemi ve cucurbituril ile arıtmıdır.

Oksidasyon

Oksidasyon kimyasal yöntemler içinde en yaygın olarak kullanılan renk giderme yöntemidir. Bunun en büyük nedeni uygulanmasının basit oluşudur. Kimyasal oksidasyon sonucu boya molekülündeki aromatik halka kırılarak atıksudaki boyar madde giderilir. Bu yöntem fenton ayırıcı, ozon, fotokimyasal yöntem, sodyum hipoklorit ve elektrokimyasal yöntemi içermektedir [Robinson ve ark., 2001].

Fenton ayırıcı (Fe(II) tuzlarıyla aktive edilmiş hidrojen peroksit) biyolojik arıtmayı inhibe edici ya da toksik atıksuların oksidasyonu için çok uygundur. Atıksuların fenton ayırıcı ile arıtılmasında renk yok edildiği gibi adsorbe olabilir organohalidler de giderilebilmektedir. Ayrıca, metal-kompleks türündeki boyalardan kaynaklanan ağır metaller, demir oksitlerle birlikte nötralizasyon basamağında çöktürülebilmektedir. KOİ, renk ve toksisite giderimi gibi avantajları yanında prosesin bazı dezavantajları da mevcuttur: Proses floklaşma işlemini de içerdiği için atıksudaki kirleticiler çamura transfer olurlar ve çamur problemi ortaya çıkar.

Ozonlama ile dikkate değer boyutlarda renk giderimi sağlanabilmektedir. Ozonlama sonucu elde edilen renk giderimi boyanın cinsine göre farklılık göstermektedir. Yapılan bir çalışmada 30 dakikalık bir zaman süresince ozonlanan azoik, dispers/sülfür ve reaktif boya içeren atıksularda başarılı bir renk giderimi sağlanırken, vat boyarmaddesi içeren atıksu için aynı başarıyı gösterememiş ve renk giderimi %50 ile sınırlı kalmıştır. Yüksek kararsızlığına bağlı olarak oldukça iyi bir yükseltgen olan ozon aynı zamanda tekstil yaşı proseslerinden kaynaklanan atıksularda bulunan yüzey aktif maddeler ve taşıyıcılar gibi diğer kirleticilerin giderilmesine de yardımcı olmaktadır. Ozonla oksidasyon, klorlu hidrokarbonların, fenollerin, pestisitlerin ve aromatik hidrokarbonların parçalanmasında da oldukça etkilidir [Kocaer ve Alkan, 2002]. Yarı ömrünün kısa oluşu (tipik olarak 20 dakika)

ozonlamanın en büyük dezavantajıdır. Alkali şartlarda ozonun bozunması hız kazandığı için atıksuyun pH'ı dikkatle izlenmelidir. Ozonlama yönteminin diğer bir dezavantajı kısa yarı ömrüne bağlı olarak ozonlamanın sürekli olması gerekliliği ve yüksek maliyettir [Robinson ve ark., 2001].

Fotokimyasal yöntem boya moleküllerini, hidrojen peroksit varlığında UV radyasyonu ile CO₂ ve H₂O'a dönüştürür. Parçalanma yüksek derişimlerdeki hidroksil radikallerinin oluşmasıyla meydana gelir. Yani, UV ışığı hidrojen peroksiti aktive ederek iki hidroksil radikale parçalanmasını sağlar.



Böylece organik maddenin kimyasal oksidasyonu gerçekleşir. Fotokimyasal yöntemlerde UV radyasyonu genellikle civa ark lambalarıyla sağlanmaktadır. Boya içeren atıksuların fotokimyasal yöntemlerle arıtılmasının en önemli avantajı atık çamur oluşmaması ve kötü kokulara neden olan organiklerin önemli derecede azaltılmasıdır [Kocaer ve Alkan, 2002].

Renkli atıksuların kimyasal oksidasyonu klorlu bileşiklerle de mümkündür. Bu metodda, Cl⁺ ile boya molekülünün amino grubuna etki eder ve azo bağının kırılmasını sağlar. Klor derişimindeki artışla birlikte renk giderimi de artar. Sodyum hipoklorit ile renk giderimi asit ve direkt boyalar için tatmin edici sonuçlar vermektedir. Reaktif boyaların arıtımı için ise daha uzun zamana ihtiyaç vardır. Metal kompleks boya çözeltileri arıtmadan sonra kısmen renkli kalırken dispers boya çözeltilerinde NaOCl ile renk giderimi gerçekleşmez [Slokar ve Marechal, 1998]. Elektrokimyasal bir reaksiyonda yük, elektrot ile iletken sıvı içindeki reaktif türler arasındaki arayüzeyde transfer olur. Elektrokimyasal bir reaktör bir anot, bir katot, bir iletken elektrolit ve güç kaynağından oluşmaktadır. Katotta yük reaksiyona giren türlere geçerek oksidasyon durumunda azalmaya neden olur. Anotta ise yük reaktif türlerden elektrotta geçerek oksidasyon durumunu artırır. Oksidasyon durumundaki değişimler türlerin kimyasal özelliklerinin ve formlarının değişmesine yol açar.

Boya gideriminde etkili bir şekilde kullanılabilirliği açısından yöntem bazı önemli avantajlara sahiptir. Kimyasal madde tüketimi çok azdır veya yoktur ve çamur oluşumu söz konusu değildir. Oldukça etkili ve ekonomik bir boya giderimi sağlar, renk gideriminde ve dirençli kirleticilerin parçalanmasında yüksek verim gösterir. Organik bileşiklerin elektrokimyasal yöntemlerle arıtımında söz konusu bileşikler anot üzerinde su ve karbondioksit okside olmaktadır.

Kimyasal Floklaşma ve Çöktürme Yöntemi

Bu yöntemde floklaşma ve çökelme kimyasal maddeler yardımıyla sağlanır. Atıksuya katılan kimyasal maddeler yardımıyla meydana gelen floklaşma ile çözünmüş maddeler ve kolloidler giderilirler. En çok kullanılan kimyasallar arasında, $Al_2(SO_4)_3$, $FeCl_3$, $FeSO_4$ ve kireç sayılabilir [Kocaer ve Alkan, 2002].

Cucurbituril ile Arıtım

Cucurbituril glikoluril ve formaldehitten oluşan bir polimerdir. Şeklinin, cucurbitaceae bitki sınıfının bir üyesi olan balkabağına benzemesinden dolayı bu şekilde isimlendirilmiştir. Yapılan çalışmalar bileşiğin çeşitli tipteki tekstil boyları için oldukça iyi bir sorpsiyon kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir. Cucurbiturilin aromatik bileşiklerle kompleks oluşturduğu bilinmektedir ve reaktif boyların adsorbsiyonu için bu mekanizmanın geçerli olabileceği düşünülmektedir. Çoğu kimyasal yöntem gibi bu yöntemde de en büyük dezavantaj maliyettir [Robinson ve ark., 2001].

2.6.3. Biyolojik yöntemler

Biyolojik arıtım, endüstriyel proseslerden alıcı sistemlere transfer olan organikler için en önemli giderim prosesidir. Tekstil endüstrisi atıksuları için önerilen fiziksel ve kimyasal yöntemlerin yüksek maliyet gerektirmeleri ve her boya için kullanılamıyor olmaları [Kocaer ve Alkan, 2002], büyük miktarlarda çamur birikimi

[Aksu, 2005] uygulanmalarının sınırlı olmasına neden olmuştur. Son zamanlarda yapılan çalışmalar birçok boya türünü atıksudan giderebilme yeteneğine sahip bakteri, mantar, maya ve algleri içeren çok sayıda mikroorganizma türlerinin mevcudiyetini vurgulamış ve biyoteknolojik metodları ön plana çıkarmıştır.

Biyoparçalanma

Organik kirleticilerin parçalanarak doğada zararsız inert kimyasallara dönüşmesi, biyolojik arıtım ile çok sayıda ve değişik mikroorganizmalarla gerçekleştirilebilmektedir. Bu mikroorganizmalar genel olarak aerobik, anaerobik ve fakültatif olarak sınıflandırılabilirler. Yeterli oksijen varlığında bu mikroorganizmalar yaşamlarını sürdürebilmek için atıksu içindeki kirleticilere ek olarak moleküler oksijene gereksinim duyarlar. Yeterli oksijen varlığında bu mikroorganizmalar organik kirleticileri CO_2 , su inorganik maddeler ve mikroorganizma kütesine dönüştürür. Kirleticilerin fazla olması ve yeterli oksijen sağlanmaması durumunda biyolojik parçalanma anaerobik (havasız) mikroorganizmalar tarafından daha yavaş olarak gerçekleştirilir ve inorganik madde, CO_2 , H_2O ve mikroorganizmaya ek olarak CH_4 ve H_2S üretilir. Fakültatif mikroorganizmalar ise biyolojik aktivitelerini hem havalı hem de havasız ortamlarda sürdürebilirler [Tanyolaç, 1992].

Aerobik arıtma işlemi, genellikle suda çözünen boyarmaddeleri içeren atıksuların renginin giderilmesinde yeterince etkin değildir [Doble ve Kumar, 2005]. Azo boyarmaddeler gibi sentetik boyarmaddelerin aerobik şartlar altında mikrobiyal parçalanmaya dirençli olmasının nedeni boya malzemelerinin, kimyasal ve ışık kaynaklı oksidatif etkiler sonucu renklerinin solmamasını sağlayacak şekilde sentezlenmeleridir. Boyarmaddelerin aerobik biyoparçalanmasını zorlaştıran diğer bir faktör ise molekül ağırlıklarının yüksek olması nedeniyle biyolojik hücre zarından geçişlerinin zor olmasıdır. Ancak bazı bakteri türleri ile aerobik ortamda, bazı boyarmaddelerin parçalanabileceğini belirten çalışmalar mevcuttur [Kocaer ve Alkan, 2002]. Anaerobik koşullar altında, birçok bakteri türü, boyarmadde

molekülündeki azo bağıını indirgemekte ve renksiz olan aromatik aminlerin oluşmasına yol açmaktadır. Anaerobik olarak daha fazla parçalanamayan bu aromatik amin bileşikleri sitotoksik (hücresinin ölümüne yol açan), kanserojen ve mutajeniktir. Bu nedenle anaerobik ve aerobik sistemler tek başına yeterli olmayıp, anaerobik arıtım aerobik arıtmıdan önce yapılması gereken bir ön arıtım olmalıdır. Anaerobik parçalanma ile oluşan aromatik aminler, aromatik bileşiğin halkasının açılması ve hidroksilasyonla aerobik ortamda mineralize olabilmektedirler. Böylece, boyarmadde içeren atıksuların iki basamaklı anaerobik/aerobik proseslerde arıtılması ile, anaerobik basamakta etkili bir renk giderimi sağlanmakta ve oluşan aromatik aminlerin aerobik ortamda minerallerine ayrılması ile tamamen temizlenmektedir [Doble ve Kumar, 2005; Kocaer ve Alkan, 2002; Forgacs ve ark., 2004].

Biyosorpsiyon

Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle tarafından adsorpsiyonu veya küttele birikimi biyosorpsiyon olarak ifade edilmektedir. Ölü bakteriler, maya ve mantarlar boyar madde içeren atıksuların renginin giderilmesinde kullanılabilmektedir. Tekstil boyalarının kimyası geniş bir yelpazede değişiklik gösterdiği için mikroorganizmalarla olan etkileşimler boyanın kimyasına ve mikrobiyal kütlenin kimyasına dayanmaktadır. Bu nedenle kullanılan mikroorganizmanın cinsine ve boyaya bağlı olarak farklı bağlanma hızları ve kapasiteleri söz konusudur. Boyar madde içeren atıksu çok toksik olduğunda biyosorpsiyon avantajlı olmaktadır [Robinson ve ark., 2001]. Biyosorpsiyon, yüksek seçicilik ve verime sahip olması, maliyet etkili olması ve iyi giderim performansına sahip olması nedeni ile oldukça ilgi çekmektedir [Aksu, 2005].

Biyobirikim

Biyobirikim kirleticilerin canlı hücreler tarafından biriktirilmesi olarak tanımlanmaktadır. Birçok bakteri, küf, mantar ve maya türü atıksuların arıtılmasında kullanılmaktadır. Ökaryotik organizmalar arasında bulunan mayalar, biyokimyasal

ve fizyolojik deneyleri için önemli bir role sahiptirler [Muter ve ark., 2001]. Mayalar ucuz, kolayca bulunabilen, düşük pH değerlerinde boya biyobirikimi yapabilen bir biyokütle kaynağıdır [Aksu, 2003; Dönmez, 2002]. Bununla birlikte, maya hücreleri farklı çevre koşulları altında oldukça değişik çeşitlilikteki tekstil boyalarını biyobiriktirme yeteneğine sahiptir. Ancak boyalı atıksuların renginin giderilmesinde ve ağır metallerin uzaklaştırılmasında mayaların kullanımı üzerine yapılan çalışmalar çok azdır [Aksu, 2003; Aksu ve Dönmez, 2005]. Biyobirikim ile ilgili daha detaylı bilgi Bölüm 2.10.'da verilmiştir.

2.7. Ağır Metaller

Antik çağlarda, metallerin cevherleri işlenmeye başlandığından beri metaller insan faaliyetleri sonucu olarak doğal çevrimler dışında atmosfere, hidrosfere ve pedosfere yayılmaya başlamışlardır. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metalleri etkilerini bilmeden takı, silah, su borusu gibi çeşitli amaçlar için kullanmışlardır. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlanması ile endüstri bölgelerindeki ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmış ve ağır metal kirliliğinden kaynaklanan ilk tanımlanan zehirlenmeler Japonya'da ortaya çıkmıştır.

Ağır metal tanımı fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm^3 ten daha yüksek olan metaller için kullanılır. Bu gruba kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko olmak üzere 60 tan fazla metal dahildir. Bu elementler doğaları gereği yer kürede genellikle karbonat, oksit, silikat ve kükürt halinde kararlı bileşik olarak veya silikatlar içinde hapis olarak bulunurlar. Ağır metaller, su kaynaklarına, endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprağı ve dolayısı ile bileşimde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla geçerler. Sulara taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, sülfat, kükürt olarak katı bileşik oluşturarak su tabanına çöker ve bu bölgede zenginleşirler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı da suların ağır metal derişimi sürekli olarak yükselir.

Ağır metallerin çevreye yayılımının da etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir. Çizelge 2.7’de temel endüstrilerden atılan metal türleri genel olarak gösterilmiştir. Havaya atılan ağır metaller, sonuçta karaya ve buradan bitkiler ve besin zinciri yoluyla da hayvanlara ve insanlara ulaşırlar ve aynı zamanda hayvan ve insanlar tarafından havadan aerosol olarak veya toz halinde solunurlar. Ağır metaller endüstriyel atık suların içme sularına karışması yoluyla veya ağır metallerle kirlenmiş partiküllerin tozlaşması yoluyla da hayvan ve insanlar üzerinde etkin olurlar [Kahvecioğlu ve ark., 2003].

Çizelge 2.7. Atıksulara metal bırakan endüstriyel sektörler

Endüstri	Metaller	Bulunması muhtemel diğer maddeler
Maden prosesleri ¹	Kasyonlar: Cu, Zn, Pb, Mn, U... Anyonlar: Cr, As, Se, V,...	Fe, Al Sülfatlar, fosfatlar
Akım ile kaplama Prosesleri ¹	Cr, Ni, Cd, Zn	Fe, yüzey aktif maddeler
Metal işleme ¹	Cu, Zn, Mn	Fe, Al, yüzey aktif maddeler
Yanmış kömür güç kaynakları ¹	Cu, Cd, Mn, Zn,...	Fe, Al
Nükleer endüstri ¹	U, Th, Ra, Sr, Eu, Am,...	Fe
Özel prosesler ¹	Hg, Au ve değerli metaller	
Kağıt endüstrisi ²	Cr, Cu, Hg, Pb, Ni	
Petrokimya ²	Cd, Cr, Hg, Pb, Sn, Zn	
Klor-alkali üretimi ²	Cd, Cr, Hg, Pb, Sn, Zn	
Gübre sanayi ²	Cd, Cr,Cu, Hg, Pb, Ni, Zn	
Demir-çelik ²	Cd, Cr,Cu, Hg, Pb, Ni, Sn, Zn	
Enerji üretimi (termik) ²	Cd, Cr,Cu, Hg, Pb, Ni, Sn, Zn	

¹ [Kahvecioğlu ve ark., 2003]

² [Tanyolaç, 1992]

2.8. Krom

Atom numarası 24, atom ağırlığı 51,996 olan krom, periyodik tablonun VI-B grubunda bulunmaktadır. Krom, bileşiklerinde, 3d ve 4s orbitallerinde 6 elektronu kullanır ve (-2)'den (+6)'ya kadar değerlik alır. Bunlardan -1 ve -2 oksidasyon basamakları çok az bir öneme sahipken, +2, +3 ve +6 değerlikleri oldukça önemlidir ve yaygın olarak kullanılmaktadır. Kromun fiziksel özellikleri Çizelge 2.8'de özetlenmektedir [Kirk-Othmer, 1980].

Çizelge 2.8. Krom'un fiziksel özellikleri [Kirk-Othmer, 1980]

Atom numarası	24
Atom kütlesi	51,996 g./mol
Yoğunluk (20°C'de)	7,19 g./cm ³
Erime noktası	1875 °C
Kaynama noktası	2680 °C
Erime ısısı	13,4-14,6 kJ/mol
Buharlaşma gizli ısısı	320,6 kJ/mol
Özgül ısısı (25°C'de)	23,9 kJ/(mol.K) (0,46 kJ/kg.K)
Termal genleşme katsayısı (20°C'de)	6,2*10 ⁻⁶
Termal iletkenlik (20°C'de)	91 W/m.K
Elektrik direnci (20°C'de)	0,129 µΩ.m

Krom içeren atıksular başlıca şu endüstrilerden gelir : organik kimya, boya ve vernik, film ve fotoğraf, galvanometri ve elektrik, metal temizleme, kaplama ve elektrokaplama işlemleri, deri, metalurji, eczacılık, polisaj ve tekstil endüstrileri. Çizelge 2.9 krom(VI) içeren atıksu kaynaklarını ve derişimlerini göstermektedir. Endüstriyel atıkların içerdiği (III) değerlikli krom, bir atık arıtma prosesi olarak, (VI) değerlikli kromun kimyasal indirgenmesi basamağının bir sonucu olarak oluşabilir. Doğrudan krom (III) kullanan endüstriler ise cam, seramik, fotoğrafçılık, inorganik renk maddeleri, tekstil boyama ve tutkal üretimi endüstrileridir [Gökçay ve Sağ, 1992].

Çizelge 2.9. Krom(VI) içeren atıksu kaynakları ve içerdikleri krom derişimleri
[Gökçay ve Sağ, 1992]

Endüstriyel kaynak	Krom (VI) derişimi (mg/L)
Deri tabaklama	40
Soğutma kuleleri	10-60
Parlatma daldırma durulaması	1-6
Parlatma daldırma banyosu	20 000-75 000
Anod banyosu	15 000-52 000
Anod durulama	30-100
Kaplama	10 000-270 000
Elektrokaplama	140

İnsanlar kroma, soluma yoluyla, yeme, içme ve krom veya krom bileşikleri ile deri teması sonucu maruz kalmaktadırlar. Krom miktarı hava ve suda genellikle düşüktür. İçme suyunda, krom miktarı genellikle düşüktür fakat kontamine kuyu suları tehlikeli olan krom(VI); hegzavalent kromu içerebilirler. Çoğu insan için krom(III) içeren gıdayı yemek kromu yüksek miktarda alma yoludur, ayrıca krom(III) birçok sebze, meyve, et, maya ve tahılda doğal olarak bulunmaktadır. Gıda hazırlama ve depolamanın çeşitli yolları gıdanın krom içeriklerini değiştirebilir. Eğer gıda çelik tank veya kutularda depolanıyorsa, krom derişimi artabilir. Krom(III) insanlar için elzem bir besin ögesidir ve eksikliğinde kalp sorunları, metabolizma aksaklıkları ve diyabete sebep olabilir. Fakat çok fazla krom(III) alımı sağlık sorunlarına sebep olabilir. Örneğin deri döküntüleri.

Krom(VI) özellikle çelik ve tekstil endüstrisinde çalışan insanların sağlığı için bir tehlikedir. Ayrıca sigara içen kişilerde de kroma maruz kalma ihtimali daha da artmaktadır. Krom(VI)'ün çeşitli sağlık etkilerine neden olduğu bilinmektedir. Deri ürünlerinde bulunan bir bileşense, deri dökülmesi gibi alerjik reaksiyonlara neden olabilir. Eğer krom(VI) solunursa, burun tahrişlerine ve burun kanamalarına neden olabilir. Krom(VI)'ün neden olduğu diğer sağlık problemleri:

- Deri dökülmeleri
- Mide sorunları ve ülser

- Solunum problemleri
- Zayıflamış bağışıklık sistemi
- Böbrek ve karaciğer hasarları
- Genetik materyalde değişiklik
- Akciğer kanseri
- Ölüm

Kroma maruz kalma ile ilgili sağlık problemleri kromun oksidasyon durumuna bağlıdır. Krom (VI) formu toksiktir. Derideki (VI) değerlikli formunun ters etkileri ülserleşmeyi, deri iltihaplanmasını ve alerjik reaksiyonlarını içermektedir. Krom (VI) bileşiklerinin solunması ülserleşme ve nasal septumdaki mukoz membranların perforasyonu, yutak ve gırtlakta tahriş, astmatik bronşit, bronşların spazm şeklinde kasılması ve ödem gibi sorunlara neden olabilir. Solunumla ilgili belirtiler arasında öksürme ve hırıltı, nefesin çabuk kesilmesi, burun kaşıntısı yer almaktadır. [LENNTECH, 2010].

2.9. Ağır Metal Giderim Yöntemleri

Ağır metal iyonu içeren atıksuların arıtılması genelde işletmenin kapasitesine, atıksuyun debisi ve karakteristiklerine, işletmedeki arıtma tesisinde kullanılan yönteme ve malzemeye bağlıdır.

2.9.1. Kimyasal yöntemler

Ağır metal içeren atıksuların kimyasal arıtımı, temeli kimyasal olarak metal iyonunun çökebilen bir bileşiği şekline dönüştürülmesi prensibine dayanır [Gökçay ve Sağ, 1992]. Bu yöntem yaygın olarak kullanılmakla beraber sudaki ağır metal iyonlarını mg/L seviyesine kadar düşürmektedir [Ahluwalia, 2007].

İndirgeme Çökeltme Yöntemi

Bu yöntemle yüksek değerlikli metal, çökebilene bir şekline indirgendikten sonra, nötrale edilir. Böylece istenen metal ortamdan ayrılır. Bu yöntem, özellikle kromlu atıkların arıtımında kullanılır. Kromik asit veya kromat şeklinde olan krom (VI) iyonu, kükürt di oksit (SO_2), sodyum bisülfid (NaHSO_3), metabisülfid, hidrosülfid veya demir sülfat (FeSO_4) gibi indirgeyici bileşikler kullanılarak krom (III)'e indirgenir. İndirgeme bittikten sonra kireç sütü ile nötralizasyon yapılır ve krom (III) krom 3 hidroksit ($\text{Cr}(\text{OH})_3$) şeklinde çökeltir. Bu proses % 100 etkili değildir, artı kalan indirgenmemiş altı değerlikli krom miktarı, reaksiyon süresine, reaksiyon karışımının pH'ına, kullanılan indirgeyici madde tipine ve derişimine bağlıdır. Tepkimenin tamamlanması için pH 3 veya daha düşük olmalıdır.

Yükseltgeme Çökeltme Yöntemi

Bu yöntemde indirgenmiş metal, kararlı, yükseltgenmemiş ve çözünmeyen şekillerine dönüştürülür. Bu tür bir atık arıtma prosesinde birbirini izleyen üç basamak vardır ; havalandırma, çökeltme ve filtrasyon. Çöktürme havuzunda, yükseltgenmenin tamamlanması için gereken sürede tutulduktan sonra yükseltgenmiş metal filtre ile sudan ayrılır. Kolayca yükseltgenmeyen metaller için, yalnızca havalandırma genel olarak etkisizdir. Bu durumda söz konusu prosese kimyasal yükseltgeme basamağını da eklemek gerekir. Bu yöntem özellikle demir ve mangan içeren atıkların arıtımında kullanılır.

Nötralizasyon Çökeltme Yöntemi

Bu yöntemde ağır metallerin uzaklaştırılması için önce atık nötrale edilir ve sonra çökeltme ile metaller ayrılır. Krom (VI), bakır (II), çinko (II), nikel (II), kadmiyum (II) gibi ağır metal iyonları ortama kireç, soda ve/veya sodyum hidroksit katılarak hidroksitleri şeklinde çöktürülerek atıksudan uzaklaştırılır.

2.9.2. Fiziksel yöntemler

İyon Değişimi

Bu yöntem ağır metal iyonlarının, elektrostatik kuvvet ile fonksiyonel grup halinde katı yüzeyinde tutularak, ortamdaki farklı türdeki iyonlarla değiştirilme ilkesine dayanır. Bu amaçla iyon değiştirici reçineler kullanılır [Gökçay ve Sağ, 1992]. Atıksulardan ağır metallerin gideriminde yaygın olarak ve başarılı bir şekilde kullanılan diğer bir yöntemdir. Diğer metodlara göre pahalı olmasına karşılık, bu metodla, büyük hacimlerdeki atıksular ppb seviyesine kadar arıtılabilmektedir [Ahluwalia, 2007].

İyon değişimi ile kromat ve dikromatlar halinde bulunan altı değerlikli krom, anyon değiştirici reçineler kullanılarak uzaklaştırılır. Anyon değiştirici reçine sodyum hidroksit ile rejenere edilir. Oluşan sodyum kromat, iyon değiştirici reçineden yıkanarak ayrılır. Ayrılan sodyum kromat, kromik asiti geri kazanmak için bir katyon değiştirici reçineden geçirilir [Gökçay ve Sağ, 1992].

Adsorpsiyon

Adsorpsiyonda atıksudaki ağır metal iyonu seçici olarak bir katı adsorbent yüzeyindeki aktif gruplara çeşitli fiziksel ve kimyasal bağlarla tutunarak atıksudan ayrılır. Adsorpsiyon sahip olduğu büyük yüzey alanı ve poroz yapısından dolayı ağır metal iyonlarının adsorpsiyonunda da etkin olarak en çok kullanılan adsorbenttir. Ancak aktif karbonun yüksek maliyeti ve rejenerasyonunun zor olmasından dolayı, son yıllarda araştırmacılar, araştırmalarını daha ucuz ve etken adsorbentlerin araştırılması üzerine yoğunlaştırmışlardır. Uçucu kül, çeşitli silikatlar, çeşitli tarımsal atıklar (odun talaşı, pirinç kabuğu, pancar küspesi vb.) ağır metal gideriminde araştırılan yeni adsorbentlerdir [Gönen, 2006].

2.9.3. Biyolojik yöntemler

Biyosorpsiyon

Son yıllarda ağır metal içeren atıksuların artımında biyolojik yöntemler; etkili, pratik ve ekonomik olmaları nedeniyle geleneksel fiziksel ve kimyasal arıtım yöntemlerine tercih edilmekte ve bilimsel araştırmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır. Biyolojik süreçlerle metal arıtımı, özellikle mikropsal hücrelerle yapılan metal biyosorpsiyonu etkili ve alternatif bir teknoloji oluşturacak güçtedir. Metal biyosorpsiyonunda etkin olarak kullanılacak biyolojik moleküller oldukça geniş bir çeşitliliğe sahiptirler. Özellikle mikroorganizma grubu içerisinde alglerde dahil olmak üzere çeşitli bakteri, maya ve mantar türlerini saymak mümkündür. Ağır metallerin uzaklaştırımı ve metal biriktirme yetenekleri yönünden, bu sözü edilen organizma grupları arasında maya ve özellikle mantarlarla yapılan biyosorpsiyon çalışmaları daha verimli bulunmuştur. Metallerin biyolojik yöntemlerle uzaklaştırımı ve geri kazanımı, kullanılan klasik fiziksel-kimyasal arıtım yöntemlerine kıyasla ekonomik, pratik olması, yüksek verimlilik içermesi nedeniyle tercih edilmekte ve ilgili biyoteknolojik süreçlerde kullanılmaktadır [Sağlam ve Cihangir, 1995].

Biyobirikim

Tekstil, deri, deri işleme, elektro kaplama, metalurji ve daha pek çok endüstri dalında alıcı ortama bırakılan atıksular önemli seviyelerde toksik metal iyonlarını içermektedir. Mayaların, çözeltilerden metal iyonlarını çok hızlı biyobiriktirme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir. Bu konu ile ilgili detaylı bilgi Bölüm 2.10'da verilmiştir.

2.10. Biyobirikim

Biyobirikim, akışkan fazda çözünmüş halde bulunan belirli bileşenlerin aynı ortamdaki bir canlı hücre zarından geçerek, hücre içerisinde biriktirilmesi olayıdır.

Canlı hücrelerin ürettiği ortamdaki belirli bileşenlerin hücre içine alımı, hücre içi ve dışı derişim farkından dolayı oluşan yürütücü güç ile bu maddelerin hücre zarından geçerek, hücre içerisinde birikmesi şeklinde olmaktadır. Difüzyona sebep olan sürücü güç kimyasal potansiyel olarak adlandırılır ve bu durum, hücre dışındaki kimyasalı hücre içerisine hareket ettirir. Bu durum Gibbs serbest enerjisi ile ifade edilirse; $\Delta G = -RT \ln(C_{dış}/C_{iç})$ formülüne göre $C_{dış}$ derişimi her zaman büyük olacağından, bu işlemin sonucu daima eksi çıkacaktır. Yani ortamdaki maddelerin hücre zarından geçerek hücre içerisine girmeleri istemli bir durumdur. Canlı hücreler, bu maddelerin, ne kadar zehirli etkiye sahip olurlarla olsunlar hücre içerisine girmelerine engel olamamaktadır. Ayrıca hücre zarında bulunan ve besin maddelerini hücre yüzeyinden alıp hücre içerisine transfer eden çok sayıda transfer edici enzimlerin (transferaz enzimleri), besinlerle beraber bu maddelerin de hücre dışından hücre içerisine transferini gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Yani ortamdaki maddelerin hücre zarından kendiliğinden difüzyonu yanında, özellikle taşıyıcı enzimler yardımıyla kolaylaştırılmış difüzyon diye adlandırılan bu mekanizmayla da hücre içine alımı söz konusudur. Hücrenin toksik etkiye sahip ve dönüştüremediği bu maddeleri sitoplazma içerisindeki boşluklarda (vakuol) diğer hücre içi atıklarla beraber biriktirdiği düşünülmektedir. Hücre içerisine giren bu maddelerin bir kısmının ise yüklerine ve sitoplazmanın izoelektrik noktasına göre sitoplazmada yer alan bazı proteinlere veya yağ asitlerine bağlandığı varsayılmaktadır. Hücre içerisinde madde biyobirikimini etkileyen bir diğer faktör de o maddenin sudaki çözünürlüğü ile ilgilidir. Hidrofobik bir madde hücre içerisinde kalma eğilimindedir. Biyobirikimle ilgili önerilen bir başka mekanizma ise, hücre içerisine giren ve bir merkeze bağlanan maddenin dış ortamdaki aynı maddenin hücre içine aktarımını hızlandırdığı yönündedir [Macaskie, 1997; Macaskie ve ark., 1989; Ting, 1989; Kargı, 1993; Goodyear ve Mc Neill, 1999; Haritonidis ve ark., 1999; Aksu ve Dönmez, 2000; Dönmez ve Aksu, 2001; Açikel, 2003].

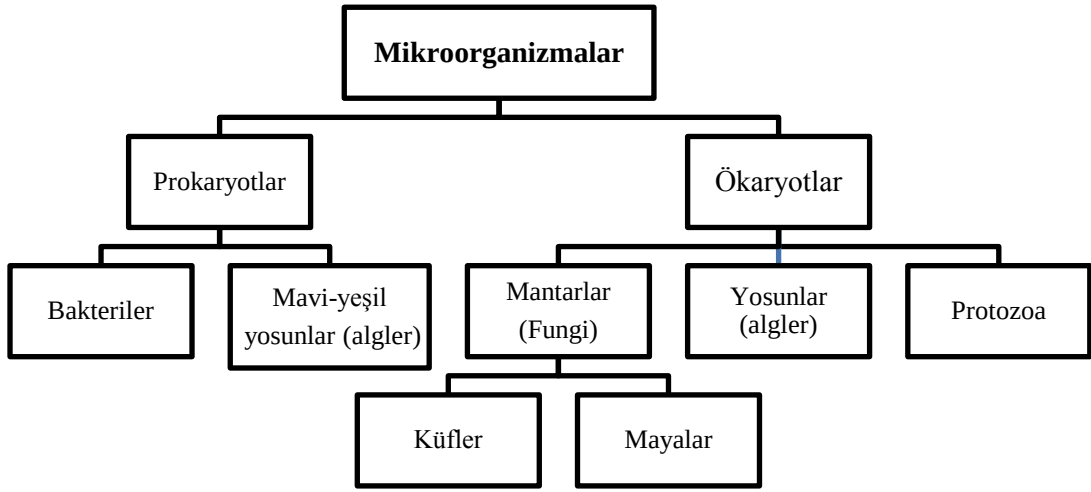
Canlı mikroorganizmalar, üreme ortamında karbon ve azot kaynağı olarak kullanabilecekleri besin maddelerini yeterli miktarda bulurlarsa, tekstil boyarmaddelerinin büyük bir kısmını biriktirebilirler. Biyobirikimde canlı hücreler

söz konusu olduğu zaman bazı kısıtlamalar bulunmaktadır. En önemli kısıtlama, ortamdaki boyarmadde derişimi yüksek olduğu zaman, hücre üremesinin engellenmesidir [Aksu, 2003; Aksu ve Dönmez, 2005]. Bunların yanı sıra, ortamdaki kirletici derişimi, hücre yaşı, üreme ortamının bileşimi, temas süresi, ortam pH'ı ve sıcaklığı da biyobirikimi etkileyen kısıtlamalardır [Wase,1997].

2.11. Mikroorganizmalar

Fermantasyon teknolojisinde ve buna bağımlı olarak da biyokimya mühendisliğinde kullanılan ana maddelerden biri kuşkusuz mikroorganizmalardır [Pekin, 1979]. Mikroorganizmaların bazıları insanlara yararlıyken bazıları zararlıdır. İnsanların, hayvanların ve bitkilerin maruz kaldığı pek çok hastalığın sebebi mikroorganizmalardır. Hayatımızı olumsuz etkileyenlerin yanısıra çoğu mikroorganizma türü peynir, yoğurt, ekmek, antibiyotikler ve çeşitli endüstriyel kimyasalların üretiminde rol oynarlar.

Fermantasyon ve atıksuların arıtılmasında kullanılan mikroorganizmalar (Şekil 2.4) genel olarak prokaryotik (prokaryotic) ve ökaryotik (eucaryotic) olmak üzere iki sınıfa ayrılmaktadır. Prokaryotic mikroorganizmalar bakteri ve mavi-yeşil yosunları (algleri) içeren oldukça küçük ve basit mikroorganizmalardır. Çekirdek çevresinde membrane içermeyen bu sınıf mikroorganizmaların boyutları 0,5-3,0 µm arasındadır. Prokaryotların üremeleri çok hızlıdır ve tabiatda çok yaygın olarak bulunurlar. Kullandıkları substratların çeşitliliği ve hızlı üremeleri prokaryotları biyolojik araştırmalar ve biyokimyasal prosesler için çekici kılmaktadır. Mantarlar (mayalar ve küfler), yosunlar (algler), protozoa, hayvan ve bitki hücreleri ökaryotik hücrelerdir. Ökaryotları prokaryotlardan ayıran en önemli fark ökaryotlarda hücre çekirdeğinin çevresinde membrane olmasıdır. Ökaryotların boyutları prokaryotlardan 5-10 kez daha büyüktür [Türker, 2005].



Şekil 2.4. Fermantasyon ve atıksuların arıtılmasında kullanılan mikroorganizmaların sınıflandırılması [Türker, 2005]

2.11.1. Bakteriler

Prokaryotlar sınıfında olup tek hücrelidirler ve bölünerek çoğalırlar. Boyutları genel olarak 0,5-20 μm uzunluk ve 0,2-4 μm çapındadırlar. İnce ipliksi bir ağ örgüsü halinde görünen çekirdeği doğrudan doğruya stoplazma ile sınırlanmış olup çomak (basiller), sarmal (spiriller) ve küresel (koklar) olmak üzere üç ana şekilde bulunurlar [Pekin, 1979]. Bakterilerin üreme hızları diğer mikroorganizmalarla kıyaslandığında daha yüksektir. Ayrıca çok çeşitli substratlar üzerinde bol, kolay ve ucuza üretilbilirler. Bakterilerin ham protein oranı yüksek olup % 50-70'i proteindir. Ayrıca yüksek miktarda nükleik asit ve RNA içermektedirler [Beyatlı, 1996]. Bakteriler doğada su, hava, toprak, bitki, insan, hayvan, gıda, yem gibi her türlü ortamda bulunur ve gelişirler. Çeşitli maddelerin üretilmesinde ve doğada madde sirkülasyonunda bakterilerin önemi büyüktür.

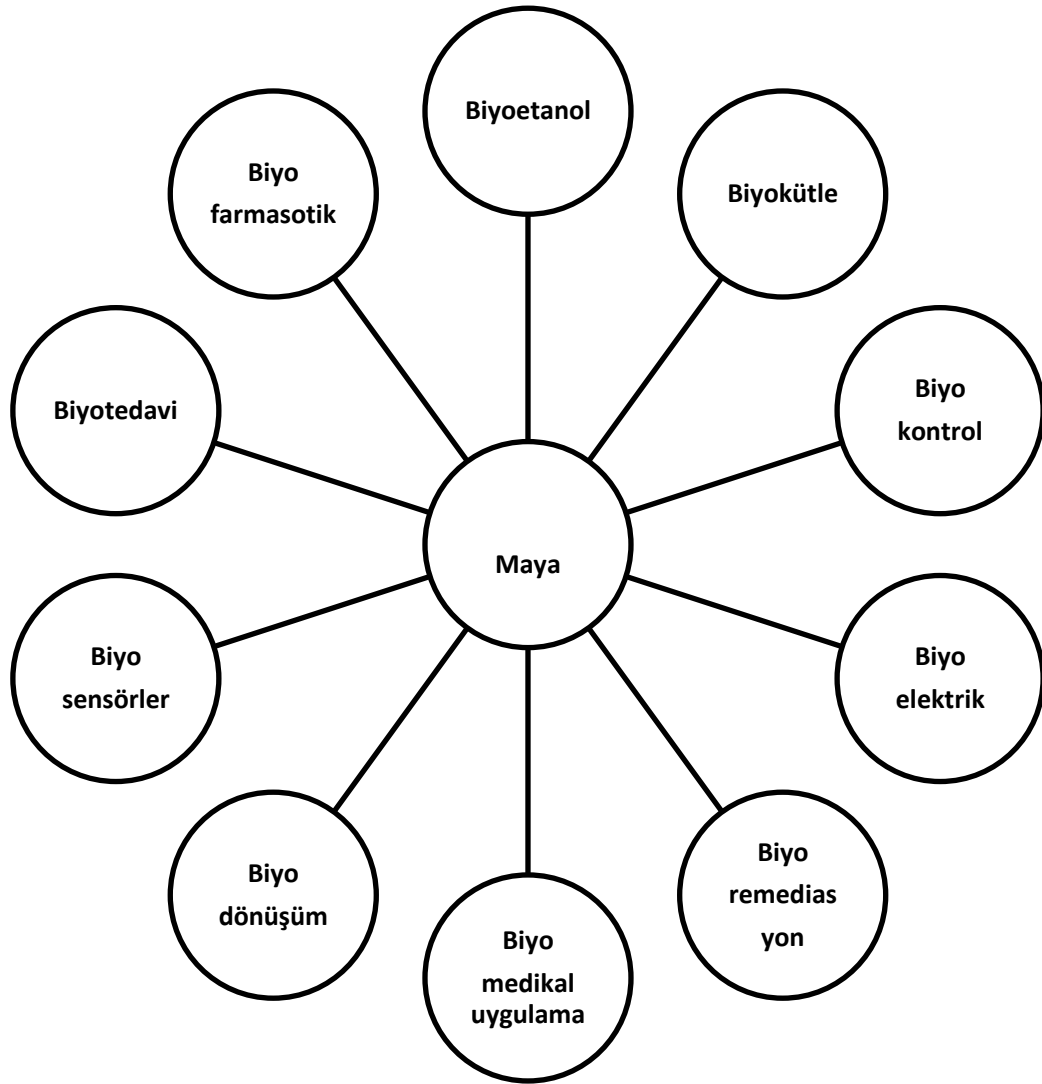
2.11.2. Mantarlar

Mantarlar klorofilsiz organizmalardır ve kendi besinlerini sentezleyemezler. Boyutları ve biçimleri tek hücreli mayadan çok hücreli mantarlara kadar değişir. Maya ve küfler en önemlileridir.

Mayalar

Mayalar mantarların en önemli alt gruplarından biridir. Güneş enerjisini kullanamaz ve tek hücrelidirler. Yaklaşık 5-10 µm uzunluğunda 1-5 µm genişliğindedirler. Toprakta, havada ve hayvanların sindirim sistemlerinde yaşarlar [Türker, 2005]. Ayrıca çiçeklerin nektarı üzerinde, meyvelerde ve toprakta bulunurlar [Beyatlı, 1996]. Yuvarlak, oval, silindirik şekillerde bulunurlar. Bazıları limon yada şişeyi andıran biçimlerde. Hücreleri bitki hücrelerine benzer (bünyelerinde su, karbohidrat, azotlu ve inorganik maddeleri içerir). Hücre zarı, sitoplazma ve çekirdek kısımlarından oluşan mayaların hücre zarı genellikle protein, lipid ve fosfatlardan oluşmaktadır. Mayaların üremesi eşeyli (tomurcuklanma, sporlanma ve bölünme ile çoğalma) ve eşeysiz olmak üzere iki şekilde gerçekleşmektedir [Pekin, 1979].

Mayalar oksijensiz ortamda, şekeri alkole ve karbonik asite çevirirler. Oksijenli ortamda ise, şekeri alkole çevirmeden yeni maya hücrelerinin üretimi için harcarlar. Mayalar, tarih öncesinden beri bütün alkollü içkilerin fermantasyonu, ekmeğin kabarması için (*Saccharomyces cerevisiae*) ve hayvan beslenmesinde protein kaynağı olarak kullanılmaktadır [Beyatlı, 1996]. Şekil 2.5 mayaların modern endüstriyel uygulamalarını özetlemektedir [Walker, 1999]. Ayrıca günümüzde atıksulardan tekstil boyarmaddelerinin ve ağır metal iyonlarının gideriminde mayaların kullanılması için çalışmalar yapılmaktadır.



Şekil 2.5. Maya teknolojileri

Küfler

Besin maddeleri üzerinde beyaz veya renkli görünümüleri ile dikkat çekerler [Pekin, 1979]. Vejetatif yapısı misel olarak adlandırılır ve tüplerden oluşan dallanmış bir yapıya sahiptir. Misel, içinde uzun ince hücre filamentleri olarak adlandırılır. Bazı durumlarda misel çok yoğun olabilir. Küfler mayalar gibi klorofile sahip değildir, hareketsizdirler [Türker, 2005]. Tek yada çok hücreli sporlar aracılığı ile çoğalırlar. Küfler heterotrofturlar, yani kendileri sentez yapamadıkları için daha önce oluşmuş

organik maddelere gereksinim duyarlar. Karbon kaynağı olarak bir çok organik bileşiği kullanabilirler. Küfler aerob oldukları için yüzeylerde gelişirler [Pekin, 1979].

Küflerin fermantasyon teknolojisinde çok önemli bir yeri vardır. En önemlileri *Aspergillus* ve *Penicillium*'un en önemli ürünleri antibiyotikler, organik asitler ve enzimlerdir. Ayrıca sitrik asit, glikoamilaz, katalaz, amiloglikozidaz, selüloz, riboflavin, penisilin, β -karoten, peynir gibi ürünlerin üretiminde kullanılırlar [Türker, 2005].

2.11.3. Yosunlar (Algler)

Yosunlar genellikle tek hücreli mikroorganizmalardır. Bitkiye benzeyen çok hücreli yosunlar deniz sularında yaşamaktadırlar. Fotosentetikler ve organizmaya yeşil rengi veren kloroplasta sahiptirler. Tek hücreli bir algin boyutları 10-30 μ m arasındadır. Çok hücreli algler bazen dallanmış veya dallanmamış filamentli bir yapı oluştururlar [Türker, 2005]. Küresel, çubuk ya da sarmal şekillerde ve değişik büyüklüklerde olabilirler. Protein, lipid, karbohidrat ve vitamin gibi önemli besinleri sentez edebilirler.

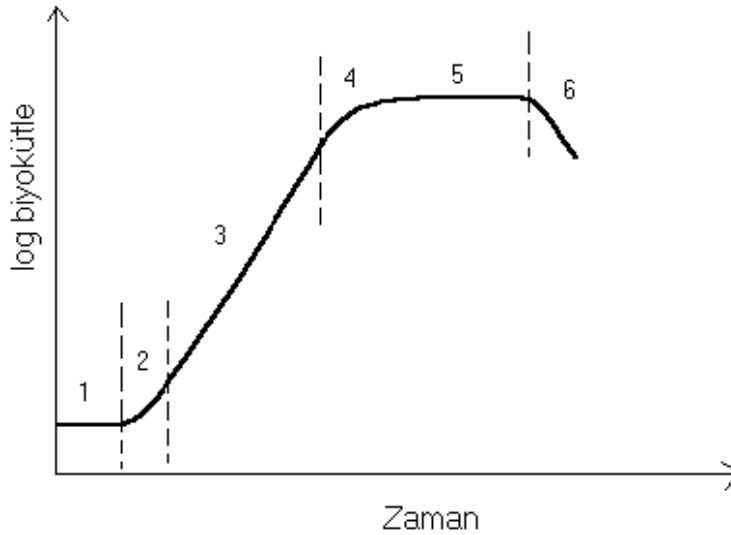
Genellikle sularda, bazı türleride karada yaşar. Eşeyli, eşeysiz yada her ikisininide içerecek şekilde çoğalma gösterebilirler [Pekin, 1979]. Hücre duvarlarında silika taşıyan diatomeler endüstride filtre yardımcısı olarak kullanılır. *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Spirulina*, *Dunaliella* gibi bazı algler atıksu arıtımında kullanılır. Ayrıca agar ve alginat gibi jelleşme ajanları deniz yosunlarından elde edilir [Türker, 2005]. Alg ürünleri, arpaya % 10 oranında karıştırılarak çiftlik hayvanlarına (özellikle domuz ve koyunlara) verilmesi halinde, hayvanlar tarafından kolayca kabul edildiği ve besin değerinin yüksek olduğu gözlenmiştir. Sığır ve tavuklarda yapılan denemelerde de başarılı sonuçlar alınmıştır. Günümüzde Japonya'da yoğurt, dondurma ve benzeri besinlere *Chlorella*'dan elde edilen işlenmiş alg ürünü katılmaktadır [Beyatlı, 1996].

2.11.4. Protozoalar

Protozoalar hücre duvarı olmayan tek hücreli, hareketli oldukça büyük ökaryotik hücrelerdir. Tek çekirdeğe sahiptirler, eşeyli veya eşeysiz olarak çoğalırlar. Protozoanın besin kaynağı bakteri gibi küçük organizmalar ve diğer besin kaynaklarıdır. Protozoalar biyolojik arıtmadan sonra kalan bakteriyi uzaklaştırarak atığın temizlenmesine yardımcı olur [Türker, 2005].

2.12. Kesikli Fermantasyon Kinetiği

Genellikle belirli düzeyde ve istenilen tür yada türlerde mikroorganizmayı içeren besin ortamına kültür oramı denilmektedir. Kesikli kültürlemede mikroorganizmaların çoğalması ortamdaki gerekli besin maddeleri tükeninceye kadar sürer. Kültüre alınan mikroorganizmaların değişmeyen pH, sıcaklık, iyon kuvveti ve basınç gibi dış koşullar altında belirli substrat derişiminde gelişme ve üremeleri çeşitli evrelerden oluşmaktadır. Bu evreler Şekil 2.6’de görölmektedir.



Şekil 2.6. Mikroorganizmaların üreme evreleri

1. *Gelişme evresi (lag fazı)* : Belirli bir besin ortamına ekilen mikroorganizmalar yeni ortama uyum (adaptasyon) gösterip çoğalmaya başlayıncaya kadar belirli bir süre geçer. Bu sırada hücre sayısında hemen hemen hiçbir artış gözlenmez. Mikrobiyal teknolojide bu sürenin kısaltılması ekonomik yönden büyük yararlar sağlar.
2. *Geçiş Evresi* : Gelişme evresinden sonra mikroorganizma sayısı yavaş yavaş artmaya başlar. Bu kısma hızlandırılmış ya da hızlandırılma evresi denir.
3. *Logaritmik Evre* : Mikroorganizma sayısı ya da derişimi belirli bir düzeye ulaşınca logaritmik evreye varılır. Bu evreye eksponansiyel faz da denilmektedir. Bu evrede mikroorganizmaların canlı, genç ve dinç olduğu kabul edilir. Logaritmik evrede mikroorganizmalar üssel (eksponansiyel) olarak arttığı için kesikli kültürlemede ortamdaki besinler giderek azalır.
4. *Duraklama Evresi* : Logaritmik evreden sonra mikroorganizmaların yaşlanması ve ölüm olayının belirginleşmesi nedeni ile çoğalmada yavaşlama yani logaritmik evreye kıyasla üreme hızında azalma gözlenir. Buna duraklama evresi denilmektedir.
5. *Sabit Evre* : Kesikli kültürlemede duraklama evresini sabit evre izler. Bu evrede kimi mikroorganizmalar ürer, kimileri ölür ve bazıları da üremeden yaşamlarını sürdürürler. Bu üç olay birbirini dengelediği için mikroorganizmalarda zamana göre net artış ya da azalış gözlenmez.
6. *Ölüm yada Göçüş Evresi* : Mikrobiyal kinetiğin son kısmında mikroorganizmaların ölüm hızları arttığı için zamanla derişimlerinde azalma gözlenir. Bu evreye ölüm fazı denilir. Bu evrede mikroorganizmaların dışa salgıladıkları enzimlerden ötürü hücre zarlarında hidroliz ve parçalanma olayları belirgin bir hal alır. Hidrolitik ve lipolitik enzimlerin meydana getirdiği bu olaya genel olarak lisis (lysis) adı verilir.

Mikrobiyal kinetik bağıntıları genellikle bakteriler üzerindeki incelemelere dayanılarak türetilmiştir. Ancak bu bağıntılar genellikle tüm mikroorganizmalar için geçerli sayılmaktadır [Pekin, 1979]. Mikrobiyal hücrelerin büyümesi otokatalitik bir olaydır. Bu nedenle hücre kuru ağırlığındaki artma hızı, başlangıçtaki hücrelerin derişimiyle orantılıdır. Mikroorganizma derişiminin başlangıçtaki miktarının iki katı olması için geçen süreye ikilenme süresi adı verilmektedir ve t süre sonra iki katına çıkma sayısı:

$$n = t/t_d \quad (2.1)$$

şeklindedir. Burada n ; iki katına çıkma sayısı, t ; geçen süre(saat), t_d ;kültürün iki katına çıkma zamanı (saat) dır.

Kültürdeki hücrelerin kuru ağırlığı t zaman sonra, başlangıç hücre yoğunluğuna bağlı olarak şu şekilde ifade edilir:

$$X = X_o 2^n = X_o 2^{t/t_d} \quad (2.2)$$

Eşitliğin logaritması alınarak, düzenlenirse:

$$\ln\left(\frac{X}{X_o}\right) = \ln 2 \cdot \frac{t}{t_d} \quad (2.3)$$

$$\ln\left(\frac{X}{X_o}\right) = 0,693 \cdot \frac{t}{t_d} \quad (2.4)$$

Bu eşitlikte X t anındaki mikroorganizma derişimi (g/L), X_o $t=0$ anındaki mikroorganizma derişimini (g/L) ifade etmektedir. Zamana karşı $\ln(X/X_o)$ grafiği, eğimi $0,693/t_d$ olan düz bir doğru verir ki bu doğrunun eğimi özgül üreme hızı, μ olarak tanımlanır. Özgül üreme hızı, μ sadece üstel üreme evresinde üremeyi

tanımlar ve bu evre boyunca sabittir (steril besleme için). Mikroorganizmalar için kesikli sistemde, kütle denkliği şu şekildedir:

$$\frac{1}{X} \cdot \frac{dX}{dt} = \mu \quad (2.5)$$

Özgül üreme hızı, μ (saat⁻¹) Eş. 2.4.'deki tanımıyla aynıdır. Eş. 2.5'in sınır koşullarına göre integralinin alınmasıyla

$$\frac{1}{X} \int_{X_0}^X dX = \mu \int_{t=0}^t dt \quad (2.6)$$

$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu \cdot t \quad (2.7)$$

eşitliği elde edilir. t'ye karşı $\ln(X/X_0)$ grafiğinin eğiminden özgül üreme hızı (μ) hesaplanır.

2.12.1. Kesikli sistemde substrat için madde denkliği

Substratlar sadece karbon ve enerji gerekliliği ile hücre üremesi için yapısal bileşenleri sağlamak için değil fakat aynı zamanda hücre canlılığını korumak için ve ürün oluşumu için de harcanmaktadır. Substratın harcanma hızı kısaca aşağıdaki eşitlikle tanımlanabilir:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} \cdot S_0 - \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - \frac{q_p X}{Y_{P/S}} - mX - \frac{F}{V} \cdot S \quad (2.8)$$

Bu eşitlikte F biyoreaktöre giren ve çıkan ortamın akış hızı (L/saat), V kültür hacmi (L), S_0 ve S deneysel kültüre giren ve kültürden çıkan substrat derişimi (g/L), $Y_{X/S}$ biyokütle verim katsayısı, $Y_{P/S}$ ürün verim katsayısı, μ ve q_p sırasıyla özgül üreme ve ürün oluşum hızları, m bakım katsayısını (g substrat / (g biyokütle*saat)) ifade etmektedir. Yazılan bu eşitlik reaktöre substratın beslenmesi durumunda geçerlidir. Eğer reaktöre substrat beslemesi yoksa ve reaktörden substrat çıkışı yoksa eşitlik aşağıdaki yazılabilir:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{X/S}} - \frac{q_p X}{Y_{P/S}} - mX \quad (2.9)$$

Özellikle aerobik kültürlerde bakım katsayısı, $\mu X / Y_{X/S}$ terimine göre çok küçüktür ve eğer substratın ürün oluşumuna katkısı yoksa eşitlik şu şekilde basitleştirilebilir:

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{X/S}} \quad (2.10)$$

Özgül substrat tüketim hızı q_s ise :

$$q_s = \frac{1}{X} \cdot \frac{dS}{dt} \quad (2.11)$$

2.12.2. Kesikli sistemde ürün oluşumu için madde denkliği

Mikrobiyal hücrelerin üremesi sırasında ürün oluşumu varsa ürün oluşum hızı şu şekilde tanımlanır:

$$\frac{dP}{dt} = q_p \cdot X - \frac{F}{V} \cdot P - \beta P \quad (2.12)$$

Bu eşitlikte P ürün derişimi (g/l), β ürün bozunma hızıdır. Ürün bozunması yoksa ve reaktörden ürün çıkışı yoksa eşitlik şöyledir:

$$\frac{dP}{dt} = q_p X \quad (2.13)$$

q_p özgül ürün oluşum hızı şu şekildedir.

$$q_p = \frac{1}{X} \cdot \frac{dP}{dt} \quad (2.14)$$

Üreme hızı, substrat harcanma hızı ve ürün oluşum hızı hacimsel ve özgül hızlar cinsinden ifade edilebilir. Hacimsel hızlar (g/L.saat) mikroorganizma derişimine bağlıdır, biyoreaktörün birim hacmi başına substrat harcanma hızı yada ürün sentez hızı olarak tanımlanır. Bu verimlilikler endüstriyel boyutlu fermantasyon proseslerinin tasarımı ve işletilmesi için son derece önemlidir. Özgül hızlar (μ , q_p , q_s) mikroorganizma derişimine bağlıdır ve mikrobiyal hücre metabolizmasının etkinliğini ifade eder.

Üremeyeyle direk olarak ilişkili olan ürün oluşum hızı ise şu şekilde ifade edilir:

$$\frac{dP}{dt} = \frac{\mu X}{Y_{P/X}} \quad (2.15)$$

Burada $Y_{P/X}$ ürün verim katsayısıdır. Biyokütle ve ürün verimleri $Y_{X/S}$ ve $Y_{P/S}$ son derece önemli parametrelerdir. Substratın biyokütle ve ürüne dönüşüm etkinliğini gösterirler.

$$Y_{X/S} = \frac{\Delta X}{\Delta S} \quad (2.16)$$

$$Y_{P/S} = \frac{\Delta P}{\Delta S} \quad (2.17)$$

$Y_{X/S}$, biyokütle verim katsayısı (gr oluşan mikroorganizma kuru ağırlığı/gr harcanan toplam substrat), $Y_{P/S}$, ürün verim katsayısı (gr oluşan ürün / gr harcanan toplam substrat). $Y_{X/S}$ ve $Y_{P/S}$ yukarıdaki iki eşitlikte tanımlandığı gibi biyokütle yada ürün oluşumu ve harcanan substratın toplam miktarının bulunmasıyla belirlenebildiği gibi biyokütle ve ürün oluşum hızı yada substrat harcanma hızları (Eş. 2.18- 2.19) yardımıyla da bulunabilirler [Scragg, 1991]:

$$Y_{X/S} = \frac{\mu}{q_S} \quad (2.18)$$

$$Y_{P/S} = \frac{q_P}{q_S} \quad (2.19)$$

2.12.3. Substrat derişimine göre üreme kinetiğı

Ortamda tek bir substrat olduğı durumda, özgül üreme hızı ile substrat derişimi arasındaki ilişki Monod eşitliğı ile ifade edilmektedir. Monod eşitliğı :

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_S + S} \quad (2.20)$$

μ_m : En yüksek (maksimum) özgül üreme hızı (saat⁻¹)

K_S : Monod (doğunluk) sabiti (g/L)

K_S monod doğunluk sabiti mikroorganizmanın substrata olan ilgisinin bir ölçüsüdür. K_S 'in değeri, maksimum özgül üreme hızının yarısına karşılık gelen substrat derişimine eşittir. Monod eşitliğinin doğrusallaştırılmış formu Eş. 2.21'deki gibidir.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_s}{\mu_m} \frac{1}{S} \quad (2.21)$$

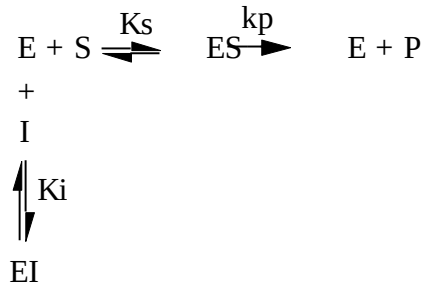
Bu eşitlikte $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiğe geçirildiğinde doğrunun eksen kesim noktasından μ_m , eğiminden ise K_s bulunur.

2.12.4. İnhibisyon kinetiği

Enzimatik reaksiyonların hızlarını azaltan maddelere genel olarak inhibitör (yavaşlatıcı) denmektedir. Tıpkı enzim sistemlerinde olduğu gibi inhibitörler, mikroorganizmaların bünyesindeki serbest enzimlere bağlanma yönünden substratlar ile yarışabilirler. Bu durumda inhibitörler, mikroorganizmaların özgül üreme (μ_m) hızını azaltıcı yönde etki gösterirler. Tek bir zehirli maddenin inhibisyona neden olduğu durumda bu bileşenin, enzimin özgül üreme hızı üzerine gösterdiği inhibisyon etkisi yarışmalı, yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon olarak sınıflandırılmaktadır.

Yarışmalı İnhibisyon

Yarışmalı inhibisyon, mikroorganizmanın yapısındaki serbest haldeki enzimin, substrat içeren ortamda başka bir maddeyle (örneğin başka bir substrat, boyarmadde, krom vs.) birleşip kompleks oluşturması durumudur. Burada inhibitör ve substrat, aynı enzim için yarış halindedirler. Burada inhibitör (I), enzim için alternatif bir substrat ya da reaksiyon ürünü olabilir. Yarışmalı inhibisyonu tanımlayan reaksiyon aşağıdaki gibidir.

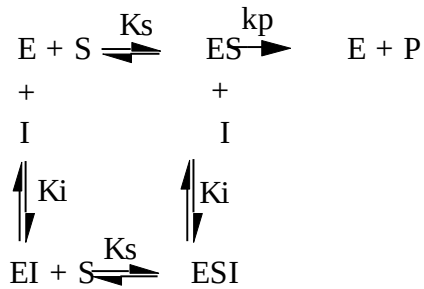


Bu reaksiyonu tanımlayan reaksiyon hızı ifadesi ise Eş.2.22 ile verilmiştir.

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_S \left(1 + \frac{I}{K_i} \right) + S} \quad (2.22)$$

Yarışmasız İnhibisyon

Yarışmasız inhibisyonunda, inhibitör ve substrat, enzim ile tersinir, gelişigüzel ve farklı sitelerden birbirinden bağımsız olarak kompleks oluştururlar. Bu tip inhibisyonunda, inhibitörün substrat bağlamasına herhangi bir etkisi olmamaktadır. Reaksiyon sırasında oluşan ESI kompleksi aktif değildir. Bu inhibisyon türünü tanımlayan reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir.

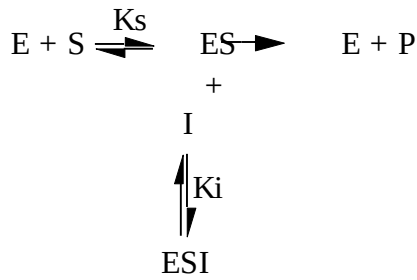


Bu reaksiyonu tanımlayan reaksiyon hızı ifadesi ise Eş.2.23 ile verilmiştir.

$$\mu = \frac{\mu_m}{\left(1 + \frac{K_S}{S}\right) \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)} \quad (2.23)$$

Kısmi Yarışmalı İnhibisyon

Kısmi yarışmalı inhibisyonunda, inhibitör serbest haldeki enzime değil enzim-substrat kompleksine tersinir olarak bağlanarak aktif olmayan ESI kompleksini oluşturur. Kısmi yarışmalı inhibisyon türünü tanımlayan reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir.



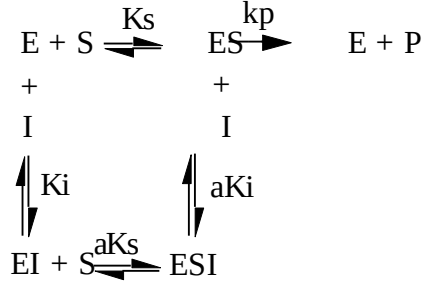
Bu reaksiyonu tanımlayan reaksiyon hızı ifadesi ise Eş.2.24 ile verilmiştir.

$$\mu = \frac{\mu_m S}{\left(\frac{K_S}{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right)} + S \right) \left(1 + \frac{I}{K_i}\right)} \quad (2.24)$$

Lineer Karma Tip İnhibisyon

En basit karma tip inhibisyon olan lineer karma tip inhibisyonunda, inhibitör hem mikroorganizmanın yapısındaki enzimle hemde substrat-enzim (ES) kompleksi ile sıra ile EI ve ESI kompleksini oluşturmaktadır. Burada EI kompleksinin substratla

kompleks oluşturma eğilimi, substrata olan eğiliminden oldukça düşüktür. Lineer karma tip inhibisyon kısmi yarışmalı inhibisyon ve yarışmasız inhibisyonun bir karışımı olarak incelenebilmektedir. Bu tip inhibisyon için reaksiyon mekanizması aşağıdaki gibidir.



Bu reaksiyon mekanizmasını tanımlayan hız ifadesi Eş. 2.25 ile verilmiştir. Bu eşitlik Monod eşitliğinin düzenlenmiş formudur.

$$\mu = \frac{\frac{\mu_m}{\left(1 + \frac{I}{aK_i}\right)} S}{K_S \frac{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}{\left(1 + \frac{I}{aK_i}\right)} + S} \quad (2.25)$$

I : İnhibisyona neden olan bileşenin derişimi (g/L)

K_i : İnhibisyon sabiti (mg/L)

a : K_S 'e bağlı bir faktör

Eş.2.25 sadeleştirilirse Eş. 2.26 elde edilir.

$$\mu = \frac{\mu_{mi} S}{K_{Sgöz} + S} \quad (2.26)$$

Eş. 2.26'de μ_{mi} Eş. 2.27 ile ve $K_{Sgöz}$ Eş.2.28 ile gösterilmektedir.

$$\mu_{mi} = \frac{\mu_m}{\left(1 + \frac{I}{aK_i}\right)} \quad (2.27)$$

$$K_{Sgöz} = K_S \frac{\left(1 + \frac{I}{K_i}\right)}{\left(1 + \frac{I}{aK_i}\right)} \quad (2.28)$$

Eş. 2.26 lineerleştirilerek yazılırsa

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_{mi}} + \frac{K_{Sgöz}}{\mu_{mi}} \frac{1}{S} \quad (2.29)$$

Elde edilir. Eş. 2.29'da $K_{Sgöz}$ ve μ_{mi} ifadeleri yerine konursa Eş. 2.30 elde edilir.

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_S}{\mu_m} \left(1 + \frac{I}{K_i}\right) \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_m} \left(1 + \frac{I}{aK_i}\right) \quad (2.30)$$

Bu eşitlik sadeleştirilirse

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_S^I}{\mu_m} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_{mi}} \quad (2.31)$$

Eş. 2.31'de μ_{mi} ve K_S^I aşağıdaki gibi tanımlanmaktadır.

$$K_S^I = K_S + \frac{K_S}{K_i} I \quad (2.32)$$

$$\frac{1}{\mu_{mi}} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{1}{aK_i\mu_m} I \quad (2.33)$$

Kinetik sabitler bulunurken, önce $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiği çizilir ve inhibitör içermeyen ortamda doğrunun y eksenini kestiği noktadan μ_m , eğiminden ise K_S bulunur (bakınız Eş. 2.21) İnhibitör içeren ortamda ise her bir farklı inhibitör derişimi için, doğrunun y eksenini kestiği noktadan μ_{mi} , eğiminden ise K_S^1 bulunur. Bu aşamada Eş.2.32 'de göre $I-K_S^1$ grafiği çizilir ki bu grafiğin eğiminden K_I bulunur. Diğer yandan Eş. 2.33'e göre $I- 1/ \mu_{mi}$ grafiğinin eğiminden ise a sabiti hesaplanır (Segel,1975).

2.12.5. Mikroorganizmanın kirletici (boyarmadde/krom) biyobirikim kapasitesi

Kesikli sistemde üremenin sonunda elde edilen birim kuru mikroorganizma kütlesinin biriktirdiği kirletici miktarı, mikroorganizmanın boyarmadde biyobirikim kapasitesi olarak tanımlanır ve Eş. 2.35 ile ifade edilir.

$$q = \frac{C_{tot}}{X} \quad (2.35)$$

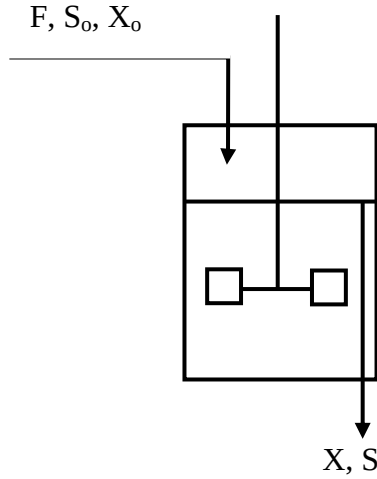
X : Üremenin sonunda elde edilen en yüksek mikroorganizma derişimi (g/L)

q : Mikroorganizmanın boyarmadde biyobirikim kapasitesi (mg kirletici/g biyokütle)

[Shuler ve Kargı, 2002; Pekin, 1979]

2.13. Sürekli Sistemde Eşitlikler

Sürekli çalışan bir biyoreaktör, karıştırırmalı tank reaktöre benzer (Şekil 2.7).



Şekil 2.7. Sürekli çalışan bioreaktör

Sisteme sabit hızda steril besleme verildiğinde ve sistemde bir çıkış akımı bulunduğu durumda, biyoreaktörde mikroorganizma derişimi için yazılan madde denkliği aşağıdaki gibidir.

$$\frac{dX}{dt} = \frac{FX_0}{V} - \frac{FX}{V} + \mu X - k_d X \quad (2.36)$$

Bu eşitlikte

F : Besleme akış hızı (L/saat)

V : Bioeaktörün çalışma hacmi (L)

X_0 : Biyoreaktöre giren mikroorganizma derişimi (g/L)

X : Biyoreaktördeki mikroorganizma derişimi (g/L)

μ : Özgöl üreme hızı (saat⁻¹)

k_d : Hücre içi solunum hızı (saat⁻¹)

S_0 : Biyoreaktöre giren substrat derişimi (g/L)

S : Biyoreaktördeki substrat derişimi (g/L)

Biyoreaktöre sadece steril besleme girişı söz konusu ($X_0=0$) ise Eş. 2.36 aşığıdaki hali alır.

$$\frac{dX}{dt} = -\frac{FX}{V} + \mu X - k_d X \quad (2.37)$$

Eş. 2.37’de F/V oranı seyrelme hızıdır ve D ile ifade edilir.

$$\frac{dX}{dt} = -DX + \mu X - k_d X = (\mu - D - k_d)X \quad (2.38)$$

Yatışkın durumda, özgül üreme hızı, hücre içi solunum hızına oranla çok büyükse ($\mu \gg k_d$) hücre içi solunum hızı ihmal edilebilir ve seyrelme hızı özgül üreme hızına eşit olmaktadır.

$$\mu = D \quad (2.39)$$

Eğer $D \gg \mu$ ise Eş.2.39’da $\mu - D$ negatif olur, yani mikroorganizma derişimi düşmeye başlar ve mikroorganizma kültürü (wash-out) çözelti ile beraber reaktörden çıkar.

Diğer yandan sürekli çalışan reaktör için Eş.2.40’deki Monod eşitliği kullanılabilir.

$$\mu = D = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (2.40)$$

Eş 2.40’de Monod eşitliğinden S substrat ifadesi çekilirse

$$S = \frac{K_s D}{\mu_m - D} \quad (2.41)$$

Eş.2.41'deki gibidir. Sürekli çalışan biyoreaktör sisteminde substrat için madde denklığı Eş.2.42'deki gibidir.

$$-\frac{dS}{dt} = \frac{F}{V} \cdot S_O - \frac{F}{V} \cdot S - \frac{\mu X}{Y_{(X/S)_m}} - \frac{q_p X}{Y_{P/S}} \quad (2.42)$$

Eş.2.42'da S_O ve S sırayla reaktöre giren steril besleme ve reaktör çıkışındaki substrat derişimleridir. $Y_{X/S(m)}$ maksimum verim katsayısını göstermektedir. Yatışkın durumda ($dS/dt = 0$), reaktörde ürün oluşumu olmadığı durumda ve $F/V = D$ iken Eş. 2.42 düzenlenirse aşağıdaki hali alır .

$$D(S_O - S) = \frac{\mu X}{Y_{(X/S)_m}} \quad (2.43)$$

elde edilir. Eş 2.43'te, hücre içi solunum ihmal edildiği ($k_d = 0$) durumda ve yatışkın durumda, $\mu = D$ iken Eş.2.44 elde edilir.

$$X = Y_{(X/S)_m} (S_O - S) \quad (2.44)$$

Eş 2.41'de S ifadesi Eş.2.44'de yerine konursa yatışkın durumda mikroorganizma derişimi Eş.2.45'teki gibi elde edilir.

$$X = Y_{(X/S)_m} \left(S_O - \frac{K_s D}{\mu_m - D} \right) \quad (2.45)$$

Eş.2.44 ve 2.45 eşitliklerindeki verim katsayısı $Y_{X/S}$ sabittir ve hücre içi solunum ihmal edilmiştir. Genellikle $Y_{X/S}$, sınırlayıcı substratla ve üreme hızıyla değişmektedir. Hücre içi solunumun etkisini incelemek için Eş.2.39 yerine Eş.2.46 ve 2.47 kullanılmaktadır.

$$D = \mu - k_d \quad (2.46)$$

yada

$$\mu = D + k_d \quad (2.47)$$

Eş. 2.47'deki μ ifadesi Eş. 2.43'te yerine konarak Eş. 2.48 elde edilir.

$$D(S_o - S) = \frac{(D + k_d)X}{Y_{(X/S)m}} \quad (2.48)$$

$Y_{X/S(m)}$ maksimum verim katsayısı, hücre içi solunum metabolizması ve bakım enerjisi terimini içermez. $Y_{X/S(m)}$ üreme hızından bağımsız sabit bir değerdir. Eş. 2.48 düzenlenirse

$$D \frac{(S_o - S)}{X} = \frac{(D + k_d)}{Y_{(X/S)m}} \quad (2.49)$$

$$D \frac{1}{Y_{(X/S)g}} = \frac{D}{Y_{(X/S)m}} + \frac{k_d}{Y_{(X/S)m}} \quad (2.50)$$

$$\frac{1}{Y_{(X/S)g}} = \frac{1}{Y_{(X/S)m}} + \frac{m}{D} \quad (2.51)$$

Eş. 2.51'de

$$Y_{(X/S)g} = \frac{X}{S_o - S} \quad (2.52)$$

$$m = \frac{k_d}{Y_{X/S(m)}} \quad (2.53)$$

Eş.2.52 'de hesaplanan $Y_{X/S(g)}$ görünür verimdir ve genellikle $Y_{X/S}$ ifadesi görünür verimi ifade etmektedir. $Y_{X/S(m)}$ sabit olmasına karşılık $Y_{X/S(g)}$ $k_d > 0$ iken üreme koşullarıyla değişmektedir. Sürekli sistem deneylerinde, $Y_{X/S(m)}$ ve m_s ifadelerini hesaplamak için, Eş. Eş.2.51'de $1/D$ 'ye karşı $1/Y_{X/S(g)}$ grafiği çizilmekte ve çizilen doğrunun eğiminden bakım katsayısı (m) ve doğrunun y eksenini kesim noktasından ise $Y_{X/S(m)}$ hesaplanmaktadır. Biyoreaktörde k_d ifadesinin ihmal edilmediği durumda Monod eşitliğinin lineerleştirilmiş hali aşağıdaki gibidir.

$$\frac{1}{D + k_d} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_s}{\mu_m} \frac{1}{S} \quad (2.54)$$

Diğer yandan reaktörde biyokütle üretim hızı ve sürekliliği arasında bir denge kurabilmek için, seyrelme hızının (D), $\mu_m = D$ değerinin altında, optimum bir değerde (D_{opt}) (Eş.2.54) olması gerekmektedir. $\mu_m = D$ mikroorganizmanın reaktörden hızlıca uzaklaştığı, reaktörde mikroorganizma derişiminin hızlıca düştüğü bir seyrelme hızıdır ve bu koşullarda reaktörün çalıştırılması oldukça zordur [Shuler ve Kargı, 2002].

$$D_{opt} = \mu_m \left(1 - \sqrt{\frac{K_s}{K_s + S_o}} \right) \quad (2.55)$$

2.14. Mikrobial Besi Ortamı

Mikroorganizmaların gelişme ve üremesi için gerekli besinleri ve uygun koşulları içeren ortama besi yeri (besin ortamı) adı verilir. Mikroorganizmalar için hazırlanacak besi ortamının bileşimi, belirli bir mikroorganizmanın gelişmesi, üremesi ve fizyolojik yaşamlarını sürdürebilmeye yetecek nitelikte gerekli maddeleri

içermelidir [Pekin, 1979]. Büyüme ve ürün oluşumunun stokiometrisini gösteren bir eşitlik aerobik bir fermentasyon için şu şekilde yazılabilir:

Karbon ve enerji kaynağı + azot kaynağı + O₂ + diğer besin kaynakları → biyokütle+ürünler+CO₂+H₂O+ısı

Anaerobik metabolizmada besi yerindeki karbonun yaklaşık % 10'u; aerobik metabolizmada ise % 55'i hücre yapısını oluşturmak üzere kullanılır. Genel olarak besi ortamına katılan karbonlu bileşikler mikroorganizmalar tarafından aynı zamanda enerji kaynağı olarak da kullanılırlar. Karbon kaynağı olarak en sık kullanılan bileşikler karbonhidratlardır. Özellikle melas, nişasta, selüloz gibi artık karbonhidratların kullanılması ekonomik açıdan da yararlıdır. Ayrıca, çok yaygın, ucuz ve oldukça bol oluşu nedeni ile hidrokarbonlarda son yıllarda önem kazanmışlardır [Pekin, 1979]. Fermentasyon uygulamalarında, seçilen substratın ekonomik olarak elverişliliği yanında mikroorganizmanın fizyolojik gereksinimini karşılamada uygunluğu önemlidir. Bu nedenle, mikrobiyal biyokütle üretiminde şu hususlara dikkat edilmelidir:

- Substratın ekonomik değeri çok düşük olmalıdır veya hiç olmamalıdır.
- Üretim hacmi yüksek olmalı ve devamlılık göstermelidir.
- Kolay elde edilebilmelidir.
- Taşınması ve saklanması kolay yollardan olmalıdır.
- Kullanılacak mikroorganizmaların gereksinimlerine uygun olmalıdır.

Besin elementleri içerisinde, önem itibariyle karbondan sonra gelen azot, protein, nükleik asitler ve vitaminlerin yapısına katılır. Bu nedenle biyokütle üretiminde kullanılacak azot kaynağının niteliği ve niceliği önemli bir faktördür.

Mineral maddeler önemli besin maddelerindendir, büyük bir bölümü ya enzim aktivatörü olarak işlev görürler, ya da hücre enzimlerinin veya hücrenin bizzat yapısına katılırlar. Bu gruba giren elementlerin başında K, S, P, Mg, Ca, Fe gibi

elementlerle; Zn, Cu, Co, Mn ve Mo gibi iz elementler gelir. Kükürt, kükürtlü amino asitlerin ve kükürtlü vitaminlerin sentezinde kullanılır. Fosfor ise, nükleotit ve nükleik asitlerin temel yapılarındandır. Potasyum, protein sentezinde görevli enzimlerin ve diğer bazı enzimlerin aktivatörüdür [Beyatlı, 1996].

Mikroorganizmanın besi ortamında gelişip büyüebilmesi için yukarıda saydığımız besinler tek başına yeterli değildir, bunların yanında besi ortamının sıcaklık ve pH'ı kullanılan mikroorganizmanın en iyi üreyebildiği noktalarda bulunabilecek şekilde ayarlanmalıdır. Ayrıca ortamdaki çözünmüş oksijen miktarı, üreme hızı ve verimi üzerine çok önemli bir şekilde etki etmektedir [Pekin, 1979].

2.15. Melas



Resim 2.1. Melas

Kamış ve pancar şekeri fabrikalarında, sakkarozun kristal halde elde edilmesi için yapılan kademeli işlemlerin en sonunda geriye kalan ve koyu kahve renkli, ortalama % 50 şeker ihtiva eden, Resim 2.1.'deki yüksek viskoziteli (kıvamlı) şuruba melas denir. Pratik tanımıyla melas, şeker üretim prosesi neticesinde içerisinden artık daha fazla sakaroz kristalize edilmesi masraf ve zaman ekonomisi açısından verimli olmayan bir kalıntıdır [Türkiye Şeker Fab., 2010]. Şeker pancarı ve şeker kamışı

ekstraksiyonunun bir yan ürünü olan melas, özellikle ekmek mayası, sitrik asit, maya, aseton, bütanol, organik asitler, amino asitler, antibiyotik ve enzimlerin üretimini içeren fermantasyon sanayisi için oldukça önemli bir hammaddedir. Endüstriyel proseslerde melasın kullanılabilirliği, kullanıldığı farklı proseslerdeki kalite, üretim hızı, yapısı ve kimyasal bileşimi gibi kriterler göz önüne alınarak belirlenemez. Melas, karbon kaynağı olarak kullanılacağı proseslerde ön işlem görmelidir ve inhibitörleri giderilmelidir. Örneğin melas, maya ve metanol üretimi için kullanılacağı zaman CaCO_3 ile nötralize edilmelidir. Diğer pek çok proseste, asidik ya da alkali ortamda sadece kaynatılmakta ve sonrasında ise çöktürmelerinden ayrılmaktadır. Sitrik asit üretimi için genellikle potasyum ferrosiyanürle kaynatılmakta ve genellikle kaynatma esnasında oluşan çöktürmelerle birlikte fermente edilmektedir.

Şeker kamışı ve şeker pancarı melasının kimyasal bileşimi aynı değildir. Melasın kimyasal bileşimi, ekim yapıldığı toprak ve iklim koşulları, gübrenin cinsi, ekim metodu, depolama koşulları ve süresi, üretim teknolojisi, fabrikanın teknik ekipmanı gibi birçok faktöre bağlıdır. Pancar melasının % 65-80'i kuru madde ve % 20-25'i sudur. Pancar melası, ağırlıkça % 44-54 sakkaroz, % 0,4-1,5 invert şeker, % 0,5-2,0 rafinoz, % 0,6-1,6 kestoz ve neokestoz ve % 0,5-1,5 arabinoz, ksiloz ve mannoz içermektedir.

İndirgen şeker ve amino asitler arasındaki reaksiyon sonucu sıcak çözeltide oluşan melanoidine, şeker anhidritin karamel kıvamı ve renklendirici maddesidir. Melasta uçucu olmayan koyu renkli bileşiklerin yanında alifatik aldehit, metilglioksal, diasetil, asetoin, aseton, oksimetilfurfurol gibi kırktan fazla uçucu bileşik bulunmaktadır.

Melasta bulunan uçucu olmayan organik asitler, glutarik, malonik, suksinik, akonitik, malik ve laktik asit, uçucu asitler ise formik, asetik, propiyonik, butirik ve valerik asittir. Uçucu olmayan organik asitler, kalsiyum ile reaksiyona girdikleri zaman çözünmeyen tuzları oluştururlar. Uçucu olan ve uçucu olmayan organik asitlerin

hepsi kalsiyum ve potasyum tuzlarıdır. Melas aynı zamanda rengine ve böylece fermantasyon verimine olumsuz etki yaratan kolloidal maddeleri de içerir. Bu maddeler melasın % 4-6'sını oluşturur ve çoğu yüksek molekül ağırlıklı renkli komplekslerdir.

Melasda bulunan azot bileşikleri, % 60-70 betain, % 20-30 amino asit, % 3-4 protein, az miktarda amonyum nitrat ve amiddir. Melasın amino asit içeriği ise pancarın ekildiği toprak özelliklerine, iklime ve pancarın yetiştirme şartlarına bağlı olarak değişmektedir. Pancar melasının mineral madde içeriği % 8,5-14'tür. Mineral kül % 60-70 K₂O, % 4,5-7,0 CaO, % 1 MgO ve % 0,2-0,6 P₂O₅'tir [Hofman, 2002]. Pancar melasının pH'ı 7,5'tir. Pancar melasının element ve vitamin içeriği Çizelge 2.10 'da, aminoasit içeriği Çizelge 2.11 'da verilmiştir [Kristiansen,1998].

Çizelge 2.10. Melasın mikro element ve vitamin içeriği

Mikro elementler	İçerik (mg/100 g melas)	Vitamin	İçerik (mg/100 g melas)
Aluminyum	9,30-60	Inositol	90,0-120,0
Stronsiyum	4,60-59,40	Nicotinic acid	3,90-5,20
Krom	6,60-54,70	Pantothenic acid	0,06-0,25
Demir	8,30-26,60	Folic acid	0,01-0,03
Bakır	0,00-9,80	Biotin	0,0035-0,0060
Magnezyum	5,70-8,60	Thiamine	0,18-0,26
Mangan	1,40-7,60	Ribo flavin	0,02-0,08
Çinko	2,00-3,30	Pyridoxine	0,30-0,45
Titanyum	0,21-0,70		
Nikel	0,16-0,76		
Kobalt	0,10-0,76		
Molibden	0,10-0,12		
Kurşun	0,21-0,61		
Bor	0,20-0,42		

Çizelge 2.11. Pancar melasının aminoasit içeriği

Amino asit	İçerik (% Melasta)
Lösin ve izölösin	1,7 - 2,9
Fenilalanin	İz miktarda
Valin + metiyonin + triptofan	0,4 - 1,3
Trosin	0,6 - 0,8
Prolin	İz miktarda
Alanin	1,2 - 2,3
Treonin + glisin	0,2 – 0,8
Glutamik asit	1,3 – 1,8
Serin	1,7 – 2,5
Aspartik asit	0,3 – 0,5
Arginin + histidin + lizin	İz miktarda
Sistein	İz miktarda

2.16. Deneysel Tasarım

Deneysel bir çalışma, bir veya daha fazla faktörün, yanıt değişkeni üzerindeki etkilerini araştırmak için yapılmaktadır. Deneyin amacı, ya sistem hakkında bilgi üretmek veya sistem üzerindeki yeni koşulların etkisini ortaya çıkarmaktır. Objektif, güçlü ve iyi düzenlenmiş bir deney kurabilmek için deneyin planlanması aşamasında bilimsel bir yaklaşım gerekir. Deneysel verilerden anlamlı sonuçlar elde etmek için deneyin düzenlenmesinde mutlaka istatistiksel bir yaklaşım (deneysel tasarım) gerekir [Erbaş ve Olmuş, 2006]. Deneysel tasarım metotları birçok alanda oldukça yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Deneysel tasarım yöntemleri mühendislikte, bir üretim prosesinin performansını geliştirmede ve yeni bir prosesi uygulamaya alma aşamasında oldukça önemlidir.

Deneysel tasarım yöntemlerinde izlenen aşamalar şunlardır:

- 1) Problem tanımlanır
- 2) Faktörler, seviye ve aralıklar seçilir
- 3) Cevap değişkeni seçilir
- 4) Deney tasarım matrisi oluşturulur

- 5) Deneyler yapılır
- 6) Deney verilerinin istatistiksel analizi yapılır
- 7) Sonuçlar değerlendirilir [Montgomery,1997]

Deney düzeninde değişkenler, yanıt değişkenleri ve faktörler olmak üzere iki gruba ayrılır. Faktör, yanıt değişkeni üzerinde etkili olabileceği düşünülen, araştırmacı tarafından belirlenen kontrol edilebilen bağımsız değişkenlerdir ve bir yanıt değişkeni üzerindeki etkiyi ortaya çıkartmak amacı ile kullanılırlar. Yanıt değişkenleri deneyler sırasında yapılan ölçümlerdir ve bir deneyin sonucudurlar. Yanıt değişkenleri araştırmacı tarafından kontrol edilemezler, bağımlı değişkenlerdir [Erbaş ve Olmuş, 2006].

Deneysel araştırmalarda, araştırmacı çok sayıda faktörün olası etkilerini belirlemek için faktörleri birbiriyle karşılaştırır. Bu amaçla deneysel çalışma sonuçlarının değerlendirilmesinde en uygun yöntem seçilmelidir. Kimya endüstrisinde temel olarak kullanılan tasarım yöntemleri üç grupta toplanabilir. Bunlar;

- 1) Faktöriyel tasarım
- 2) Ayrımsal tasarım
- 3) Box-Wilson tasarımı (Cevap yüzeyi yöntemi)

2.16.1. Faktöriyel tasarım

Genellikle deneysel çalışmada etkili faktörleri belirlemek amacıyla öncelikle faktöriyel tasarım yöntemi kullanılır ve belirlenen faktörlerin birbirleriyle olan etkileşimlerini belirlemek amacıyla regresyon analizi yapılır. her sayıda faktör seviyesi için uygulanabilen bir yöntem olmasına rağmen araştırmalarda genellikle, 2-3 faktörlü, 2-3 seviyeli tasarımlar için kullanılır. Bu yöntemde amaç, ana parametreyi belirlemekten ziyade bütün faktörlerin etkinliğini belirlemektir. Bu nedenle birçok tasarım yönteminde, faktörlerin birinin değeri değiştirilip diğerleri sabit tutulurken, faktöriyel tasarım yönteminde faktörlerin değişimine aynı anda bakılabilir.

2.16.2. Ayrımsal tasarım

Çok sayıda faktör içeren ve faktör seviyesi iki olan deneysel tasarımlar için kullanılan bir yöntemdir. Fakat faktör sayısının çok olmasıyla yapılması gereken deney sayısı da artar. Örneğin iki seviyeli, beş faktörlü bir çalışmada 32 tane deney yapmak gerekir. Ayrıca faktör sayısının artmasıyla faktörler arası etkileşim sayısı da artar, dolayısıyla yüksek dereceden etkileşimler söz konusu olur [Arslan, 2007].

2.16.3. Box-Wilson tasarımı (Cevap yüzey yöntemi)

Cevap yüzey yöntemi, “Denemelerin Optimum Koşullara Ulaşması” ismi ile 1951 yılında Box and Wilson tarafından geliştirilmiş ve tanımlanmıştır. İlk olarak kimya endüstrisine uygulanmıştır [Koç ve Kaymak-Ertekin, 2009]. Yanıt yüzey yöntemi, problemlerin analizi ve modellenmesinde kullanılan istatistiksel ve matematiksel tekniklerin birlikte kullanıldığı bir yöntemdir [Montgomery,1997]. Bu yöntem genellikle 3 basamakta gerçekleşir: tasarım ve deneyler, regresyon ve yanıt yüzey modellemesi, optimizasyon. Cevap yüzey yönteminde amaç, bağımlı değişken $Y(\text{cevap})$ ile bağımsız değişkenler (faktör) $(x_1, x_2, \dots)$ arasındaki ilişkiyi verecek bağıntıyı bulmaktır [Montgomery, 1997, Gönen and Aksu, 2008]. Bağımsız değişkenlerin yanıt üzerindeki etkisi :

$$Y = f(x_1, x_2) + \varepsilon \quad (2.55)$$

$$E(Y) = f(x_1, x_2) = \eta \quad (2.56)$$

eşitlikleri ile verilir. ε , cevap (Y) için hatayı ve η cevap yüzeyini göstermektedir. Birçok cevap yüzeyi yöntemi probleminde, bağımsız değişkenler ile cevap arasındaki ilişkinin formu bilinmemektedir. Bu nedenle cevap yüzeyi yönteminde birinci adım, bağımsız değişkenler ile cevap (Y) arasında fonksiyonel bir bağıntı bulmaktır. Genellikle lineer ve kuadratik modeller kullanılmaktadır. Eğer cevap (yanıt)

bağımsız değişkenin lineer fonksiyonu olarak iyi bir uyum veriyorsa, fonksiyon birinci dereceden polinomiyal denklemdir.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \beta_k x_k + \varepsilon \quad (2.57)$$

Eğer sistemde eğrilik varsa, ikinci derece ve daha yüksek derecede polinomiyal denklemler kullanılmalıdır. İkinci derece bir denklem aşağıdaki gibidir [Montgomery,1997].

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_{ii} + \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (2.58)$$

Eşitlikte k : bağımsız değişken sayısını, Y : cevap yüzeyini, β_0 : regrasyon eşitliğindeki bağımsız terimi, $\beta_i (i=1,2,\dots,k)$: regrasyon eşitliğindeki lineer terimi, $\beta_{ii} (i=1,2,\dots,k)$ regrasyon eşitliğindeki ikinci derece terimi, $\beta_{ij} (i=1,2,\dots,k)$: regrasyon eşitliğindeki interaktif terimi, ε : ise rastgele hatayı ifade etmektedir [Gönen and Aksu, 2008]. Cevap yüzeyi yönteminde, her bir bağımsız değişken için kodlanmış değeri (x_i) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$x_i = \frac{X_i - X_0}{\Delta X} \times 100 \quad (2.59)$$

Burada x_i ; i bileşeninin kodlanmış değeri, X_i ; bağımsız değişkenin gerçek değeri, X_0 ; bağımsız değişkenin merkez noktadaki gerçek değeri, ΔX ; adım aralığıdır. Box-Wilson deneysel tasarım yöntemine göre bağımsız değişkenlerin seviyeleri ve plan matrisi Çizelge 2.12'deki gibidir.

Çizelge 2.12. Deneysel tasarım için kodlanmış değerler

Deney No	Faktör 1 (X_1)	Faktör 2 (X_2)
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1
5	$-\alpha$	0
6	α	0
7	0	$-\alpha$
8	0	α
9	0	0
10	0	0
11	0	0
12	0	0
13	0	0

Burada kodlanmış değerler -1, 0 ve 1'dir. -1; düşük seviyeyi, 0 ; orta seviyeyi (merkez noktayı), +1 ; yüksek seviyeyi göstermektedir. α değeri bloklamada yıldız noktaları göstermekte olup, iki faktörlü bir tasarımda değeri $2^{1/2}$ dir.

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

3.1. Boyarmadde İle İlgili Çalışmalar

Bu çalışmada tekstil endüstrileri atıksularının karakterizasyonu araştırılmıştır. Tekstil endüstrisinde, haşıllama, haşıl sökme, dokuma, çeşitli basamaklarda yıkama, ağartma, mersevizasyon, karbonizasyon, dinkleme, boyama ve son yıkama gibi bir çok proses mevcuttur. Bu proseslerin her birinde çok miktarda su ve kimyasal tüketilmektedir. Bu basamaklar ve kullanılan kimyasalların çeşitliliği elyaf türüne, boyama proseslerinde kullanılan boyarmadde türüne ve boyama koşullarına bağlı olarak farklılık göstermektedir. Bu nedenle tekstil atıksularının kimyasal çeşitliliği ve bileşimi oldukça farklı olmaktadır. Çalışmaya göre tekstil endüstrisi atıksularının karakterizasyonu, boyarmaddelerin yapısındaki farklılıklar ve boyama proseslerinin değişim göstermesinden dolayı oldukça zordur [Correia, ve ark., 1994].

Bu çalışmada *Candida zeylanoides* mayası ile atıksulardaki boyarmaddelerin giderimi üzerine çalışılmıştır. Bu amaçla 8 farklı boyarmadde kullanılmıştır. Kullanılan bu 8 farklı boyarmaddenin atıksulardan gideriminin incelendiği bu çalışmada, deneyler ortam pH'ının deney süresince kontrol edildiği ve kontrol edilmediği koşullarda gerçekleştirilmiştir. pH'ın kontrol edilmediği koşullardaki deneyler 100 mL çalışma hacminde 250 mL'lik erlenlerde, 150 rpm karıştırma hızında, 25°C sıcaklığında ve başlangıç pH'ı 5 iken gerçekleştirilmiştir. pH'ın kontrol edilmediği koşullarda ortam pH'ı 5'ten 3,2-2,8'e düştüğü gözlemlenmiştir. pH'ın kontrol edildiği koşullarda ise deneyler 1 L hacmindeki Biolab biyoreaktöründe, 900 mL çalışma hacminde, pH 5'te, 150 rpm karıştırma hızında, oda sıcaklığında ve 200 mL hava/min havalandırma hızı koşullarında gerçekleştirilmiştir. Deneyler yaklaşık 22 saat süresince devam etmiştir. pH'ın kontrol edilmediği koşullarda, 6 farklı boyarmadde için % 44-90 boyarmadde giderimi elde edilmiştir. Yine pH'ın kontrol edildiği koşullardaki reaktör deneyinde ise % 44-67 aralığında boyarmadde giderimine ulaşılmıştır [Martins ve ark. 1999].

Bu çalışmada *Kluyveromyces marxianus* IMB3 mayası ile Remazol Black-B boyarmaddesi giderimi çalışılmıştır. Karbon kaynağı olarak glikoz kullanılmıştır. Ortamın başlangıç pH ve sıcaklığı gibi parametreler incelenmiştir. pH 3-5,5 aralığında değiştirilmiş, ancak pH=4 kullanılmıştır. Sıcaklık 25-50 °C aralığında değiştirilmiş olup en yüksek boyarmadde giderimi 37°C sıcaklıkta % 98 olarak elde edilmiştir [Meehan ve ark., 2000].

Robinson ve arkadaşları yaptıkları bu çalışmada, atıksu karakteristikleri, tekstil atıksuları ve günümüzdeki durumu değerlendirmişlerdir. Bu çalışmaya göre, tekstil atıksuları oksidasyon proseslerini içeren (Fernton ayırıcı, ozonlama, fotokimyasal yöntem, cucurbituril ve elektrokimyasal bozunma) kimyasal ve fiziksel (aktif karbon, silika jel, bitki atıkları gibi sorbentlerle adsorpsiyon, membran filtrasyonu, iyon değişimi, radyasyon, elektrokinetik çöktürme) yöntemlerle arıtılabilmektedir. Ayrıca beyaz çürükçül mantar, çeşitli mikroorganizma türleri, canlı ve ölü formdaki mikroorganizmalar ile adsorpsiyon tekstil atıksuyunu arıtmada kullanılan biyolojik yöntemlerdir. Bunların yanı sıra fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemlerin avantaj ve dezavantajlarına da çalışmada yer verilmiştir [Robinson ve ark., 2001].

Bu çalışmada farklı mantar türleriyle tekstil boyarmaddelerin giderimi olanakları araştırılmıştır. Boyarmadde gideriminde kullanılan mantar türleri, bu türlerin ölü ve canlı formlarının boyarmadde giderimine etkileri, giderim mekanizmaları, hücrelere uygulanan işlemlerin boyarmadde giderimine etkileri incelenmiştir. Ayrıca hücrelerin üreme koşullarına karbon, azot ve diğer besin maddelerinin ve pH, sıcaklık, oksijen derişimi gibi faktörlerin etkisi detaylı olarak verilmiştir. Bunların yanı sıra boyarmadde içeren atıksuyun sıcaklık ve pH'ı, farklı yapıdaki boyarmaddeler, ortamdaki metal iyonları ve boyama prosesleri sırasında kullanılan tuzlardan kaynaklanan iyonik çeşitliliğin mikroorganizmalarla boyarmadde giderimine etkileri ayrıntılı bir şekilde sunulmuştur [Fu ve Viraraghavan, 2001].

Bu çalışmada, tekstil atıksuyunda bulunan Remazol Blue, Reactive Black, Reactive Red boyarmaddelerinin *Candida tropicalis* mayası ile giderimi olanakları

araştırılmıştır. Bütün deneyler, besin olarak melas (10 g/L), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (1g/L) ve KH_2PO_4 (0,5 g/L) içeren ortamda, 100 rpm karıştırma hızında ve 25 °C ortam sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. *Candida tropicalis*'in boya biyobirikimine pH'ın etkisi (pH 3,4,5 iken) incelenmiş ve en yüksek boya biyobirikimi pH 3 iken elde edilmiştir. Başlangıç boyarmadde derişiminin etkisi ortam pH'ı 3 iken 10-700 mg/L aralığında değiştirilerek incelenmiştir. Remazol Blue ve Reactive Black boyarmaddelerinin yüksek derişimlerinde bile çok iyi bir giderim sağlandığı görülmüştür [Dönmez, 2002].

Yapılan bu çalışmada *Candida zeylanoides* mayası aerobik koşullarda azo boyarmaddelerinin giderimi için kullanılmıştır. Bu çalışmada 4 farklı azo boyarmaddesi kullanılmıştır. Bu boyarmaddelerden üç tanesi sentezlenmiş, bir tanesi ise Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir. Deneylerde kullanılan maya ise glukoz, pepton, maya özütü ve agar içeren ortamda korunmuştur. Deneylerde besin ortamı olarak sentetik glukoz içeren ortam kullanılmıştır. Kullanılan boyarmaddenin 4 mM'lık stok çözeltisi hazırlanıp 0,2µm filtre kullanılarak steril edilmiştir. Boyarmadde giderimi deneyleri 25 °C sıcaklıkta ve 120 rpm hızındaki orbital karıştırıcıda gerçekleştirmiştir. Boyarmadde giderimi işlemi sonunda maya hücrelerinin renksiz olduğu gözlemlenmiştir. Boyarmadde gideriminin mayanın üreme eğrisinin üstel üreme fazında çok hızlı olduğu, durağan fazda ise üstel üreme fazına oranla daha yavaş bir giderim olduğu gözlenmiştir. Deneyler süresince ortamdaki pH değişimi takip edilmiş ve pH değişiminin boyarmadde giderim hızını etkilediği görülmüştür. Ayrıca sunulan çalışmada maya azo bağlarına etki ederek aminleri oluşturmuştur. Bunların yanısıra maya boyarmaddeye adapte edilmiş ve mayanın boyarmaddeye adaptasyonunun boyarmadde giderimine bir etkisi olmamıştır [Ramalho ve ark., 2002].

Remazol Blue, Reactive Black B, Reactive Red RB boyalarının *S. cerevisiae* ile giderimi üzerine yapılan bu çalışmada, başlangıç pH'ının ve başlangıç boyarmadde derişiminin biyobirikime etkisi incelenmiştir. Her bir boyarmadde ile ayrı ayrı çalışılmıştır. Boya biyobirikimi üzerine pH'ın etkisi pH 3-5 arasında değiştirilerek

araştırılmış ve optimum pH'ın 3 olduğu görülmüştür. Remazol Blue derişimi 10,8-249,2 mg/L olarak değıştirildiğinde maya biyobiriminin % 100 ile % 50,6 arasında değışmiştii. Remazol Black B derişimi 13,3-410 mg/L olarak değıştirildiğinde maya biyobiriminin % 100 ile % 62 arasında ve Remazol Red RB derişimi 46,7-437,5 mg/L olarak değıştirildiğinde maya biyobiriminin % 77,5 ile % 0 arasında değıştiğı gözlemlenmiştir. Sonuç olarak boyarmadde derişiminin düşük olduğunda biyobirimin hızlı ve yüksek olduğu, yüksek olduğunda ise biyobirimin yavaş ve düşük olduğu görülmüştür [Aksu, 2003].

Yapılan bu çalışmada *Candida tropicalis* ve *Debaryomyces polymorphus* mayaları ile *Umbelopsis isabellina*, *Penicillium gastrivorus* filamentli mantar türleriyle Reaktif Black 5 (RB5), Procion Scharlach H-E3G, Procion Marine H-EXL, Reaktif Brilliant Blue K-NR (antrakinon boyarmaddesi), Reaktif Yellow M-3RE, Reaktif Brilliant Red K-2BP ve Reaktif Red M-3BE boyarmaddelerinin tekstil atıksularından giderimi araştırılmıştır. Deneyler 28°C'de, 140 rpm'de 3 gün süreyle gerçekleştirilmiştir. Tüm deneylerde başlangıç boyarmadde derişimi 100 mg/L olarak seçilmiştir. *P. gastrivorus* hariç diğer üç mikroorganizma türü Reaktif Black 5 (RB5) boyarmaddesini etkili bir şekilde ortamdan tamamen gidermiştir (24.saat). *P. gastrivorus* ise diğer üç mikroorganizmadan daha yavaş bir şekilde (48.saat) Reaktif Black 5 (RB5)'i tamamen gidermiştir. Bu çalışmada ayrıca LiP, laccase ve MnP gibi enzim sistemlerinin boyarmadde giderimine etkisi incelenmiştir. *P. Gastrivorus*'da üç enzimde rastlanmamıştır. Bu üç enzimden sadece MnP *C. tropicalis* ve *D. polymorphus* ve *U. Isabellina*'da bulunmuştur. *C. tropicalis* ile KNR, M-3BE, M-3RE, H-E3G, H-EXL, K-2BP boyarmaddeleri % 30-97 arasında giderilirken *D. Polymorphus* ile % 69-94 arasında giderilmiştir. Bunun yanı sıra MnP aktivitesi her iki maya içinde farklı çıkmıştır. *D. Polymorphus* için MnP aktivitesi M-3BE, H-E3G, H-EXL, K-2BP boyarmaddelerinin olduğu kültürlerde 105-587 UI-1 bulunmuştur ve *C. tropicalis* için sadece M-3BE ve K-2BP boyarmaddeleri için etkili bir indirgeyici olmuştur [Yang ve ark., 2003].

Blanquez ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada Grey Lanaset G metal kompleks boyarmaddesi *Trametes versicolor* ile biyobozunması incelenmiştir. Reaktör sisteminde gerçekleştirilen deneylerde glikoz derişimi kesikli sistemde 8 g/L glikoz ve 0,15 g/L boyarmadde içermekte olup, sürekli sistem deneylerinde, 2 g/L glikoz, 0,15 g/L boyarmadde içeren ortam 0,3 L/gün hızında besleme sisteme verilmiştir. Her iki durumda da başlangıç pH'ı 4,5 'dir. Deneyler önce kesikli olarak balamış, sonra sürekli olarak devam etmiştir. Çalışılan bu koşullarda % 90 boyarmadde giderimine ulaşılmıştır. Deneyler sırasında boyarmaddenin hücreler tarafından adsorpsiyonunu takiben, metal-kompleks boyarmadde hücreler tarafından parçalanarak metaller açığa çıkmıştır. Grey Lanaset G boyarmaddesi birkaç metal kompleks boyarmaddenin karışımından oluşmuştur ve yapısında % 0,79 kobalt ve % 2,5 krom bulunmaktadır. Deneyler sırasında açığa çıkan krom ve kobalt metallerinin bir kısmı hücreler tarafından tutulmuştur [Blanquez ve ark., 2004].

Yapılan çalışmada, tekstil atıksularındaki boyarmaddelerin giderim yöntemleri araştırılmıştır. Öncelikle boyarmaddelerin gideriminde kullanılan mikroorganizmalar listelenmiştir. Boyarmaddelerin gideriminde, değişik sorbentlerle adsorpsiyon ve fizikokimyasal yöntemler, fotokatalitik giderim ve oksidasyon gibi kimyasal yöntemler ve mikrobiyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Boyarmadde gideriminde kullanılan mikrobiyolojik yöntemler, karışık veya saf mikroorganizma kültürleriyle, aerobik, anaerobik sistemleri içermektedir. Ayrıca sunulan çalışmada enzimlerin boyarmadde gideriminde kullanımına da yer verilmiştir [Forgacs ve ark., 2004].

Bu çalışmada tekstil ve boyarmadde üretim tesislerinin atıksularının biyolojik yöntemlerle arıtımı incelenmiştir. Biyolojik yöntemlerde, mantar ve bakterilerle aerobik giderim, anaerobik giderim, anaerobik-aerobik birlikte giderim sistemleri mevcuttur. Bu yöntemlerin avantaj ve dezavantajları irdelenerek atıksu karakteristiklerine göre sınıflandırma yapılmıştır. Bunun yanı sıra çalışmada, gelecekte uygulanması olası proseslere de yer verilmiştir [Rai ve ark., 2005].

Tekstil atıksuyunda bulunan Remazol Blue, Reactive Black B boyarmaddelerinin *Candida tropicalis* mayası ile giderimine yönelik olarak yapılan bu çalışmada, başlangıç melas derişiminin ve başlangıç boya derişiminin biyobirikime olan etkisi incelenmiştir. Başlangıç boyarmadde derişimi 0-1000 mg/L aralığında ve başlangıç sakaroz derişimi ise 5-15 g/L aralığında değiştirilmiştir. Ortamdaki sakaroz derişimi arttıkça mayanın biyobirikim kapasitesinde arttığı görülmüştür. Ayrıca ortamdaki boyarmadde derişiminin artması maya için zehir etkisi oluşturduğundan biyobirikim kapasitesi azalmıştır. Sonuç olarak sakaroz derişimi 15 g/L iken, boyarmadde derişimi 195,7 ve 943,8 mg/L olduğunda biyobirikim sırasıyla % 98,1 ve % 90,3 olarak gerçekleştirilmiştir [Aksu ve Dönmez, 2005].

Candida tropicalis mayası ile monoazo dispers boyasının tekstil atıksularından gideriminin araştırıldığı bu çalışmada, *Candida tropicalis* mayasının büyümesi için sentetik büyüme ortamı kullanılmıştır ve boyarmadde giderme deneyleri aerobik koşullarda gerçekleştirilmiştir. Ortamdaki karbon kaynağı glikoz, sakaroz, nişasta, fruktoz, laktoz, maltoz ve galaktoz olarak değiştirilerek sulu ortamdan renk giderme işlemine etkisi incelenmiştir. Ayrıca ortam pH'ı, ve bazı besin maddelerinin de renk giderme işlemine olan etkileri araştırılmıştır [Arora ve Ark., 2005].

Yu ve Wen yaptıkları çalışmada, 44 farklı maya türünün Reactive Brilliant Red K-2BP boyarmaddesini giderim performansları araştırılmıştır. Bu mayalardan bir kısmı boyarmaddeyi tamamen parçalarken, bir kısmı ise sadece boyarmaddeyi adsorplamıştır. Bu 44 mayadan sadece *Pseudozyma rugulosa* Y-48 ve *Candida krusei* G-1 mayalarının Reactive Brilliant Red K-2BP boyarmaddesini % 99 verimle giderdiği gözlemlenmiştir. Her iki maya türü ile 50 mg/L başlangıç boyarmadde derişimindeki 7 farklı boyarmaddenin giderimine bakılmış ve *Pseudozyma rugulosa* Y-48 mayası ile % 22-98 ve *Candida krusei* G-1 mayası ile % 62-94 arası giderim elde edilmiştir. Bu iki maya türünün azo boyarmaddelerin giderimi için oldukça uygun olduğu gözlemlenmiştir [Yu ve Wen, 2005].

Yang ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada, izole *Debaryomyces polymorphus* mayası kullanılarak Reaktif Black 5 azo boyarmaddesinin giderimi için en uygun koşullar belirlenmeye çalışılmıştır. Bu amaçla 3 farklı maya derişiminde (1,4 , 4 ve 17 g/L) boyarmadde giderimi çalışmaları gerçekleştirilmiş ve çalışmanın sonraki kısımlarında 1,4 g/L maya derişimi kullanılmıştır. Deneylerde ortam başlangıç pH'ı 3-10 arasında değiştirilerek, en yüksek giderimlerin pH 5-7 arasında olduğu görülmüştür. Diğer yandan glikoz, maltoz, sakkaroz ve nişasta gibi farklı karbon kaynakları kullanılarak *D. polymorphus*'un nişasta hariç diğer 3 karbon kaynağında iyi ürediği ve boyarmaddeyi etkili bir şekilde giderdiği gözlemlenmiştir. Glikoz derişiminin ve $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ derişiminin boyarmadde giderimine etkisinin incelendiği koşullarda en yüksek giderim, 5 g/L glikoz derişiminde ve 0,5-1 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ derişiminde % 95-98 olarak elde edilmiştir. Diğer yandan boyarmaddeye uygulanan ön işlemin boyarmadde giderimine önemli bir etkisi olmamıştır. 200 mg/L BM içeren ortamda MnP aktivitesi 24.saatte $1555,6 \text{ UI}^{-1}$ olarak ölçülmüştür. Deneyler sırasında boyarmaddenin tamamen parçalandığı ve boyarmaddenin parçalanması ile enzim üretimi arasında bir bağ olduğu görülmüştür [Yang ve ark., 2005].

Bu çalışmada endüstriyel atıksulardan Reaktif Black 5 boyarmaddesinin *Candida oleophila* ile giderimi araştırılmıştır. Deneyler 5 g/L glikoz içeren 100 mL çalışma hacminde, 120 rpm karıştırma hızında ve 26°C sıcaklıkta orbital çalkalayıcıda gerçekleştirilmiştir. Boyarmadde derişimi 50, 100 ve 200 mg/L olarak seçilmiş ve bu başlangıç boyarmadde derişimlerini içeren ortamlarda % 95-100 arasında giderim elde edilmiştir, ancak 300 ve 500 mg/L başlangıç boyarmadde derişimleri için giderim yüzdeleri oldukça düşük olmuştur. Kesikli sistemde gerçekleştirilen deneylerde, boyarmadde gideriminin mayanın üreme eğrisinin üstel üreme evresinde gerçekleştiği ve bununla birlikte glikoz tüketimi ile boyarmadde giderimi arasında oldukça yakın bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir [Lucas ve ark., 2006].

Vijaykumar ve arkadaşları yaptıkları bu çalışmada, 5 farklı boyarmaddenin *Cladosporium cladosporioides* ile biyobirikimini araştırmışlardır. Bu boyarmaddelerden sadece Acid Blue 193 1:2 metal- kompleks boyarmaddesi % 100

giderilebilmiştir. Bu Acid blue 193 boyarmaddesinin giderimine sıcaklık (25-50°C), pH (4-10), şeker (% 1-5) ve boyarmadde derişiminin (50-250 mg/L) etkisi incelenmiştir. Boyarmadde giderimi için optimum koşullar, 40°C sıcaklık, pH 5,6, şeker derişimi %4 iken elde edilmiştir. 100 mg/L boyarmadde derişiminde % 100 giderim elde edilirken, 250 mg/L boyarmadde derişiminde mikroorganizmanın inhibe olduğu görülmüştür. Deneyler sırasında manganez peroksidaz aktivitesi 41 U l⁻¹, lakkaz aktivitesi 1413 U l⁻¹ olup lignin peroksidaz aktivitesi 8. günden sonra ihmal edilmiştir [Vijaykumar ve ark., 2006].

Park ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada katı ve sıvı ortamlarda boyarmadde giderimi araştırılmıştır. Deneylerde başlangıç boyarmadde derişimi 100 mg/L, karıştırma hızı 100 rpm, sıcaklık 28°C ve pH 4 olarak ayarlanmıştır. Öncelikle 10 farklı mantar türü ve 6 farklı boyarmadde ile katı besiyerinde çalışılmıştır. Bu mantar türlerinden sadece *Funalia trogii* 6 farklı yapıdaki boyarmaddeyi 10 günde tamamen biyobiriktilmiştir. *Funalia trogii* ile sıvı deney ortamında da 6 farklı boyarmadde için biyobirikim deneyleri gerçekleştirilmiş ve 100 mg/L boyarmadde tamamen giderilmiştir [Park et al., 2007].

Jadhav ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada azo metil red boyarmaddesinin *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 63 mayasıyla giderim olanakları araştırılmıştır. Deneylerde başlangıç boyarmadde derişimi 100 mg/L seçilmiş olup sıcaklık 30°C'dir. Azo metil red boyarmaddesinin giderimine ortam pH'ı, ortam bileşimi, mikroorganizma derişimi, boyarmadde derişimi, sıcaklık ve karıştırma hızı gibi fizikokimyasal parametrelerin etkisi incelenmiştir. Anoxic koşullarda, organik ve inorganik bileşik içermeyen sade distile su ortamında 100 mg/L azo metil red boyarmaddesinin tamamı 16 dakikada hücreler tarafından tutulmuştur. Bununla birlikte % 5 glikoz içeren ortamda % 56 giderim elde edilmiştir. Ayrıca enzimlerin de boyarmadde giderimine etkileri araştırılmıştır [Jadhav ve ark., 2007].

Blanquez ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Grey Lanaset G tekstil boyarmaddesini 1500 mL hacmindeki akışkanlaştırılmış biyoreaktörde *Trametes versicolor* ile

giderimini araştırmışlardır. Kesikli sistemde, 8 g/L glikoz derişimi, 0,15 g/L boyarmadde derişimi içeren pH' 4,5 olan ortamda deneyler gerçekleştirilmiş olup sistem bellibir süre kesikli aıştırıldıktan sonra, 2 g/L glikoz, 0,15 g/L boyarmadde içeren besleme sisteme verilerek sürekli sisteme geçiş yapılmıştır. Beslemedeki glikoz derişimi değiştirilerek boyarmadde giderimine ve enzim aktivitesine etkisi araştırılmış, 2 g/L glikoz derişiminde en yüksek giderim % 85 olarak elde edilmiştir. Beslemenin reaktörde kalış süresi 120, 48, 24, 18 saat seçilerek boyarmadde giderimine etkisi araştırılmış ve en yüksek giderime % 96 olarak 120 saatlik kalış sresinde elde edilmiştir [Blaquez ve ark., 2007].

Bu alışmada Las Yungas (Arjantin) bölgesindeki toprak örneklerinden elde edilen 63 tane maya türünün boyarmadde giderim olanakları karşılaştırılmıştır. Deneyler agar ve sıvı ortamı olmak üzere iki farklı ortamda gerçekleştirilmiştir. Agar ortamı deneyleri 26°C sıcaklıkta, 200 mg/L boyarmadde varlığında gerçekleştirilmiştir. Sıvı ortam deneyleri ise 26 °C sıcaklıkta, 200 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Mayalardan 17 tanesi Vilmafix Yellow 4R-HE, Red 7B-HE, Blue RR-BB ve Green RR-4B boyarmaddelerini agar ortamında yüksek verimle gidermiştir. Mayalardan beş tanesi, sıvı ortamda, Blue RR-BB boyarmaddesini % 87,9-98,7 aralığında, Red 7B-HE boyarmaddesini % 89,8-94,5 aralığında gidermiştir [Pajot ve ark., 2007].

Bu alışmada, Reaktif Black 5 boyarmaddesinin atıksu arıtma tesisinden izole edilen *Debaryomyces polymorphus* ve *Candida tropicalis* mayaları ile giderimine glikozun etkisi araştırılmıştır. Bu amaçla boyarmadde derişimi 200 mg/L iken glikoz derişimi 5, 6, 7, 8, 9, 10 g/L olarak değiştirilmiş ve glikoz derişimi arttıkça boyarmadde giderimi artmıştır. 10 g/L glikoz derişiminde % 100 giderim elde edilmiştir. Her iki maya için boyarmadde giderimi çalışmaları için 7 g/L glikoz derişiminin yeterli olduğuna karar verilmiştir. Mayalar boyarmaddeyi, üreme ve boyarmadde gideriminde karbon ve enerji kaynağı olarak kullanmamıştır. [Yang ve ark., .2008].

Trichosporon beigeli NCIM-3326 mayasıyla boyarmadde giderimi amacıyla yapılan bu çalışmada öncelikle 8 farklı boyarmadde ile biyobirikim deneyleri

gerçekleştirilmiş ve ortamdan en yüksek verimle giderilen Navy Blue HER (C.I. Reactive blue 171) boyarmaddesiyle çalışmalara devam edilmiştir. Ayrıca *T. beigelii* NCIM-3326 mayası ile dört farklı mikroorganizma Navy Blue HER giderimi için karşılaştırılmış ve en yüksek giderim *T. beigelii* NCIM-3326 mayası ile elde edildiğinden parametreler bu mayayla incelenmiştir. Boyarmadde giderimine sıcaklık ve pH incelenmiş olup en yüksek giderime 37°C ve pH 7 iken ulaşılmıştır. Boyarmadde derişimi 30-200 mg/L aralığında incelenmiş olup 30-80 mg/L derişimdeki boyarmadde % 100 giderilmiştir. Bu çalışmada boyarmadde giderimine sentetik ortama ilave edilen karbon ve azot kaynaklarının (glukoz, laktoz, maltoz, sakaroz, üre, pepton, maya özütü ve NH₄Cl) etkisi incelenmiş ve en olumlu etkinin maya özütü tarafından sağlandığı görülmüştür. Bunların yanı sıra UV-vis, TLC, HPLC ve FTIR analizleri ile ortamdaki boyarmaddenin parçalanıp parçalanmadığına bakılmıştır [Saratale ve ark., 2009].

Gönen ve Aksu'nun yaptığı bu çalışmada Remazol Turquoise Blue G (RTBG) boyarmaddesi ve bakır(II)'nin *Candida tropicalis* mayası ile giderimi araştırılmıştır. RTBG ve bakır(II)'nin hem ortamda tek iken hemde ikisi birlikte iken biyobirikimin incelendiği çalışmada, pH 4 ve sakaroz derişimi 10 g/L'dir. RTBG ve bakır(II) derişimleri 50-500 mg/L arasında değiştirilmiştir. Ortamda sadece 50 mg/L RTBG varken % 69 giderim elde edilmiş, ancak 50 mg/L bakır varlığında 50 mg/L RTBG % 59,2 oranında biyobiriktirilmiştir. Benzer şekilde ortamda sadece 50 mg/L bakır iyonu varken % 32,6 giderim elde edilirken, 50 mg/L RTBG varlığında 50 mg/L bakır iyonu % 21,3 oranında biyobiriktirilmiştir. Deneysel sonuçlara göre ortamda sadece RTBG veya bakır iyonları varken yüksek gideimler elde edilmesine rağmen RTBG ve bakırın birlikte olduğu ortamlarda bakır ve RTBG biyobirikimi birbirinden etkilenmektedir [Gönen ve Aksu, 2009a].

Candida utilis mayası ile Remazol Turquoise Blue-G reaktif boyarmaddesi giderimi ile ilgili olarak yapılan bu çalışmada besin ortamı olarak melas kullanılmıştır. Biyobirikim çalışmalarında sakaroz derişimi 5, 10 ve 15 g/L olarak değiştirilmiş ve her bir sakkaroz derişiminde boyarmadde derişimi 50, 100, 275 ve 500 mg/L olarak

değiştirilerek deneyler gerçekleştirilmiştir. Özgül üreme hızı ve substrat derişimi arasındaki ilişkiyi veren Monod eşitliği ve inhibitör varlığında Monod eşitliğinin değiştirilmiş formu olan yarışmalı inhibisyon modeli kullanılarak kinetik sabitler hesaplanmış ve deneysel sonuçlar ile model karşılaştırılmıştır. Sakaroz derişimi arttıkça boyarmadde gideriminin arttığı ve mayanın 367,1 mg/L derişimin altındaki boyarmaddeyi tolere edebildiği sonucuna varılmıştır. Deneysel olarak en iyi boyarmadde gideriminin başlangıç sakaroz derişiminin 15 g/L ve başlangıç boyarmadde derişiminin 50 mg/L olduğu durumda % 82 olarak elde edilmiştir [Gönen ve Aksu, 2009b].

Bu çalışmada *Rhodotorula mucilaginosa* mayası kullanılarak krom(VI), nikel (II), Bakır(II) ve reaktif boyarmadde biyobirikimi çalışılmıştır. Deneylerde karbon ve enerji kaynağı olarak melas kullanılmıştır. Ortamda 50 mg/L metal ve 50 mg/L boyarmadde varken, biyobirikim için optimum pH değerleri bakır (II) ve boyarmadde için pH=4, krom (VI) ve boyarmadde için pH=6, nikel (II) ve boyarmadde için pH=5 bulunmuştur [Ertuğrul ve ark., 2009].

Bu çalışmada Irgalan Grey GLN, Irgalan Black RBLN ve Irgalan Blue 3 GL mono azo metal-kompleks boyarmaddelerinin *Shewanella* J18 143 bakteri hücreleri ile biyobirikimi incelenmiştir. Biyobirikime sıcaklığın (30, 40, 50, 60 °C), pH'ın (4,4, 5,6, 6,8, 8, 9,2) ve boyarmadde derişiminin (0,04-0,25 g/L) etkisi incelenmiştir. 30°C sıcaklık, pH=6,8 ve 0,12 g/L boyarmadde derişimi optimum koşullar olarak belirlenmiştir [Li ve Guthrie, 2010].

Bu çalışmada, Reaktif Red 2 (RR2), Reaktif Blue 4 (RB4) ve Bazik Yellow 2 (BY2) azo boyarmaddelerinin tekstil atıksularından giderimi ultrasonication ve mikrobiyal yöntemlerin birleştirilmesiyle gerçekleştirilmiştir. 50 mg/L boyarmadde içeren ortam öncelikle ultrasonicationla boyarmadde giderimine tabi tutulmuş, daha sonra burada işlem görmüş ortama *Rhodotorula mucilaginosa* mayası eklenerek boyarmadde giderimi işlemine devam edilmiştir. Ultrasonication aşamasında başlangıçta 50 mg/L boyarmadde içeren ortamda RB4, RR2, BY2 için sırasıyla %

23, % 28, % 16 giderim, başlangıçta 100 mg/L ortamda RB4, RR2, BY2 için sırasıyla % 31, % 48, % 28 giderim elde edilmiştir. Maya kullanılarak, gerçekleştirilen deneylerde ise 100 ve 50 mg/L RR2 ve RB4 için % 65-70, % 70-80 giderim elde edilmiştir. Ortamdaki biyokütle derişimi 2-6 g/L arasında değiştirilerek boyarmadde giderimine etkisi araştırılmış ve en yüksek boyarmadde giderimi 50 mg/L boyarmadde derişiminde, 6 g/L hücre derişiminde % 93 olarak elde edilmiştir [Onat ve ark., 2010].

Bu çalışmada, Cu-kompleks reaktif blue 21 boyarmaddesinin *Penicillium oxalicum*‘la kesikli ve sürekli sistemde giderim olanakları araştırılmıştır. Kesikli sistemde 30 °C’de, 120 rpm karıştırma hızında ve 100 mL’lik çalışma hacmine sahip 250 mL’lik erlenlerde gerçekleştirilen deneylerde, % 2 (v/v) derişimindeki hücre, başlangıçta pH=7 olan 100, 200 ve 400 mg/L boyarmadde derişimindeki ortamlara aşılanmıştır. 100, 200 ve 400 mg/L boyarmadde içeren ortamlarda sırasıyla % 100, % 100 ve % 99,7 giderim elde edilmiştir. Sürekli sistem deneyleri ise 500 mL çalışma hacmine sahip kolon reaktörde, kesikli olarak 0,6 litre/dakika hava akış hızında, 30 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Başlangıç boyarmadde derişimi 200 mg/L olan ortamda 48 saat süren boyarmadde giderimi işleminden sonra, ortamdaki boyarmadde tutmuş hücreler süzülerek ortamdan ayrılmış ve 200 mg/L boyarmadde içeren taze çözeltiye aşılanmışlardır. Burada 24 saat tutulan hücreler 3. defa yine taze çözeltiye aktarılacak burada 12 saat tutulmuş ve boyarmadde giderimi incelenmiştir. Her üç basamakta da hücrelerin, boyarmaddenin tamamını tuttuğu, 3. basamak sonunda hücrelerin pellet çapının ve yaş hücre ağırlığının arttığı gözlemlenmiştir [Xin ve ark., 2010].

Bu çalışmada biyosorpsiyon ve biyobirikimin günümüzdeki ve gelecekteki durumu sunulmuştur. Biyobirikim ve biyosorpsiyon kavramları, mikroorganizmalardaki mekanizmalar, metabolik faaliyetler, uygulanabilir alanları, avantaj ve dezavantajları araştırılmıştır. Bunların yanı sıra biyosorpsiyon ve biyobirikimin ortak yönleri, aralarındaki farklılıklar, bu metotların toksik metaller ve organik kirleticilere karşı sergilenen tutumları incelenmiştir [Chojnacka, 2010].

Das ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada, Acid Blue 93, Direct Red 28 ve Basic Violet 3 boyarmaddelerinin *Pichia fermentans* MTCC 89 mayası ile biyobirikimi araştırılmıştır. Deneylerde karbon kaynağı olarak şeker kamışı küspe özütü kullanılmıştır. Deneysel çalışmada öncelikle farklı başlangıç pH'larının (3,5,7,9) biyobirikime etkisi, 10 mg/L boyarmadde içeren ortamda araştırılmış ve her üç boyarmadde için optimum pH 5 olarak seçilmiştir. Daha sonra farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinin (10, 20, 30 mg/L) biyobirikime ve mikroorganizma üreme hızına etkisi araştırılmıştır. Boyarmadde giderim hızını belirlemek için 0, 1 ve 2.derece reaksiyon kinetiği varsayımı yapılmış ve sıfır mertebenin biyobirikim hızıyla daha iyi uyum halinde olduğu görülmüştür. Diğer yandan her üç boyarmadde için, boyarmadde derişiminin (10, 20, 30 mg/L), ve şeker derişiminin (8, 16, 24 g/L) mayanın boyarmadde biyobirikimine birlikte etkisi incelenmiştir. En iyi giderimin 10 mg/L Acid Blue 93 ve 24 g/L şeker içeren % 100 olarak elde edilmiştir. Boyarmaddenin üreme hızına etkisini belirlemek için yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon modellerinden yararlanılmış olup, bu modellerden yarışmasız inhibisyonun deneysel sonuçlarla daha iyi uyum sağladığı belirlenmiştir. Bu model ile hesaplanan kinetik model parametrelerine göre Basic Violet 3 boyarmaddesinin inhibisyon oranının daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Örneğin 10 mg/L boyarmadde içeren ortamda K_i inhibisyon sabiti, Acid Blue 93 için 592 mg/L, Direct Red 28 için 238,76 mg/L ve Basic Violet 3 için 227 mg/L olarak hesaplanmıştır. Bunların yanı sıra şeker ve boyarmadde derişiminin özgül üreme hızı ve biyobirikime etkisi için yanıt yüzey (RSM) metodundan yararlanılmıştır [Das ve ark., 2010a].

Das ve arkadaşlarının yaptıkları diğer bir çalışmada, Basic Violet 3 boyarmaddesinin ve Pb(II), Cd(II) metallerinin *Candida tropicalis* mayası ile biyobirikim koşulları incelenmiştir. Deneyler 28°C sıcaklıkta ve 120 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. pH 3-7 arasında değiştirilmiş ve pH=5 optimum pH olarak seçilmiştir. Basic violet 3, Cd(II), Pb(II)'in hem tekli biyobirikimleri, hemde Basic Violet 3 – Cd(II), Basic Violet 3 – Pb(II) 'in ikili biyobirikimleri incelenmiştir. Ortamda sadece 10 mg/L Basic Violet 3 boyarmaddesi olduğunda % 85,3 , 2 mg/L

Pb(II) olduğu zaman % 90,1 ve 2 mg/L Cd(II) olduğu durumda % 85 biyobirikim elde edilmiştir. Ortamda 10 mg/L Basic Violet 3 ve 2 mg/L Cd(II) birlikte iken % 15,9 boyarmadde, % 55,5 Cd(II) biyobirikimi gerçekleştirilmiştir. Ortamda 10 mg/L Basic Violet 3 ve 2 mg/L Pb(II) birlikte iken % 49,5 boyarmadde, % 49,6 Pb(II) biyobirikimi gerçekleştirilmiştir. Diğer yandan yarışmalı, yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon modelleri sisteme uygulanmış ve çalışılan bütün boyarmadde ve metal derişimleri için özgül üreme hızı (μ_m , saat⁻¹), Monod doygunluk sabiti (K_s , g/L) ve inhibisyon sabiti (K_i , g/L) hesaplanmıştır [Das ve ark., 2010b].

3.2. Reaktör Sisteminde Boyarmadde Giderimi İle İlgili Çalışmalar

Ohmomo ve arkadaşları sürekli sistemde, *Coriolus versicolor* Ps4a ile şeker fabrikasının melas içeren renkli atıksuların rengini giderme olanaklarını araştırmışlardır. Çalkalamalı kaplarda gerçekleştirilen deneylerde pepton derişimi (% 0,01-0,5), glikoz derişimi (% 0-5) ve karıştırma hızı (80, 100, 125 rpm) değiştirilmiş ve renk giderimi için % 0,5 pepton derişimi, % 0,5 glikoz derişimi ve 1 mg/L çözülmüş oksijen derişiminin (100 rpm karıştırma hızına eşdeğer) optimum koşullar olduğu belirlenmiştir. Sürekli reaktör koşullarında, pellet tip mikroorganizma ile gerçekleştirilen deneylerde, seyrelme hızı 0,03 ve 0,06 saat⁻¹ olarak değiştirilmiş ve $D=0,03$ saat⁻¹'de % 75 giderim optimum koşullar olarak belirlenmiştir. Sürekli sistemde kalsiyum aljinatla immobilize edilmiş hücrelerle gerçekleştirilen deneylerde, seyrelme hızı $D=0,022$ saat⁻¹ iken % 65,7 renk giderimi elde edilmiştir [Ohmomo ve ark., 1985].

Işık ve Spoza'nın yaptıkları çalışmada, kesikli sistemde Reaktif Black 5 (RB5) ve Direk Brown 2 (DB2) boyarmaddelerinin PAKMAYA'dan temin edilen anaerobik kültür karışımıyla biyobirikimi incelenmiştir. Karbon kaynağı olarak glikoz (3000 mg COD /L) kullanılmıştır. Her iki boyarmaddenin derişimi 200-3200 mg/L olarak değiştirilmiş ve RB5 için % 93-98, DB2 için % 70 boyarmadde giderimi elde edilmiştir. Substrat tüketimi ve renk giderim kinetiği için en uygun modeli belirlemek için Monod'un sıfır, birinci ve ikinci mertebeleri kullanılmıştır. Her bir

boyarmadde derişimi için K_s monod doğunluk sabiti hesaplanmıştır. Ayrıca sıfır, bir ve ikinci merteye hız sabitleri ile boyarmaddeden kaynaklanan inhibizasyon sabitleri hesaplanmıştır [Işık ve Sponza, 2004].

S. cerevisiae mayasının kesikli ve sürekli bir reaktör sisteminde üremesi modellenmiştir. *S. cerevisiae* mayası için melas, NaH_2PO_4 , $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ve $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ içeren besin ortamı kullanılmıştır. Deneyler, 4 litre çalışma hacmine sahip reaktörde, 30°C sıcaklık, pH=4,5, 500 rpm karıştırma hızı, 1,25 v/vm hava akış hızı, 15-30 g/L şeker derişimi koşullarında gerçekteştirilmiştir. Sürekli sistemde 0,082-0,185 saat⁻¹ arasındaki seyrelme hızlarında çalışılmıştır. *S. cerevisiae* mayasının üremesi Monod modeli ile ifade edilmiştir. Monod modeline göre en yüksek özgül üreme hızı (μ_m) 0,341 saat⁻¹, ve Monod doğunluk sabiti, K_s 1 g/L olarak hesaplanmıştır [Kariminiaae Hamedani ve ark., 2005].

Tondee ve arkadaşları izole *Issatchenkia orientalis* No.SF9-246 mayası ile melas içeren atıksuyun rengini giderme koşullarını araştırmışlardır. Deneylerde iki farklı melas atıksuyu kullanılmıştır. Birincisinde işlem görmemiş (U-MWW) melas atıksuyu, ikincisi ise anaerobik ön işlem görmüş (T-MWW) melas atıksuyudur. Deneyler kesikli sistemde, 125 rpm'de, 30°C'de pH=5'te ve % 2,5 karbon kaynağı varlığında gerçekteştirilmiştir. Melas atıksuyunun renk giderme işlemine farklı karbon kaynaklarının, azot kaynaklarının, pH'ın, aşılanan kültür derişiminin ve sürekli kültür sisteminde besleme hızının etkisi araştırılmıştır. En yüksek giderimler karbon kaynağı olarak glikoz, azot kaynağı olarak % 0,1 NH_4Cl ve pH=5 kullanıldığı durumda elde edilmiştir. Aşılanan kültür derişiminin renk giderimine önemli bir katkısının olmadığı ve melas atıksuyu işlem gördüğünde daha yüksek bir giderim elde edildiği gözlemlenmiştir. Optimum koşullarda, kesikli sistemde, melasta renk yapan melanoin pigmenti, COD ve BOD₅'nin sırasıyla % 91,2, % 77,4, % 80 oranında giderim verimi elde edilmiştir. Sürekli sistemde, % 10 taze T-MWW besleme hızında, % 75-80 oranında renk giderimi verimine ulaşılmıştır [Tondee ve ark., 2008].

Blanquez ve arkadaşları, 0,5-1 litre hacmindeki reaktör sisteminde, Grey Lanaset G tekstil boyarmaddesinin pelet haline getirilmiş *Trametes versicolor* ile giderimini araştırmışlardır. Kesikli sistemde 0,5 litre hacmindeki reaktörde gerçekleştirilen deneylerde boyarmadde derişimi 150 mg/L, glikoz derişimi 8 g/L ve pH=4,5'dir ve bu koşullarda % 90 boyarmadde giderim elde edilmiştir. Sürekli sistemde karbon kaynağı 0,31 g glikoz/g biyokütle derişiminde ve 11 mL/L besleme hızında çalışılmıştır. Ayrıca sürekli sistem deneyleri, 10 litre hacmindeki pilot ölçekli bir reaktör sisteminde gerçekleştirilmiş olup, bu sistemdeki deneylere kesintisiz olarak 3 ay boyunca devam edilmiştir. Pilot ölçekli sistemde ortalama % 78 boyarmadde giderimi elde edilmiştir. Bu sistemde, bir tekstil fabrikasının tekstil atıksuyu kullanılarak % 40-60 arasında renk giderimine ulaşılmıştır [Blanquez ve ark., 2008].

Khelifi ve arkadaşları, tekstil atıksularındaki indigo boyarmaddesinin sürekli karıştırmalı tank reaktörde (CSTR) ve fixed film reaktörde (FFB) karışık hücre kültürü kullanarak gidermeye çalışmışlardır. Deneyler 1 litre hacmindeki CSTR'de 700 mL çalışma hacminde ve atıksu yükleme hızı 0,92-3,7 g/L.gün hız aralığında, 1,5 litre hacime sahip FFB'de ise 0,09-0,73 g/L.gün yükleme hızında gerçekleştirilmiştir. Tekstil atıksuyu pH=7,5 ve COD 1185 mg/L derişimine sahiptir. 2 biyoreaktörün birleştirildiği bu çalışmalarda, hidrolik alıkonma süresi 4 gün ve atıksu yükleme hızı 0,29 g/L.gün iken COD ve renk giderimi sırasıyla % 97,5 ve % 97,3 olarak elde edilmiştir [Khelifi ve ark., 2008].

Bu çalışmada, Bidestan Distile Ürünler firmasının atıksuyunun renginin *Aspergillus fumigatus* U_{B2}60 ile giderimi araştırılmıştır. Deneysel çalışma, 200 m³ hacimli yukarı akışlı aerobik ceketli reaktörde pH=5,57 iken gerçekleştirilmiştir. Mikrobiyal üreme için Lojistik eşitlik, boyarmadde giderimi ve substrat tüketimi için Leudeking Piret kinetiği kullanılmıştır. Substrat 14 g/L iken biyokütle verimi % 70,7 ve bakım katsayısı $m = 0,0007$ g/g , $\mu_m = 0,03$ saat⁻¹ hesaplanmıştır. Deneyler süresince yaklaşık % 80 renk giderimi elde edilmiştir [Pazouki ve ark., 2008].

3.3. Krom Giderimi ile İlgili Yapılan Çalışmalar

Bu çalışmada *Candida intermedia* ZIM 156 mayasının krom (III) içeren ortamda üremesi ve krom (III)'ü biyobirikimi araştırılmıştır. Krom (III) kaynağı olarak $KCr(SO_4)_2 \cdot 12H_2O$ kullanılmıştır. Deneylerde krom (III) derişimi 0,1 mM'dır. Kesikli sistemde gerçekleştirilen deneylerde $8,68 \pm 0,16 \mu\text{mol /g}$ kuru hücre ağırlığı biriminde toplam krom biyobirikimi, kesikli/yarı kesikli işlemin beraber gerçekleştirildiği sistemde, $1,92 \pm 0,04 \mu\text{mol /g}$ kuru hücre ağırlığı biriminde toplam krom biyobirikimi elde edilmiştir [Batik ve Raspor, 2000].

Cr(VI)'ın *Candida utilis* mayasının büyümesi üzerine etkisinin incelendiği bu çalışmada, bu mayanın Cr(VI) biyobirikimi de incelenmiştir. *Candida utilis*'in büyüme ortamında glukoz kaynağı olarak melas kullanılmıştır. Deneysel çalışmada belirli sürelerde alınan numunelerde, Cr(VI), Cr(III), toplam krom, biyokütlenin biyobiriktirdiği krom miktarı belirlenmiştir. *Candida utilis*'in büyümesine Cr(VI)'ın etkisinin araştırıldığı çalışmalarda başlangıç Cr(VI) derişimi 50-500 mg/l değiştirilmiş, ve 100 mg/l ve daha yüksek derişimlerde Cr(VI) içeren ortamlarda *Candida utilis*'in çok az büyüdüğü, Cr(VI)'un düşük derişimlerinde glukozun büyük bir kısmının tüketildiği, ancak 300 mg/l ve daha yüksek Cr(VI) derişimlerinde glukoz tüketiminin az olduğu görülmüştür. Yapılan bu çalışma sonucunda ilk olarak, biyokütlenin Cr(VI) biyobirikimi, 100-300 mg/l gibi çok dar bir Cr(VI) derişimi aralığında gerçekleşmiş ve ikincisi olarak ise, biyobiriken Cr(VI)'nın, Cr(III) formuna dönüşmesidir [Muter ve ark., 2001].

Çalışmada *S. cerevisiae*'nin yarı aerobik ve statik koşullarda $CrCl_3$ içeren melaslı besin ortamında fermentasyonu incelenmiştir. 200 mg/L derişimindeki $CrCl_3$ üreme ortamına eklenmiş ve mayanın bu ortamdaki davranışı incelenmiştir. Deneyler 30°C'de 10 saat süre ile gerçekleştirilmiştir. Deneyler süresince krom (III) iyonlarının maya hücrelerine tutunduğu gözlenmiştir. Bu koşullar altında krom (III)'ün maya hücrelerine tutunması üstel üreme fazında gerçekleşmiştir ve tutunma miktarı 30-45 μg krom (III)/g biyokütle'dir. *Saccharomyces cerevisiae*'nin alkole

fermantasyonu sırasında CrCl_3 ile işlem görmüş ve işlem görmemiş mayanın üreme hızı, alkol üretim hızı ve glikoz tolerans faktörü karşılaştırılmıştır [Zetic ve ark., 2001].

Ksheminska ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, *Pichia guilliermondii* mayası ile Cr (III) ve Cr (VI) giderimi ve kromun maya üzerindeki inhibitör etkisi incelenmiştir. Cr (III) kaynağı olarak $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ ve Cr (VI) kaynağı olarak $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ kullanılmıştır. Deneylerde *Pichia guilliermondii*'ye ait yaklaşık 15 suş kullanılmıştır. Bu suşların bir kısmı doğal kaynaklardan izole edilmiş olup, bir kısmı kültür koleksiyonlarından temin edilmiştir. Deneysel çalışma başlangıç pH'ı 5,5'ta, 200 rpm karıştırma hızındaki çalkalamalı kaplarda, 30°C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Çalışılan koşullarda mayalar, ortamdaki kromdan etkilenmiş ve üreme % 30 oranında inhibe olmuştur. Ancak izole mayaların, laboratuvar kültürlerine oranla kroma daha dirençli oldukları ve Cr (VI)'ya olan hassasiyetin, Cr (III)'e göre 10 kat fazla olduğu gözlemlenmiştir. İzole mayalar 2-5 mM Cr(III) ve 0,3-0,5 mM Cr (VI) derişimlerine dayanabiliyorken, laboratuvar kültürleri ancak 2 mM Cr(III) ve 0,3 mM Cr(VI)'ya dayanabilmektedirler. En yüksek krom tutma kapasitesi, izole mayalar ile, başlangıç Cr(III) derişimi 5 mM iken 4 mgCr/g biyokütle ve başlangıç Cr(VI) derişimi 0,5 mM iken 0,94 mgCr/g biyokütle olarak elde edilmiştir. Ortama eklenen riboflavinin, *Pichia guilliermondii*'nin Cr (III) ve Cr (VI)'ya olan direncini arttırdığı belirlenmiştir [Ksheminska ve ark., 2003].

Candida intermedia mayasının Cr(III) ve Cr(VI) biyobirikiminin incelendiği bu çalışmada, ortamdaki başlangıç Cr(III) derişimi 1mM ve Cr(VI) derişimi 20 μM 'dır. *Candida intermedia* mayasının yüzey morfolojisi taramalı elektron mikroskopu (SEM) ile incelenmiştir. Ortamda bulunan 1mM'lık Cr(III)'ün mayanın büyümesini engellemediği, mayanın şeklini ve boyutlarını değıştirmedeği ancak ortamda bulunan 10 mM'lık Cr(III)'ün mayanın büyümesini engellediği, özellikle mayanın morfolojik özelliklerini etkilediği mayanın şeklini değıştirdiği gözlemlenmiştir. Bununla birlikte ortamda 1mM'lık Cr(VI)'in bulunması durumunda mayanın büyümesini önemli

derecede engellediği ancak mayanın morfolojik özelliklerinde önemli bir değişiklik gözlenmemiştir [Pas ve ark., 2004].

Pichia, *Candida*, *Debaryomyces*, *Kluyveromyces*, gruplarına ait 9 maya türünün, krom (III) ve (VI)'nın biyobirikimini temel alan bu çalışmada, metal derişimi, biyokütle derişimi ve biyobirikim deney süresinin maya biyobirikimine etkisi araştırılmıştır. Mikroorganizma aşılama derişiminin biyobirikime etkisinin incelenmesi amacıyla 0,03 mg hücre kuru ağırlık / ml. ve 1 mg hücre kuru ağırlık / ml. derişiminde olacak şekilde mikroorganizma deney ortamına aşılınmış ve 4 mM derişimindeki Cr(III), 0,8 mM derişimindeki Cr(VI) biyobirikimi incelenmiştir. Ortama aşılana mikroorganizma derişimi arttıkça biyobirikimin arttığı görülmüştür. Bununla birlikte mayaların Cr(III) biyobirikiminin Cr(VI) biyobirikimine oranla daha hızlı gerçekleştiği gözlemlenmiştir [Kaszycki ve ark., 2004].

Saccharomyces, *Zygosaccharomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Debaryomyces*, *Schwanniomyces*, *Cryptococcus*, *Kluyveromyces*, *Hansenula* gruplarına ait 51 maya türüne, krom (III) ve (VI)'nın biyobirikimi incelenmiştir. Bu amaçla başlangıç Cr(III) derişimi 0,25-5 mM, Cr(VI) derişimi 0,1-0,5 mM aralığında değiştirilmiştir. Mayaların Cr(III) ve (VI) biyobirikimleri farklı olmakla birlikte, mayaların çoğu için bir korelasyon gözlemlenmemiştir. *Pichia guilliermondii* mayasının Cr(III) ve (VI) varlığında çekilen elektron mikroskopisi görüntülerinde, mikroorganizmanın hücre morfolojisinin krom (III) ve (VI) dan etkilendiği görülmüştür [Ksheminska ve ark., 2005].

Bu çalışmada *Pichia guilliermondii* ATCC 201911 mayasının Cr(III) ve Cr(VI) toleransı incelenmiştir. Deneysel çalışma 30 °C'de, 200 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Cr(VI) kaynağı olarak $K_2Cr_2O_7$ kullanılmıştır. Çalışmalarda, Cr(VI) derişimi 0,1-2 mM, Cr(III) derişimi 1-12 mM arasında değiştirilmiştir. Ortamdaki Cr(VI) derişimi 2 mM'a arttırıldığında mayanın üreme eğrisinde gecikme fazı uzamıştır ve maya hücreleri % 90 oranında inhibe olmuştur ve . Benzer şekilde ortamdaki Cr(III) derişimi arttıkça maya inhibisyon oranı artmıştır. Deneylerde

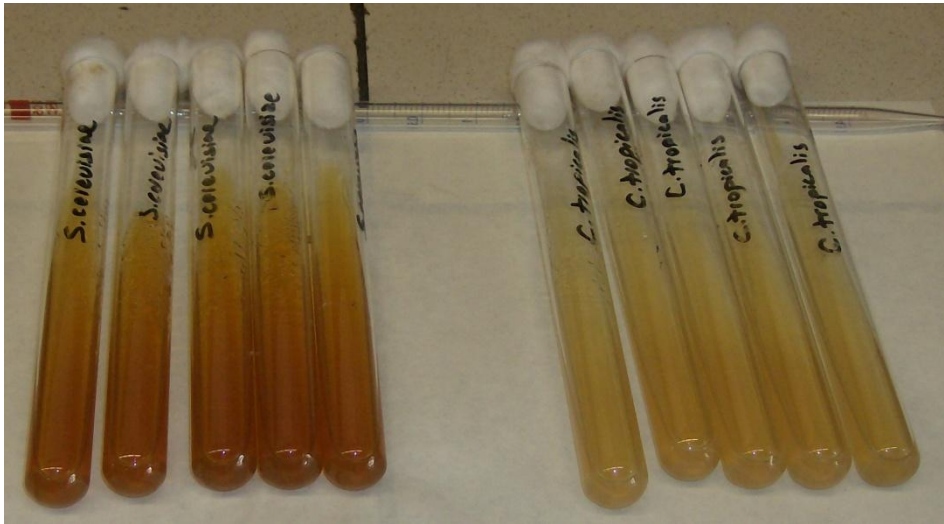
karbon kaynağı olarak üre kullanılmıştır. Deneyler sırasında Cr(VI)'nın Cr(III)'e hücre dışı bir mekanizmayla indirgenmiştir [Ksheminska ve ark., 2008].

Bu çalışmada *Pichia stipitis* mayası ile Cr(III) ve Cu(II) giderimi sentetik glikoz ortamında gerçekleştirilmiştir. Cr(III) ve Cu(II) gideriminde *Pichia stipitis* mayasının hem canlı hemde ölü formu kullanılmıştır. Deneyler 100 mL çalışma hacminde 350 rpm karıştırma hızında ve 30°C sıcaklık koşullarında gerçekleştirilmiştir. Canlı maya kullanıldığı durumda mayanın metallere adaptasyonunun metal giderimine etkisi incelenmiş ve adapte edilmiş mikroorganizma ile diğerine oranla her iki metal için daha yüksek giderim elde edilmiştir. Deneylerde kullanılan metal derişimleri 10, 30, 50, 75 ve 100 mg/L'dir. Cr(III) için adapte edilmemiş maya ile bu derişimlerde sırasıyla % 35, 22, 25, 20 ve 0 giderim elde edilirken adapte edilmiş maya ile sırasıyla % 85, 76, 71, 70 ve 58 giderim elde edilmiştir. Cu(II) için adapte edilmemiş maya ile bu derişimlerde sırasıyla % 33, 19, 22, 15 ve 0 giderim elde edilirken adapte edilmiş maya ile sırasıyla % 89, 75, 66, 62 ve 61 giderim elde edilmiştir. Ölü maya ile yapılan giderim çalışmalarında metal derişimleri 10, 30, 50, 75 ve 100 mg/L olup deneyler 20 ve 35 °C sıcaklıkta gerçekleştirilmiştir. Bu kısım için Freundlich, Langmuir ve Temkin izotermi kullanılmıştır [Yılmaz ve Saraçoğlu, 2009].

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

4.1. Mikroorganizmalar ve Kültür Koşulları

Tekstil atıksularından boyarmadde ve krom iyonu giderimi için Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezinden liyofiliz halde alınan, 251 TP(3-2) kod nolu *Saccharomyces cerevisiae* mayası kullanılmıştır. Liyofiliz haldeki maya, ilk olarak sıvı ortama transfer edilmiştir. Sıvı ortam; 0,3 g maya özütü, 0,3 g malt özütü, 0,5 g pepton ve 1 g glikozun 100 mL damıtık suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiden 0,5-0,7 mL tüplere konularak bu tüpler 121°C de 30 dakika süre ile steril edilmiştir. Mayanın içinde bulunduğu cam kapsülün ağzı steril koşullarda kesildikten sonra, içindeki maya hazırlanan sıvı ortama transfer edilmiştir. Maya burada çözüldükten sonra 2-4 gün inkübatörde üremesi beklenmiş ve daha sonra eğik agar ortamına steril koşullarda aktarılmıştır. Eğik agar ortamı; 0,5 g maya özütü, 0,5 g malt özütü, 2 g pepton ve 2 g glikoz ve 2 g agarın 100 mL damıtık suda çözülmesiyle hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti tüplere konularak 121°C de 30 dakika süre ile steril edilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* mayası, ilk hazırlanan sıvı ortamdan eğik agar ortamına steril koşullarda bir öze yardımıyla ekilmiştir. Bu ortamlar 30°C de 2-4 gün süre ile inkübatörde mikroorganizmaların gelişmesi için bekletilmiştir.

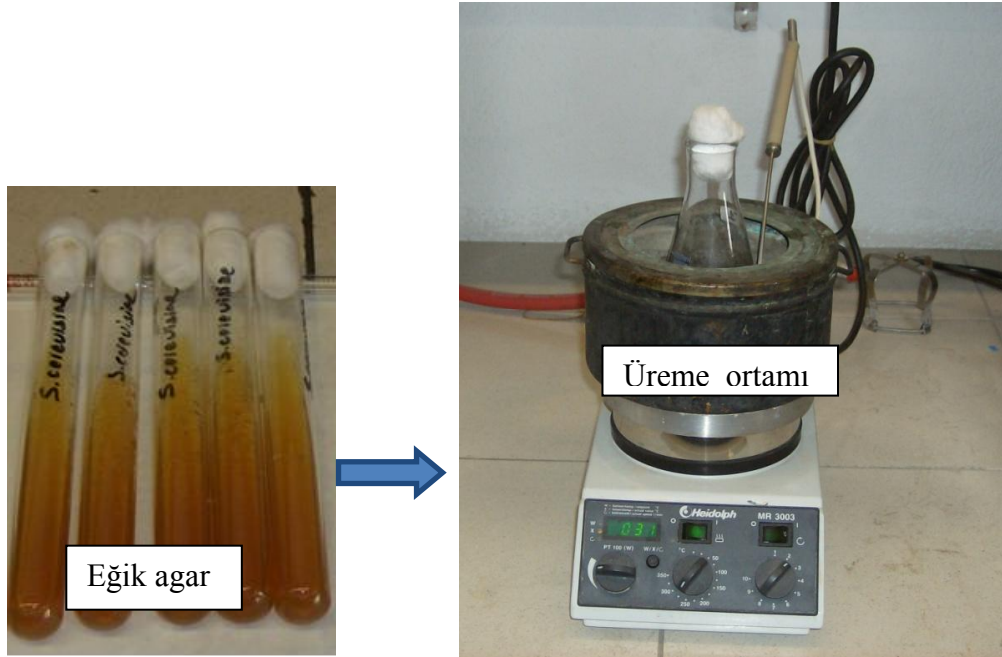


Resim 4.1. Eğik agar

Tekstil atıksularından boyarmadde ve krom giderimi için kullanılan diğer mikroorganizma *Candida tropicalis* mayasıdır. *Candida tropicalis* mayası Hacettepe Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümünde Prof.Dr. Zümriye Aksu'dan temin edilmiştir. Bu maya, bileşimi 3 g/L maya özütü, 3 g/L malt özütü, 5 g/L pepton, 10 g/L glikoz ve 20 g/L agar (Varma ve Gaikwad, 2008) olan, 121°C de 30 dakika steril edilmiş katı besiyerine yine steril koşullarda ekilmiş ve 30°C de 2-4 gün süre ile inkübatörde mikroorganizmaların gelişmesi için bekletilmiştir.

4.2. Üreme Ortamı

Mikroorganizmalar biyobirikim deneylerinde kullanılmadan önce eğik agardan üreme ortamına aktarılarak çoğalmaları sağlanır. Üreme ortamı 10 g/L indirgen şeker, 1 g/L potasyum dihidrojen fosfat ve 1 g/L amonyum sülfat içermektedir. Üreme ortamının pH'ı *Saccharomyces cerevisiae* için pH 4,5'e *Candida tropicalis* için pH 4'e 1 M'lık H₂SO₄ ve 1 M'lık NaOH çözeltileri kullanılarak ayarlanmıştır. Hazırlanan 100 ml üreme ortamı 250 mL'lik erlende ağzı pamuk tıkaçla kapatılarak 121°C de 30 dakika süre ile steril edilmiştir. Eğik agardan, 100 mL çalışma hacmindeki üreme ortamına mikroorganizma aşılansak *Saccharomyces cerevisiae* mayası 30 °C sıcaklıkta 440 rpm, *Candida tropicalis* mayası için 30 °C sıcaklıkta 220 rpm karıştırma hızında manyetik karıştırıcıda mikroorganizmanın üremesi için bekletilmiştir (Resim 4.2.).



Resim 4.2. Mayaların eğik agardan üreme ortamına transferi

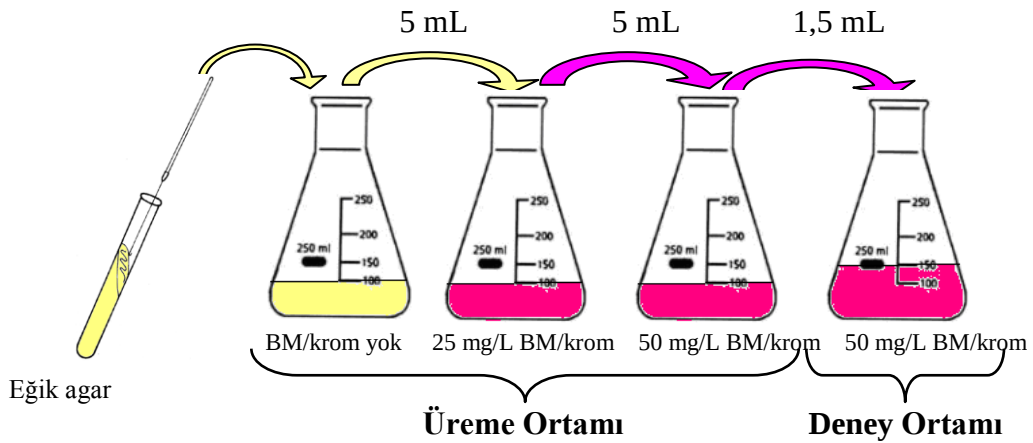
4.3. Melasın Hidrolizi

Melastaki sakaroz, deneylerde kullanılmadan önce asitle hidroliz edilmiştir. Hidroliz işleminde melas çözeltisi, derişik H_2SO_4 ile pH 2'ye ayarlanmış ve daha sonra $90^\circ C$ sıcaklıkta 5 dakika kaynatılıp 2000 rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası dipte çöken kısım atılarak, üstteki sıvı çözeltinin pH'ı 10 M'luk NaOH çözeltisi kullanılarak 6'ya ayarlanmış ve çözelti tekrar 2000 rpm de 5 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen çözeltinin dipte çöken kısmı atılarak, üstteki sıvı çözelti deneylerde kullanılmıştır.

4.4. Adaptasyon ve Biyobirikim Deneyleri

Deneylerde kullanılan mikroorganizma, çalışılan boyarmadde ve krom derişimlerine tek tek adapte edilmiştir. Bu amaçla öncelikle boyarmadde ya da krom içermeyen üreme ortamında mikroorganizma üretildikten sonra, üreme ortamının üstel üreme evresinden alınan mikroorganizma 25 mg/L boyarmadde ya da krom içeren üreme

ortamına, üreme ortamı hacminin (100 mL) % 5'i (5 mL) olacak şekilde aşılanmıştır. Bu üreme ortamı, hem bu derişimde boyarmadde yada krom içeren deney ortamlarına mikroorganizma aşılama amacıyla, hem de 50 mg/L boyarmadde yada krom içeren üreme ortamında mikroorganizmanın adapte edilmesi için kullanılmıştır. 25 mg/L boyarmadde ya da krom içeren üreme ortamının üstel üreme evresinden alınan mikroorganizma, 50 mg/L boyarmadde içeren üreme ortamına, üreme ortamı hacminin % 5'i (5 mL) olacak şekilde aşılanmıştır. 50 mg/L boyarmadde ya da krom içeren üreme ortamının üstel üreme evresinden alınan mikroorganizma ise, hem daha yüksek derişimde boyarmadde yada krom içeren ortama mikroorganizmanın adapte edilmesi için, hem de 50 mg/L boyarmadde ya da krom içeren deney ortamına, biyobirikim deney ortamı hacminin (150 mL) % 1'i (1,5 mL) olacak şekilde aşılanması için kullanılmıştır. Bu adaptasyon prosedürü Şekil 4.1'de açıkça görülmektedir. Bu şekilde, mayalar çalışılan bütün boyarmadde yada krom derişimlerine tek tek adapte edilmişler ve çalışılan boyarmadde yada krom derişimlerine tek tek adapte edilen mayalar, aynı derişimde boyarmadde yada krom içeren deney ortamlarına aşılama için kullanılmışlardır. Aşılanma aşamasında, mikroorganizmanın üstel üreme evresine ulaşma süresi, ortamdaki boyarmadde ve krom derişimine, indirgen şeker derişimine bağlı olarak değişim göstermektedir.

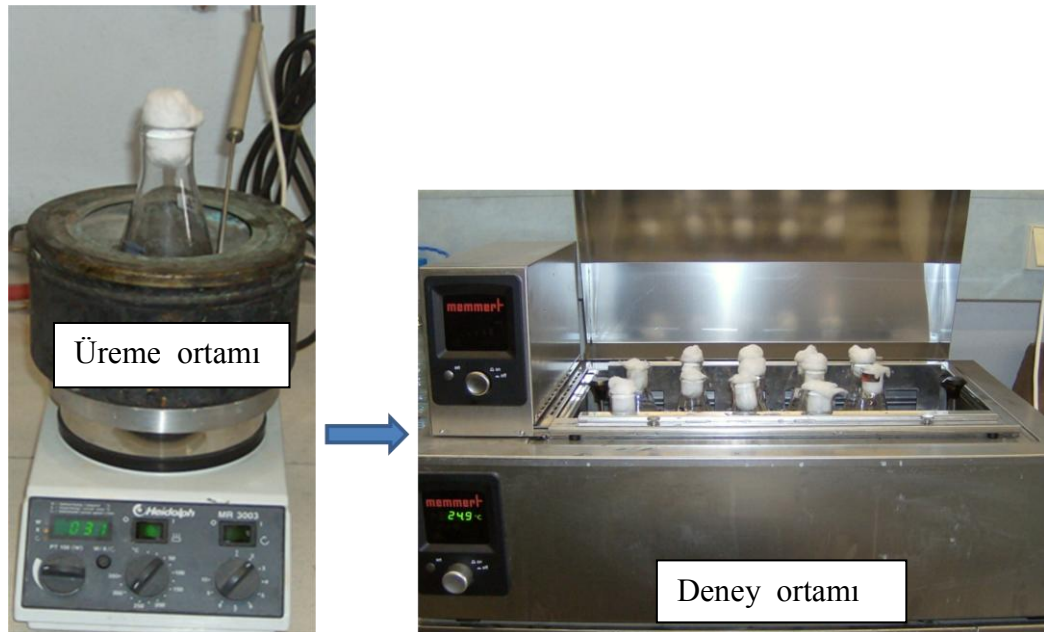


Şekil 4.1. Mikroorganizmanın boyarmadde ve kroma adaptasyon yöntemi

Mayaların boyarmadde ve kromu birlikte içeren ortamlara adapte edilmesi ise, kullanılacak kombinasyona göre o derişimlerde boyarmadde ve kromu birlikte içeren ortamların herbirine mayanın adapte edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Üreme ortamlarına aşılama yaparken, aşılama miktarı, üreme ortamının % 5'i olacak şekilde yani 100 mL'lik üreme ortamına 5 mL 'dir. Diğer yandan üreme ortamından biyobirikim deneylerinin gerçekleştirileceği deney ortamına aşılama yaparken, 1,5 mL aşı kullanılmıştır.

Biyobirikim deneyleri, 150 mL çalışma hacmine sahip 250 mL'lik erlenlerde, 30°C sıcaklıkta, 140 rpm karıştırma hızında, çalkalamalı su banyosunda gerçekleştirilmiştir. Deneyler, adapte edilmiş üreme ortamından deney ortamına, mikroorganizma aşılamaıyla başlatılmıştır (Resim 4.3).

Biyobirikim deneyleri süresince belli aralıklarla alınan numunelerin pH'ı 0,1 M ve 1 M NaOH çözeltisi ile 6'ya ayarlanarak 3700 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve dipte çökelen kısım biyokütle üremesi tayininde, sıvı kısım ise indirgen şeker derişimi ve boyarmadde derişiminin tayininde kullanılmıştır.



Resim 4.3. Mayaların üreme ortamından biyobirikim deney ortamına aşılama

4.5. Analiz Yöntemleri

4.5.1. Mikroorganizma derişiminin belirlenmesi

Analiz için deney ortamından alınan 3 ml örnek 3700 rpm’de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Tüpte üstte kalan kısım diğer analizler için ayrılarak, dipte kalan biyokütle üzerine örnek ile aynı hacimde (3mL) saf su konulmuş ve 600 nm’de UV spektrometrede absorbansı okunarak absorbans ile kuru ağırlık arasındaki bağıntıdan biyokütle kuru ağırlığı belirlenmiştir. Mikroorganizmanın kuru ağırlık tayini Ek-1’de detaylı olarak verilmiştir.

4.5.2. İndirgen şeker analizi

Deney ortamının indirgen şeker analizi DNS yöntemiyle, glikozun dinitrosalisilik asitle yaptığı turuncu renkli kompleks yardımıyla tayin edilir [Miller, 1959]. Bu metot indirgenmiş şeker yani serbest karbonil (C=O) gruplarını tayin etmek için kullanılır. Metotta ortamda bulunan aldehit ve keton fonksiyonel gruplarının alkali ortamda oksidasyonu gerçekleşirken aynı zamanda 3,5-dinitrosalisilik asit (DNS), 3-amino-5-nitrosalisilik asite indirgenir [Maryland Üniv., 2010]. İndirgen şeker analizinin yapılışı Ek-2’de verilmiştir.

4.5.3. Boyarmadde derişiminin belirlenmesi

Besin ortamı olarak melas kullanılan deneylerde, boyarmadde derişimi UV spektrometrede, 523 nm dalga boyunda, deney ortamıyla aynı derişimde melas içeren referansa karşı absorbansı okunarak belirlenmiştir (Ek-3).

4.5.4. Krom derişiminin belirlenmesi

Deney süresince alınan numunelerdeki krom, Cr (VI)'nın asidik ortamda difenilkarbazid ile reaksiyonu sonucu renk oluşumuna göre spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda absorbansı ölçülerek belirlenmiştir (Apha –Awwa-WPOF, 1976) Krom analizi için kullanılan yöntem Ek-4'te verilmiştir.

4.5.5. Mikroorganizmaların mikroskopta incelenmesi

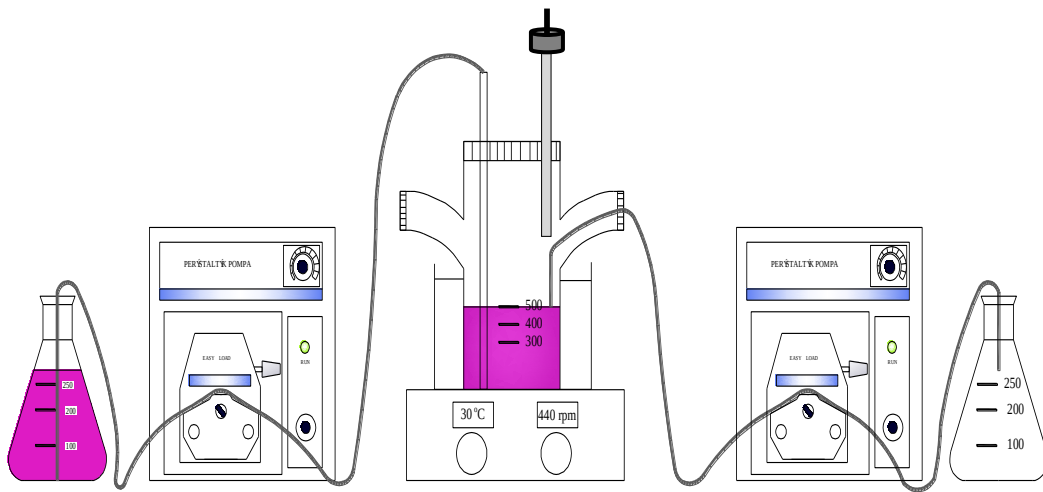
Üremesi tamamlanan mikroorganizmalar 40 µL alınarak steril bir öze yardımıyla lama iyice yayılmıştır. Lama yayılan mikroorganizmaların oda sıcaklığında kurumaları beklenmiş ve kuruyan lamalar alevden 3-4 kez geçirilerek, mikroorganizmanın lama sabitleşmesi sağlanmıştır. Hazırlanan preparatlardaki mikroorganizmaların üzerine 1 damla Malahit yeşili boyası damlatılarak 2 dakika beklenmiş ve preparatlar üzerindeki fazla boya, yıkama suyu berrak olana kadar saf su ile yıkanmıştır. Yıkama işleminden sonra preparatların kuruması beklenmiştir. Hazırlanan preparatlara immersiyon sıvısı damlatılmış ve mikroskopta 100 kat büyütülerek preparatların görüntüsüne bakılmıştır ve farklı açılardan mikroorganizmaların resimleri çekilmiştir.

4.6. Reaktör Sisteminde Deneylerin Gerçekleştirilmesi

Tekstil atıksularındaki Violet 90 boyarmaddesinin mayalarla giderimi için sürekli çalışan bir reaktör sistemi kurulmuştur. Bu sistemde kurulan reaktör 170*110 mm ebatlarında, üst kapağı silikon lastikten olup, yan kapakları teflondan yapılmıştır. Üst kapakta CO₂ çıkışı, besleme girişi ve numune alma bölümleri mevcuttur. Besleme girişi ise yan kapaktan yapılmıştır. Kapağa monte edilmiş dört kanatlı bir teflon karıştırıcı bulunmaktadır. Reaktör, su banyosunun içinde, bir manyetik karıştırıcı-ısıtıcı üzerine yerleştirilmiştir. Reaktörün karıştırıcısı, reaktörün üzerine konulduğu manyetik karıştırıcı yardımıyla döndürülmektedir. Sıcaklık 30°C olup, su banyosuna daldırılmış manyetik karıştırıcı-ısıtıcının sıcaklık probu ile kontrol edilmiştir.

Reaktör sisteminin girişine besleme akımının ve çıkışına çıkış akımının akış hızını ayarlayabilmek için peristaltik pompa konulmuştur. Sistemin giriş ve çıkışına filtre konulmamış olup, sisteme verilen besleme çözeltisi ile sistemin giriş ve çıkışındaki tüm ara bağlantılar steril edilmiştir.

Steril besleme çözeltisi ve melaslı besin ortamı, çalışılacak derişimde boyarmadde içermekte olup pH'ı 5'e ayarlanmıştır. Deneylerde çalışma hacmi 500 mL, karıştırma hızı 100 rpm olup bütün deneylerde bu hızda ve hacimde çalışılmıştır. Öncelikle reaktör, besleme çözeltisi ile aynı derişimde melas ve boyarmadde içeren çözelti ile doldurulmuş ve çalışılan boyarmadde derişimine adapte edilmiş maya reaktöre aşılanmıştır. Aşılama, çalışma hacminin % 1'i olacak şekilde 5 mL maya olarak gerçekleştirilmiştir. Reaktör, ilk önce reaktördeki boyarmadde giderimi yatışkın duruma erişinceye kadar (24.saat) kesikli koşullarda çalıştırılmış, 24. saatten sonra sisteme seçilen hızda steril edilmiş besleme çözeltisi verilmeye başlanmıştır. Sistem, sürekli besleme koşullarında, boyarmadde giderimi açısından yatışkın duruma eriştiğinde çalışma bırakılmıştır. Reaktör çıkışındaki maya sisteme geri verilmemiştir. Sistemde pH kontrolü yapılmamıştır, ancak reaktör çıkışında pH düzenli olarak ölçülmüştür. Reaktörden belli zamanlarda alınan numunelerde, biyokütle derişimi, boyarmadde derişimi, indirgen şeker derişimi belirlenmiştir. Şekil 4.2. reaktör sistemini göstermektedir.



Şekil 4.2 Reaktör sistemi

5. DENEYSEL BULGULAR VE TARTIŞMA

Bilindiği gibi tekstil endüstrisinde kullanılan boyarmaddeler kompleks yapıları nedeni ile çevre ve insan sağlığı üzerinde oldukça zararlı bir etkiye sahiptir. Boyarmaddelerin ve ağır metallerin atıksulardan giderimi çalışmalarında mayaların kullanılması oldukça yeni bir konudur. Bu çalışmada, tekstil atıksularında bulunan boyarmaddelerin ve krom iyonlarının mikroorganizmalar yardımı ile giderimi olanakları araştırılmıştır. Boyarmadde ve krom giderimi çalışmalarında *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis* mayaları kullanılmıştır. Çalışma genel olarak 4 ana bölüme ayrılmaktadır. Birinci bölümde, mayalarla (*Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis*) boyarmadde biyobirikimi araştırılmıştır. *Saccharomyces cerevisiae* ile C.I. Violet 90 metal kompleks boyarmaddesinin giderimi, karıştırmalı kaplarda kesikli olarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla öncelikle mayanın boyarmaddeye adaptasyonunun, boyarmadde giderimine etkisi araştırılmıştır. Daha sonra boyarmaddeye adapte edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* ile ortam başlangıç pH'ının ve karıştırma hızının, boyarmadde giderimine etkisi incelenmiştir. Ortamdaki başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin boyarmadde giderimine etkisi ise birlikte incelenmiştir. Başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin, *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesine ve boyarmadde biyobirikime etkisini tanımlamak amacıyla Monod kinetiği kullanılmıştır. Deneysel sonuçlarla kinetik modelin uyumu karşılaştırılarak sonuçlar kısmında verilmiştir.

Benzer şekilde *Candida tropicalis* mayası ile C.I. Violet 90 metal kompleks boyarmaddesinin giderimi kesikli sistemde araştırılmıştır. Bu amaçla öncelikle mayanın boyarmaddeye adaptasyonunun, boyarmadde giderimine etkisi araştırılmıştır. Daha sonra boyarmaddeye adapte edilmiş *Candida tropicalis* ile ortam başlangıç pH'ının, ortamdaki başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin boyarmadde giderimine etkisi incelenmiştir. Başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin, *Candida tropicalis* mayasının üremesine ve boyarmadde biyobirikime etkisini belirlemek amacıyla Monod kinetiği

kullanılmıştır. Deneysel sonuçlarla kinetik modelin uyumu karşılaştırılarak sonuçlar kısmında verilmiştir

Deneysel çalışmanın ikinci kısmında mayalarla krom giderimi gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis* mayaları ile krom giderimine başlangıç pH'ının etkisi incelenmiştir. Daha sonra sadece *Candida tropicalis* mayası ile krom giderimine, ortamdaki başlangıç indirgen şeker ve başlangıç krom derişiminin etkisi incelenmiştir. Başlangıç indirgen şeker ve başlangıç krom derişiminin, *Candida tropicalis* mayasının üremesine ve krom biyobirikime etkisini belirlemek amacıyla Monod kinetiği kullanılmıştır. Deneysel sonuçlarla kinetik modelin uyumu karşılaştırılarak sonuçlar kısmında verilmiştir

Deneysel çalışmanın üçüncü kısmında *Candida tropicalis* mayasıyla krom ve boyarmaddenin birlikte giderimi incelenmiştir. Başlangıç krom ve boyarmadde derişiminin, boyarmadde ve krom giderimine birlikte etkisini belirleyebilmek amacıyla, yapılacak deney sayısını belirlemede Box-Wilson deneysel tasarım metodu kullanılmıştır.

Deneysel çalışmanın dördüncü ve son aşamasında ise *Saccharomyces cerevisiae* ile C.I. Violet 90 metal-kompleks boyarmaddesinin giderimi sürekli sistem koşullarında gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla sürekli çalışan bir reaktör sistemi kurulmuş ve besleme hızının, boyarmadde biyobirikimine etkisi incelenmiştir. Seçilen besleme akış hızında, boyarmadde derişimi değiştirilerek boyarmadde biyobirikimi incelenmiştir. Besleme akış hızına bağlı olarak seyrelme hızının (D , 1/saat), *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üreme hızına etkisini tanımlamak amacıyla Monod tipi eşitliklerden faydalanılmıştır.

5.1. *S. cerevisiae* ile Boyarmadde Biyobirikimi Çalışmaları

5.1.1. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimine adaptasyonun etkisi

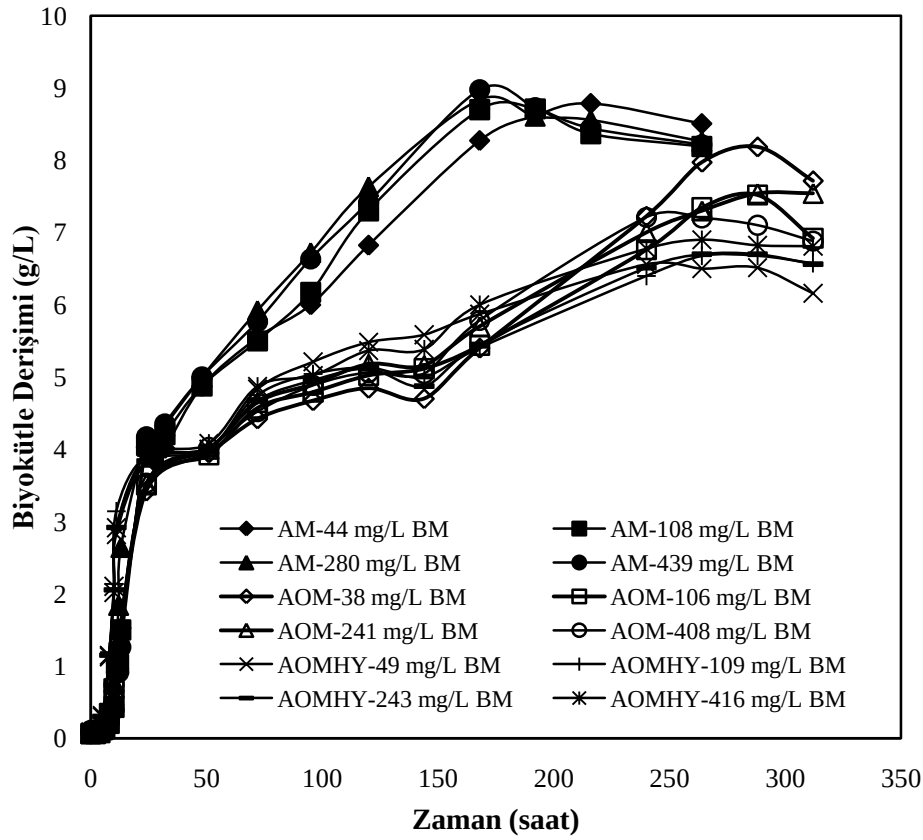
Boyarmadde giderimi çalışmalarında, yüksek boyarmadde derişimleri mikroorganizmaların üremesine engel olmakta ve boyarmadde biyobirikim verimini düşürmektedirler. Boyarmaddeye karşı daha dirençli ve biyobirikim verimi daha yüksek olan mayalar elde edebilmek için, mayaların çalışılacak boyarmadde derişimlerine adapte edilmeleri gerekmektedir. Çalışmanın bu aşamasında mayaların boyarmaddeye adaptasyonunun, boyarmadde biyobirikimine etkisi kesikli sistemde incelenmiştir. Deneyler 150 mL çalışma hacminde, 140 rpm karıştırma hızında, başlangıç pH'ı 5 ve başlangıç indirgen şeker derişimi 20 g/L iken gerçekleştirilmiştir. Adaptasyon deneylerinde ilk olarak, *Saccharomyces cerevisiae* mayası çalışılan boyarmadde derişimlerine tek tek adapte edilmiş (Bölüm 4.4.) ve adapte edilmiş (AM) *S. cerevisiae* mayasıyla biyobirikim deneyleri gerçekleştirilmiştir. Adaptasyon deneylerinde ikinci olarak, *Saccharomyces cerevisiae* mayası, boyarmaddeye adapte olmamış (AOM) ve boyarmadde içermeyen üreme ortamında üretilen maya direk boyarmadde içeren deney ortamına aşılannmıştır (Bölüm 4.4.). Adaptasyon deneylerinde üçüncü olarak ise, melas çözeltisi hidroliz işlemine tabi tutulmadan direk kullanılmış ve maya boyarmaddeye adapte edilmemiştir (AOMHY).

Deneyssel sonuçlara göre, maya boyarmaddeye adapte edildiğı zaman, elde edilen özgül üreme hızı ve boyarmadde biyobirikimi, mayanın adapte edilmediğı koşullara göre daha yüksektir. Örneğın kontrol deneyinde (boyarmadde içermeyen ortam) 0,380 saat⁻¹ özgül üreme hızı, 44 mg/L boyarmadde içeren deneyde, adapte maya ile 0,369 saat⁻¹ özgül üreme hızı ve % 74,4 boyarmadde biyobirikimi, 38 mg/L boyarmadde içeren deneyde, adapte olmayan maya ile 0,221 saat⁻¹ özgül üreme hızı ve % 49,3 boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir (Çizelge 5.1).

Çizelge 5.1. *S. cerevisiae* mayasının boyarmaddeye adaptasyonunun boyarmadde giderimine etkisi

Boyarmadde Derişimi (mg/L)	μ_m (saat ⁻¹)	Xm (g/L)	% Boyarmadde Giderimi
Maya boyarmaddeye adapte edilmiş (AM)			
Kontrol	0,380	9,00	-
44	0,369	8,79	74,4
108	0,350	8,71	60,9
280	0,344	8,84	40,9
439	0,335	8,98	30,8
Maya boyarmaddeye adapte edilmemiş (AOM)			
Kontrol	0,380	9,00	-
38	0,221	8,48	49,3
106	0,219	7,52	46,7
241	0,212	7,54	34,5
408	0,204	7,21	22,0
Maya boyarmaddeye adapte edilmemiş ve melas hidroliz edilmemiş (AOMHY)			
Kontrol	0,365	6,40	-
49	0,354	6,56	35,7
109	0,352	6,68	31,3
243	0,331	6,70	15,8
416	0,322	6,90	10,4

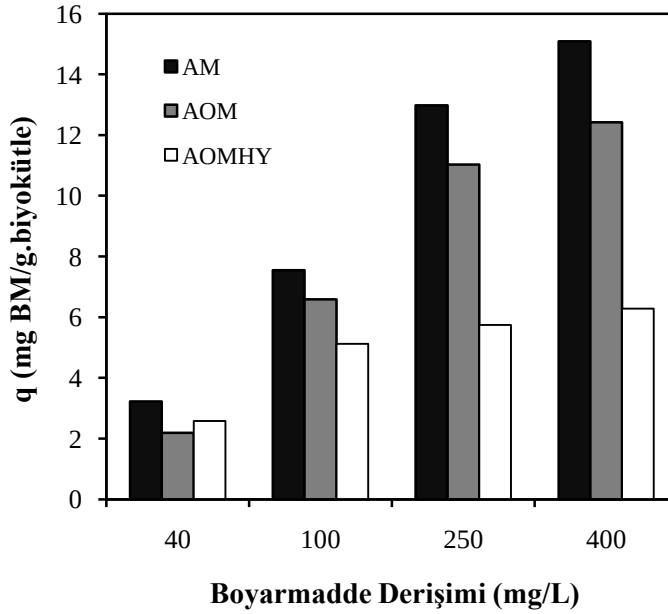
Diğer yandan Şekil 5.1 farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde adapte maya (AM), adapte olmayan maya (AOM) ve hidroliz edilmemiş melas + boyarmaddeye adapte edilmemiş maya (AOMHY) ile gerçekleştirilen biyobirikim deneylerine ait üreme eğrileridir. Hem AM, AOM ve AOMHY üreme eğrilerinde gecikme fazı (lag fazı) gözlenmemiştir. Her ne kadar AM, AOM ve AOMHY için üreme eğrilerinin üstel üreme evreleri birbiri ile aynı gibi gözükse de, deneysel sonuçlar adapte mayanın üreme hızlarının daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca Şekil 5.1’de adapte olmayan mayanın (AOM) üreme eğrileri, 24. saatten sonra adapte mayanın (AM) üreme eğrilerinin çok altında kalmıştır. AOMHY ile elde edilen üreme eğrileri AOM üreme eğrileri ile çakışmış durumda olup, erişilen en yüksek maya derişimleri AOM ile elde edilen en yüksek maya derişimlerinden düşüktür.



Şekil 5.1. Farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde AM, AOM ve AOMHY için üreme eğrileri (20 g/L ind. şeker, pH=5)

Melasın hidroliz edilmeden kullanıldığı durumda (AOMHY) elde edilen üreme hızları ($0,365-0,322 \text{ saat}^{-1}$), adapte olmayan mayanın (AOM) üreme hızlarına oranla oldukça yüksek ve AM ile elde edilen üreme hızlarından düşüktür (Çizelge 5.1). Kısaca AOMHY ile elde edilen üreme hızları, AM ve AOM üreme hızları arasında kalmıştır. Diğer yandan, AOMHY ile elde edilen boyarmadde biyobirikimleri, farklı başlangıç boyarmadde derişimleri için % 35,7-10,4 arasında olup AM ve AOM ile elde edilen boyarmadde biyobirikiminden düşüktür.

Şekil 5.2 farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde, AM (adapte maya), AOM (adapte olmayan maya) ve AOMHY (adapte olmayan maya ve melas hidrolizi yok) ile gerçekleştirilen boyarmadde biyobirikimi deneylerinde, elde edilen boyarmadde tutma kapasitelerini (q) göstermektedir.



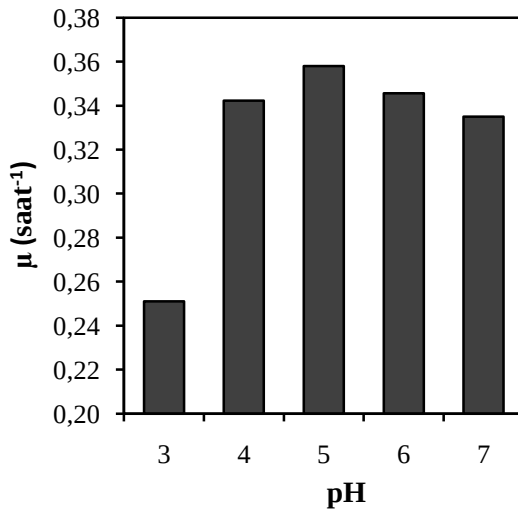
Şekil 5.2. AM, AOM ve AOMHY ile farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinin boyarmadde tutma kapasitesine (q) etkisi (20 g/L ind. şeker, pH=5)

Adapte maya (AM) ile 3,73-14,83 mg BM/ g biyokütle, adapte olmayan maya (AOM) ile 2,2-12,42 mg BM/ g biyokütle ve AOMHY ile 2,58-6,3 mg BM/ g biyokütle tutma kapasitesi elde edilmiştir. Mayanın boyarmaddeye adaptasyonu ve melasın hidrolizi ile ilgili sonuçlar mayanın boyarmaddeye adapte edilerek biyobirikim deneylerinde kullanılmasının daha iyi olacağını göstermektedir. Bu sonuçlara göre en yüksek üreme hızları ve en iyi boyarmadde giderimi, mayanın boyarmaddeye adapte edildiği koşullarda elde edilmiştir. Diğer yandan melas hidroliz edildiğinde, mayanın üremesini inhibe edecek ve boyarmadde biyobirikimini engelleyecek bazı bileşiklerin ortamdan uzaklaştırıldığı düşünülmektedir.

5.1.2. *S. cerevisiae* ile boyarmadde giderimine pH etkisi

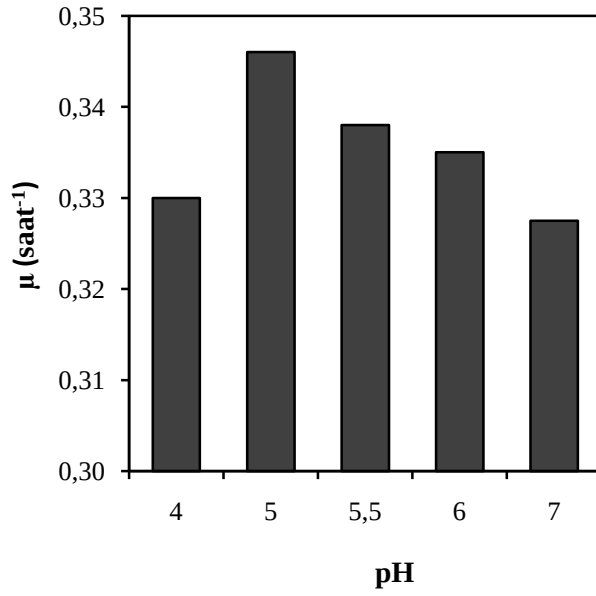
Ortam pH'ı mikroorganizmaların üremesini ve boyarmadde biyobirikimini etkileyen en önemli parametrelerden birisidir. Başlangıç pH'ının melaslı besin ortamında *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesi üzerine etkisi boyarmadde içermeyen

ortam için pH 2-7 aralığında, boyarmadde içeren ortam için pH 4-7 aralığında incelenmiştir. pH etkisinin incelendiği deneylerde, boyarmaddeye adapte edilmiş *S. cerevisiae* mayası kullanılmıştır. Boyarmadde içermeyen kontrol deneylerinde, başlangıç pH'ının özgül üreme hızına etkisi Şekil 5.3'te verilmiştir. Şekilde pH=5'te mikroorganizmanın diğer pH'lara oranla daha iyi ürediği görülmüştür.

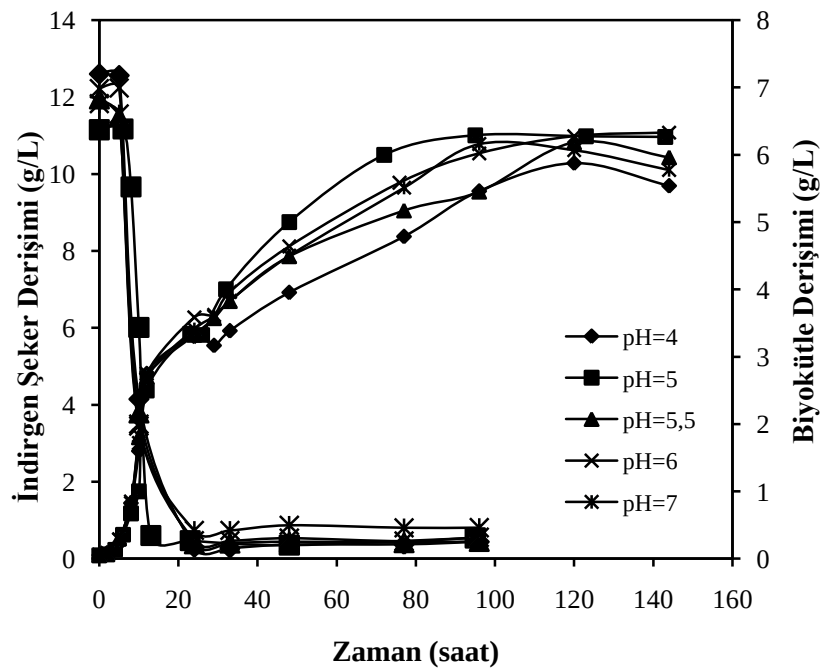


Şekil 5.3. Kontrol deneylerinde başlangıç pH'ının *S. cerevisiae*'nin özgül üreme hızına etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, So=10g/L)

50 mg/L boyarmadde içeren ortam için başlangıç pH'ının özgül üreme hızına etkisi Şekil 5.4'de verilmiştir. Şekil 5.5'te farklı başlangıç pH'larında *S. cerevisiae* üreme eğrilerinin birbirine oldukça yakın olduğu, ancak pH=5'teki özgül üreme hızının diğer pH değerlerine oranla daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. *S. cerevisiae*'nin üstel üreme evresinde, ortamdaki indirgen şekerin büyük bir kısmının tüketildiği görülmüştür. Diğer yandan, pH mayanın boyarmaddeye olan ilgisinin bir ölçüsü olup, *S. cerevisiae* boyarmadde biyobirikimini oldukça etkilemektedir. pH çözeltideki iyonların kimyasını ve biyomalzemenin elektrik yükünü etkilemektedir. pH malzemenin yüzeyindeki yükün şiddetini diğer bir deyişle metal veya boyarmaddenin bağlayıcı sitelerinin protonlanıp protonlanmamasına etki etmektedir [Chojnacka, 2010].

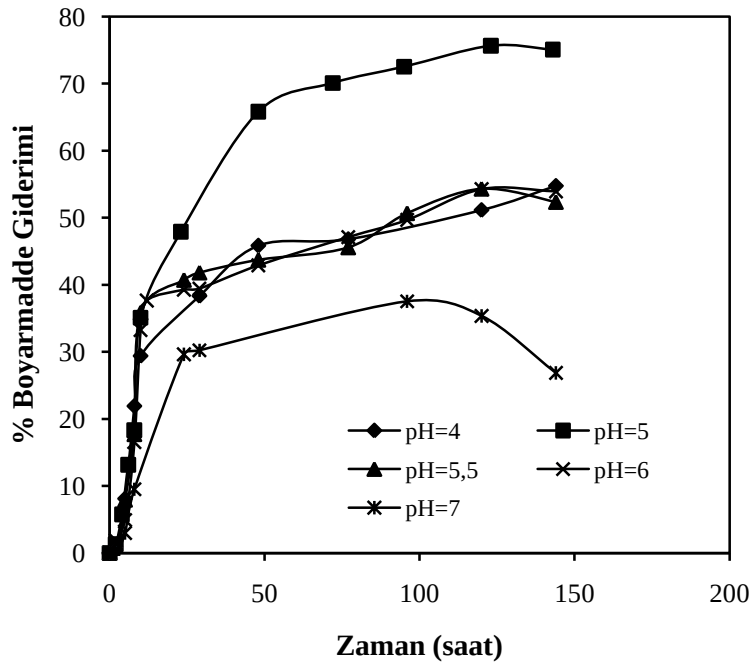


Şekil 5.4. Boyarmadde içeren ortamda, başlangıç pH'ının *S. cerevisiae*'nin özgül üreme hızına etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, K.H.=140 rpm, $S_o=10\text{g/L}$, $C_{o,BM}=50\text{mg/L}$)



Şekil 5.5. Başlangıç pH'ının biyokütle üremesi ve indirgen şeker derişimi üzerine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, K.H.=140 rpm, $S_o=10\text{g/L}$, $C_{o,BM}=50\text{mg/L}$)

S. cerevisiae boyarmadde biyobirikimi deneylerinde, biyobirikimin pH=5'te daha yüksek olduğu, pH=7'de çok düşük olduğu ve pH 4, 5,5 ve 6'da birbirine oldukça yakın olduğu görülmüştür (Şekil 5.6).



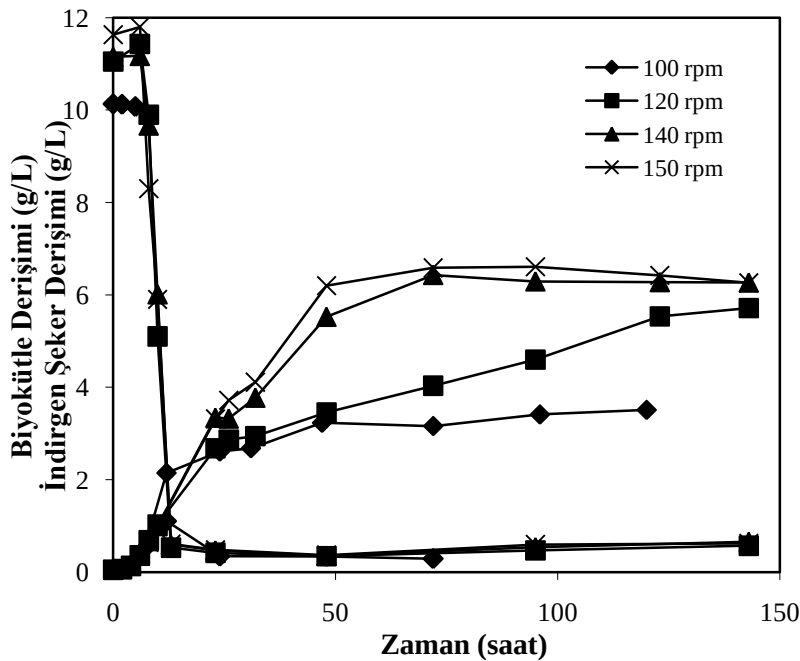
Şekil 5.6. Başlangıç pH'ının % boyarmadde giderimine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, So= 10 g/L, C_{0,BM}= 50 mg/L)

S. cerevisiae ile boyarmadde giderimi çalışmalarının devamında ortam başlangıç pH'ı 5 olarak ayarlanmıştır. Literatürde canlı mikroorganizmalar ile yapılan çalışmalarda gözlenen optimum pH değerleri, kullanılan mikroorganizmanın maya veya bakteri olması, ya da boyarmadde giderim mekanizmasının biyobirikim veya biyoparçalanma olmasına bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Dönmez (2002) *C. tropicalis* ile Aksu (2003) *S. cerevisiae* kullanarak üç farklı diazo reaktif boyarmaddenin biyobirikimi sırasında optimum pH değeri olarak 3 bulmuşlardır. Das ve ark. (2010a) iki trifenil metan (Acid Blue 93 ve Basic Violet 3) ve bir azo (Direct Red 28) tipi boyarmaddenin *Pichia fermentans* mayası ile biyobirikiminde, Meehan ve ark. (2000) *Kluyveromyces marxianus* mayası ile Remazol Black B biyobirikiminde, Onat ve ark. (2010) *Rhodotorula mucilaginosa* mayası ile Reactive Red 2, Reactive Blue 4, Basic Yellow 2 boyarmaddelerinin biyobirikiminde en

yüksek biyobirikim pH=5'de elde edilmiştir. Diğer taraftan, bakteriler ile yapılan çalışmalarda, biyoparçalanmada enzimlerin görev alması nedeniyle, boyarmadde gideriminde daha yüksek pH'lar (7-8) optimum bulunmuştur [Çetin ve Dönmez, 2006; Li ve Guthrie, 2010; Xin ve ark.,2010]. Li ve Guthrie (2010) pH 4,4'ün altında hiç boyarmadde indirgenmesi olmadığını belirtmişlerdir.

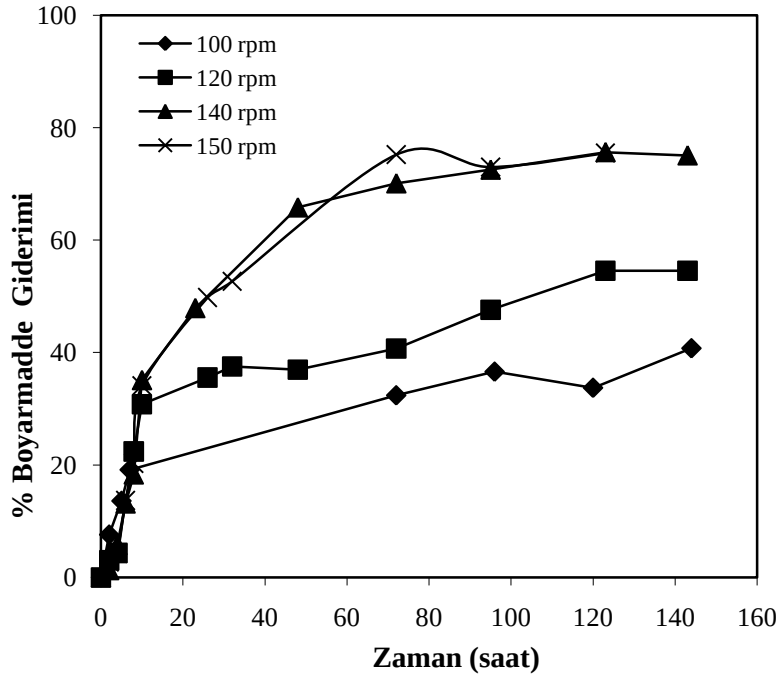
5.1.3. *S. cerevisiae* ile boyarmadde giderimine karıştırma hızı etkisi

Saccharomyces cerevisiae mayasının melaslı besin ortamında üreme hızına karıştırma hızının etkisi 100, 120, 140 ve 150 rpm karıştırma hızlarında incelenmiştir. Deneyler indirgen şeker derişimi 10 g/L, 30°C sıcaklık, pH=5 ve 50 mg/L başlangıç boyarmadde içeren ortamda gerçekleştirilmiştir. Karıştırma hızının 100 rpm'den 150 rpm'e artırılmasıyla, ortamdaki çözünmüş oksijen miktarı artarak mayanın üreme hızında ve üreme derişiminde (Şekil 5.7) artma gözlenmiştir.



Şekil 5.7. Karıştırma hızının *S. cerevisiae* üremesine ve indirgen şeker tüketimine etkisi (T=30°C, pH=5, So=10g/L, C_{o,BM}= 50mg/L)

Ortamdaki maya derişiminin artması, biyobiriktirelen boyarmadde miktarının da artmasına neden olmuştur (Şekil 5.8). Bu nedenle devam eden deneylerde 140 rpm karıştırma hızında çalışılmıştır.



Şekil 5.8. Karıştırma hızının *S. cerevisiae*'nin boyarmadde biyobirikimine etkisi (T=30°C, pH=5, So=10 g/L, C_{o,BM}= 50 mg/L)

5.1.4. *S. cerevisiae* ile boyarmadde giderimine başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminin etkisi

Bu amaçla substrat olarak kullanılan melastaki indirgen şekerin derişimi yaklaşık 2,5, 5, 10, 20 ve 30 g/L olarak seçilmiş ve her bir indirgen şeker derişiminde boyarmadde derişimi yaklaşık 20, 40, 75, 100, 250, 400 mg/L olarak değiştirilmiştir. Her bir durum için özgül üreme hızı (μ , saat⁻¹), erişilen en yüksek mikroorganizma derişimi (X_m , g/L), boyarmadde giderim yüzdesi ve mikroorganizmanın boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q , mg BM/ g biyokütle) hesaplanmış ve Çizelge 5.2'de sunulmuştur.

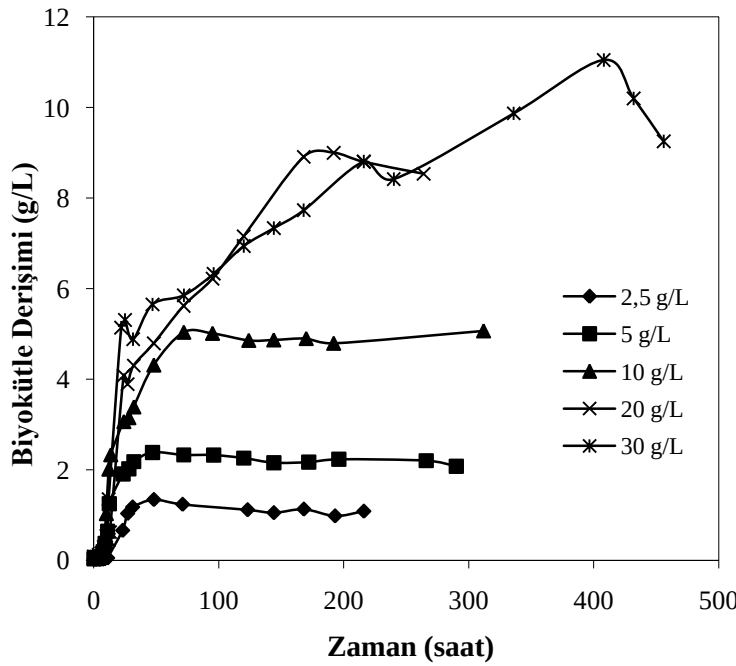
Çizelge 5.2. Her bir başlangıç indirgen şeker derişiminde değişen farklı boyarmadde derişimlerinde *Saccharomyces cerevisiae*'nın özgül üreme hızı, % boyarmadde giderimi ve q değerleri

S ₀ (g/L)	C ₀ (mg/L)	μ (saat ⁻¹)	X _m (g/L)	% BM Giderimi	q (mg BM/ g biyokütle)
2,5	0,0	0,195	1,34	-	-
5,0	0,0	0,364	2,38	-	-
9,6	0,0	0,377	5,07	-	-
22,2	0,0	0,380	9,00	-	-
32,2	0,0	0,382	11,05	-	-
2,5	20,1	0,182	1,27	69,2	10,9
5,0	21,6	0,355	2,20	94,9	9,3
9,3	18,9	0,366	4,79	91,0	3,6
21,3	24,2	0,371	8,94	90,5	1,92
33,2	30,0	0,376	11,03	50,7	1,4
2,5	42,3	0,179	1,24	51,8	17,6
5,0	43,4	0,350	2,27	84,6	16,1
9,5	45,8	0,359	4,53	75,6	8,3
22,7	44,0	0,369	8,79	72,7	3,23
32,9	51,0	0,375	11,60	42,5	1,9
2,5	78,3	0,176	1,28	40,0	24,5
5,0	60,8	0,342	2,30	82,5	21,7
9,6	81,2	0,349	4,68	68,5	11,9
21,5	74,0	0,362	8,74	61,0	5,2
33,2	87,2	0,338	12,10	38,6	2,8
2,5	109,6	0,166	1,24	37,3	32,9
5,0	106,8	0,338	2,37	74,9	33,7
9,7	108,2	0,341	4,75	73,6	16,8
22,1	107,8	0,350	8,71	60,9	7,5
32,6	112,4	0,354	11,46	39,1	3,8
2,5	257,5	0,164	1,30	25,5	50,5
5,0	274,3	0,326	2,39	40,9	47,0
9,6	261,7	0,331	4,97	49,1	25,9
22,8	280,4	0,344	8,84	40,9	13,0
33,0	294,0	0,350	11,27	32,3	8,4
5,0	424,0	0,320	2,39	46,1	81,9
9,6	426,5	0,321	4,64	53,8	49,5
22,0	439,2	0,335	8,98	30,8	15,1
32,4	453,0	0,340	9,71	27,6	12,9

Başlangıç boyarmadde derişiminin *S. cerevisiae* üremesine ve üreme hızına etkisi

İndirgen şeker derişimi etkisi incelenirken boyarmadde biyobirikimi deneylerine paralel olarak, bu indirgen şeker derişimlerinde, boyarmadde içermeyen ortamlarda kontrol deneyleri yapılmıştır.

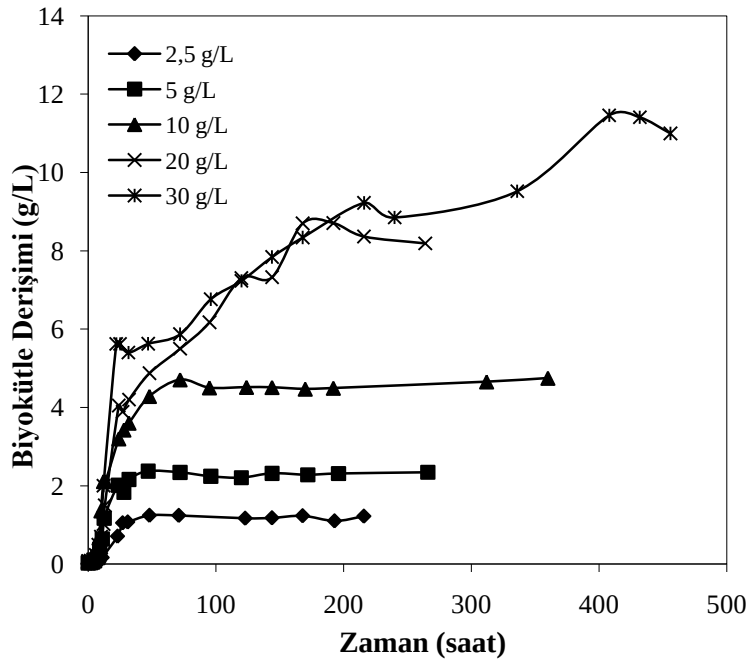
Hem bu kontrol deneylerinde hem de ortamda boyarmadde içeren deneylerde indirgen şeker derişimi arttıkça artan şeker miktarına bağlı olarak *S. cerevisiae* üremesinde belirgin bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.9-10).



Şekil 5.9. Kontrol ortamında başlangıç indirgen şeker derişiminin *S. cerevisiae* üremesine etkisi (T=30°C, pH=5, 140 rpm)

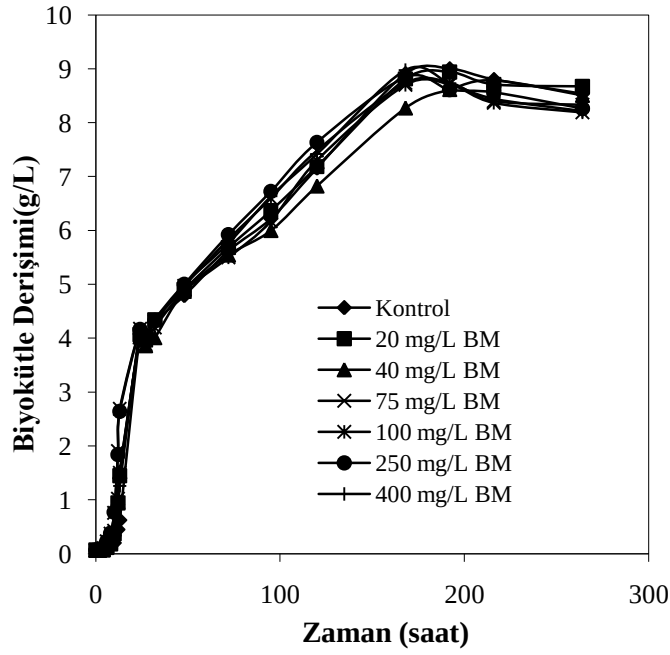
Bununla birlikte düşük indirgen şeker derişimlerinde üremenin kısa zamanda tamamlandığı, indirgen şeker derişimi arttıkça üremenin tamamlanması için geçen sürenin uzadığı saptanmıştır. Örneğin yaklaşık 2,5 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, hem kontrol deneylerinde hem de boyarmadde içeren deneylerde, *S. cerevisiae* üremesi 30. saatte tamamlanırken, yaklaşık 10 g/L başlangıç indirgen

şeker derişiminde üreme 72. saatte tamamlanmıştır. Diğer yandan 2,5 g/L ve 5 g/L indirgen şeker derişimlerinde *S. cerevisiae* üreme eğrilerinde tek bir üstel üreme evresi görülürken, 10 g/L ve daha yüksek şeker derişimlerinde ikinci bir üstel üreme evresi gözlenmiştir. Bu durumun melaslı besin ortamındaki ölçülmemiş olan diğer substratlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

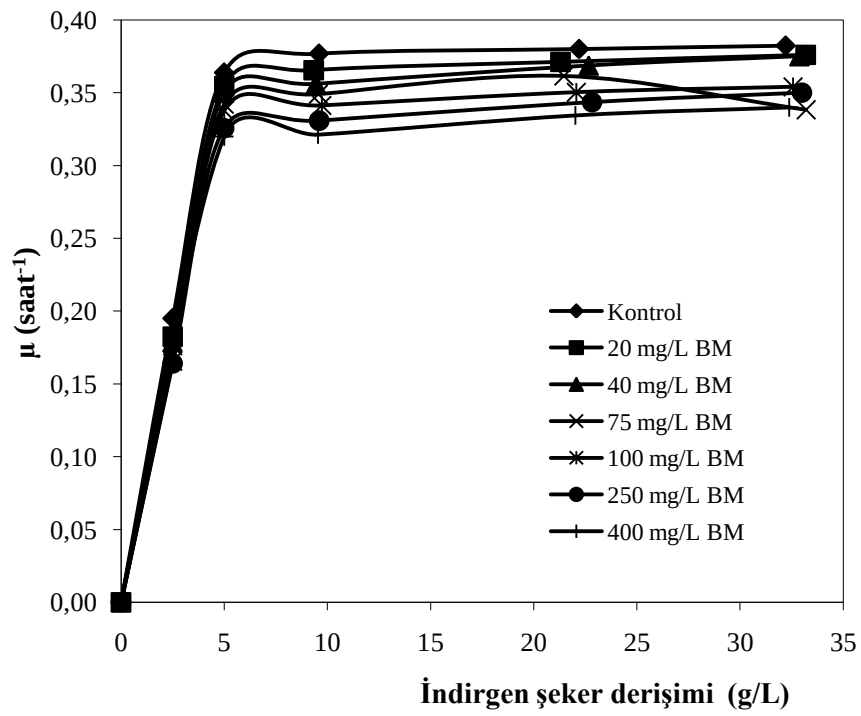


Şekil 5.10. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamlarda başlangıç indirgen şeker derişiminin *S. cerevisiae* üremesine etkisi (T=30°C, pH=5, 140 rpm)

Şekil 5.11 20 g/L derişiminde indirgen şeker içeren ve kontrol ortamı ile farklı derişimlerde boyarmadde içeren ortamlarda, *S. cerevisiae* mayasına ait üreme eğrilerini göstermektedir. Bu eğriler, ortamda boyarmadde varken, mayanın boyarmadde tarafından inhibe edilmediğini, mayanın boyarmaddeye önadaptasyonu ile *S. cerevisiae* mayasının daha dirençli hale geldiğini göstermektedir. Bunların yanı sıra ne indirgen şeker derişimine ne de boyarmadde derişimine bağlı olarak *S. cerevisiae* üremesinde bir gecikme fazı gözlemlenmemiştir.



Şekil 5.11. Boyarmadde derişiminin *S. cerevisiae* üremesine etkisi (T=30°C, pH=5, 140 rpm, So=20 g/L)

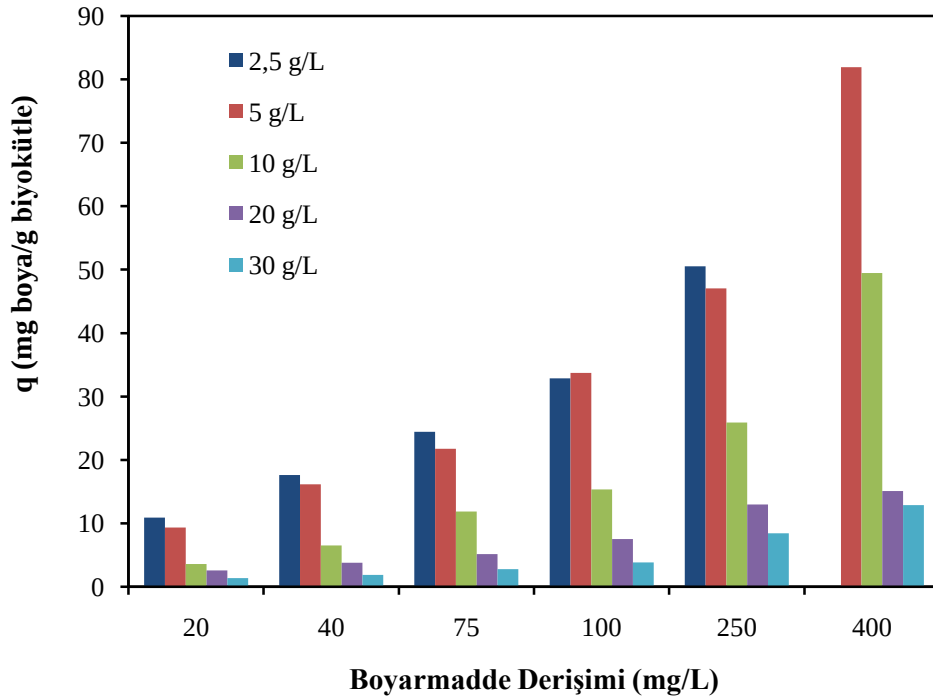


Şekil 5.12. Özgül üreme hızının indirgen şeker derişimi ve boyarmadde derişimi ile değişimi

Kontrol deneyi ve farklı boyarmadde derişimlerinde, başlangıç indirgen şeker derişiminin mayanın özgül üreme hızına etkisi Şekil 5.12’de gösterilmektedir. Kontrol deneyi de dahil olmak üzere boyarmadde içeren bütün ortamlarda özgül üreme hızı, 5 g/L indirgen şeker derişimine kadar artmakta, sonra hemen hemen aynı kalmaktadır. Farklı başlangıç indirgen şeker derişimlerinde, Şekil 5.12’de görüleceği gibi en üstteki eğri kontrol ortamına ait olup, yukarıdan aşağıya doğru boyarmadde derişimi artmaktadır. Bu artışla birlikte *S. cerevisiae* mayasının üremesi bir miktar olumsuz bir şekilde etkilenmekte ve özgül üreme hızları biraz azalmaktadır. Örneğin 9.6 g/L indirgen şeker derişiminde kontrol deneyi için özgül üreme hızı $0,377 \text{ saat}^{-1}$ iken, 108 mg/L boyarmadde içeren ortamda $0,341 \text{ saat}^{-1}$ ve 426,5 mg/L boyarmadde içeren ortamda ise $0,321 \text{ saat}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. *S. cerevisiae* mayasının özgül üreme hızı eğrilerinde bir miktar boyarmadde inhibisyonu görülürken, substrat inhibisyonu gözlenmemektedir. Aksu ve Dönmez (2005) *C. tropicalis* mayası ile Remazol Blue ve Remazol Black B boyarmaddelerinin biyobirikiminde sabit substrat derişiminde, artan boyarmadde derişimi ile özgül üreme hızının (μ) azaldığını gözlemlemişlerdir. Yine Das ve arkadaşlarının (2010a) *Pichia fermentans* mayası ile sentetik boyarmaddelerin biyobirikim özelliklerinin araştırılmasında, mayanın özgül üreme hızının boyarmadde derişiminden ters yönde etkilendiğini gözlemlemişlerdir. Başlangıç indirgen şeker derişiminin etkisinin, boyarmadde derişiminin etkisinden daha güçlü olduğu belirtilmiştir.

Başlangıç boyarmadde derişiminin ve indirgen şeker derişiminin biyobirikime birlikte etkisi

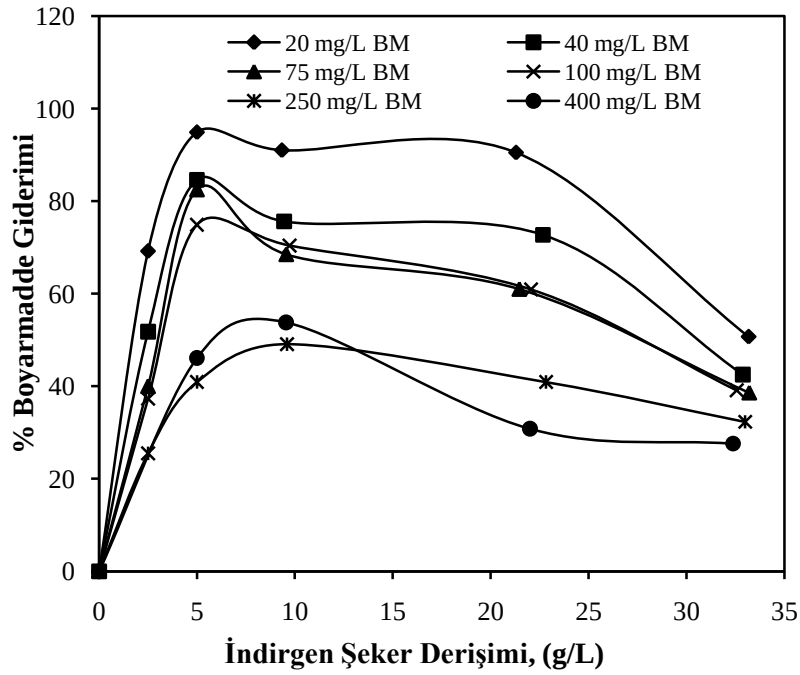
Herbir başlangıç boyarmadde derişimi ve başlangıç indirgen şeker derişimi için, *S. cerevisiae* mayasının boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q) hesaplanmıştır. Biyobirikim kapasitesi (q), her bir başlangıç indirgen şeker derişimi için, başlangıç boyarmadde derişiminin artışı ile artmaktadır (Şekil 5.13). Düşük boyarmadde içeren ortamda düşük biyobirikim kapasitesi, yüksek boyarmadde derişimlerinde yüksek biyobirikim kapasitesi elde edilmesi, boyarmaddenin kütle transferinde yürütücü kuvvet olarak etki etmesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 5.13. Her bir başlangıç indirgen şeker derişiminde, mikroorganizmanın boyarmadde biyobirikim kapasitesi

Diğer yandan *S. cerevisiae* mayasının boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q), indirgen şeker derişimine de bağımlılık göstermektedir. Biyobirikim kapasitesi q , indirgen şeker derişiminin artışıyla ters orantılı olarak değişmektedir. En yüksek boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q) 5 g/L indirgen şeker derişimi ve 424 mg/L başlangıç boyarmadde derişimi için 81,9 mg BM/ g biyokütle olarak elde edilmiş olup, mikroorganizma tarafından tutulan boyarmadde derişimi ise 195,6 mg/L (biyobirikim % 46,1)'dir. 20 ve 30 g/L indirgen şeker içeren ortamlarda düşük biyobirikim kapasitesi elde edilmiştir. Bunun nedeni indirgen şeker derişimi arttıkça, melaslı besin ortamındaki şeker dışı maddelerin derişimi artmakta ve bu maddelerin ortamdaki miktarlarının artması, *S. cerevisiae* mayasının boyarmadde biyobirikimini olumsuz yönde etkilemektedir. Deneylerde, *S. cerevisiae* tarafından tutulan en yüksek boyarmadde derişimi, 9,55 g/L indirgen şeker ve 424 mg/L boyarmadde içeren ortamda 229,44 mg/L (biyobirikim % 53,8) olarak elde edilmiş olup, biyobirikim kapasitesi 49,47 mg BM/ g biyokütle'dir. Aksu ve Dönmez (2005), *C.*

tropicalis mayasının Remazol Black B boyarmaddesinin biyobirikiminde, sabit indirgen şeker derişimlerinde (5-15 g/L) boyarmadde tutma kapasitesinin 1000 mg/L boyarmadde derişimine kadar arttığını gözlemlemişlerdir. Şekil 5.14’de indirgen şeker ve boyarmadde derişiminin bir fonksiyonu olarak % boyarmadde giderimi gösterilmektedir.



Şekil 5.14. İndirgen şeker ve boyarmadde derişiminin, boyarmadde biyobirikimine etkisi

S. cerevisiae mayasıyla Violet 90 boyarmaddesinin giderimi, biyobirikim ortamındaki başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminden etkilenmektedir. Belli bir indirgen şeker derişiminde, düşük boyarmadde derişimlerinde yüksek giderim, yüksek boyarmadde derişimlerinde düşük giderim elde edilmiştir. Gönen ve Aksu (2009a), *Candida tropicalis* ile boyarmadde ve bakır (II) biyobirikiminde, Aksu (2003) *Saccharomyces cerevisiae* ile Reaktif boyarmadde biyobirikiminde ve Aksu ve Dönmez (2005) *Candida tropicalis* ile Reaktif boyarmadde gideriminde, yüksek kirletici derişimlerinde düşük giderim verimlerine ulaşıldığını belirtmişlerdir. Diğer yandan en yüksek boyarmadde giderimi, 100 mg/L

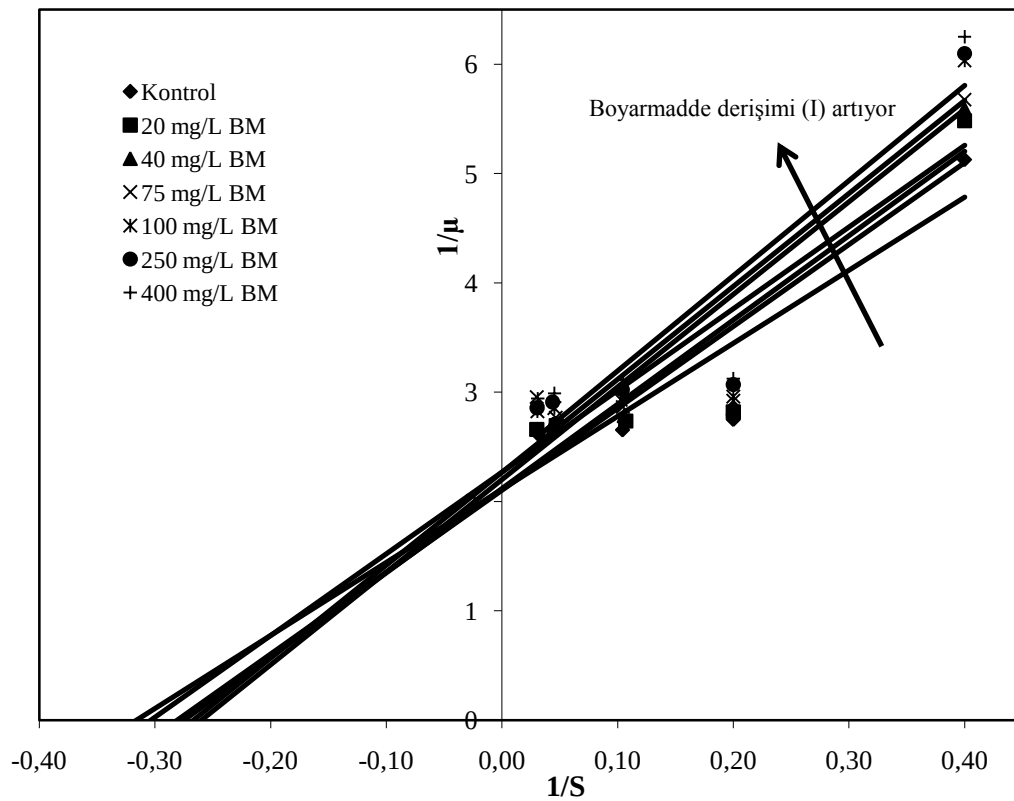
ve daha düşük derişimlerde boyarmadde içeren ortamlar için 5 g/L indirgen şeker derişiminde elde edilmiştir. 250 ve 400 mg/L boyarmadde içeren ortamlar için en yüksek boyarmadde giderimi 10 g/L indirgen şeker derişiminde elde edilmiştir. Aksu ve Dönmez (2005) sabit indirgen şeker derişiminde, % boyarmadde gideriminin, boyarmadde derişimi ile azaldığını, sabit boyarmadde derişiminde, % boyarmadde gideriminin şeker derişimi ile arttığını gözlemlemişlerdir. Das ve arkadaşları (2010a) *Pichia fermentans* mayası ile Acid Blue, Direct Red, Basic Violet gibi boyarmaddelerin uzaklaştırılmasında % boyarmadde biyobirikiminin, indirgen şeker derişimi ile arttığını (8-24 g/L), boyarmadde derişimi (10-30 mg/L) ile azaldığını saptamışlardır.

S. cerevisiae mayasının üreme kinetiği

Mikroorganizmalarla yapılan çalışmalarda, substrat derişimi ile üreme hızı arasındaki ilişki Monod denklemi ile ifade edilmektedir. Bu çalışmada, *S. cerevisiae* mayası ile boyarmadde biyobirikimi deneylerinde, üreme hızı için Monod denklemi kullanılmıştır. Şekil 5.12, *S. cerevisiae*'nın özgül üreme hızının indirgen şeker derişimine bağlılığını göstermektedir. Şekilde substrat inhibisyonu gözlenmemekle beraber boyarmadde inhibisyonu söz konusudur. *S. cerevisiae* mayasına ait μ_m ve K_S Monod kinetik parametrelerini hesaplayabilmek için Monod eşitliğinin doğrusallaştırılmış formu kullanılmıştır. Bu amaçla, Eş. 2.22'e göre $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiği çizilmiştir (Şekil 5.15). Boyarmadde içermeyen kontrol ortamı (en alttaki eğri) için, bu doğrunun y eksenini kestiği noktadan en yüksek özgül üreme sabiti, μ_m (0,473 saat⁻¹) ve eğiminden ise Monod doygunluk sabiti ($K_S=3,16$ g/L) hesaplanmıştır. Das ve arkadaşları (2010a) Acid Blue 93, Direct Red 28 ve Basic Violet 3 gibi boyarmaddelerin *Pichia fermentans* mayası ile biyobirikiminin incelendiği çalışmada, boyarmadde içermeyen ortamda μ_m ve K_S sabitlerini sırasıyla 0,301 saat⁻¹ ve 1,532 g/L olarak bulmuşlardır. Das ve arkadaşları (2010b) *Candida tropicalis* mayası ile Basic Violet 3 boyarmaddesinin biyobirikimini inceledikleri diğer bir çalışmada boyarmadde içermeyen ortamda, μ_m ve K_S sabitlerini sırasıyla 0,322 saat⁻¹ ve 0,251 g/L olarak bulmuşlardır. Gönen ve Aksu (2009b) *Candida utilis*

ile Turquoise blue G biyobirikiminde, boyarmadde içermeyen ortamda, μ_m ve K_s sabitlerini, Monod eşitliğinin lineer olmayan regrasyonu ile sırasıyla 0,155 saat⁻¹ ve 2,581 g/L olarak bulmuşlardır.

Mikroorganizmalar için tek bir kirletici maddenin inhibisyona neden olduğu durumda, kirleticinin mikroorganizmanın özgül üreme hızı üzerine gösterdiği inhibisyon etkisi yarışmalı, yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon olarak sınıflandırılmaktadır. Şekil 5.15'te en alttaki doğru boyarmadde içermeyen kontrol ortamına ait olup, ok yönündeki her bir doğru, artan derişimlerdeki boyarmadde içindir. Doğrular birbirini, y eksenini üzerinde veya x eksenini üzerinde değil, fakat ara bir noktada kesmektedir.

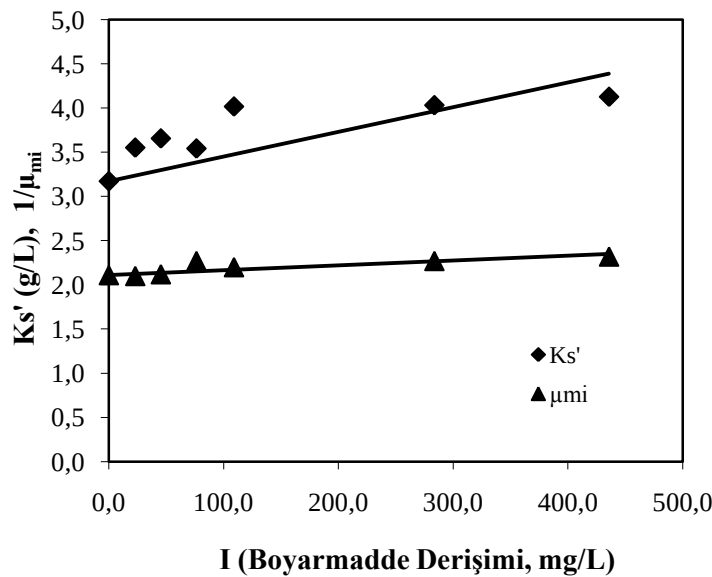


Şekil 5.15. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında, kinetik sabitlerin hesaplanmasında kullanılan $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiği

Bu durumda boyarmaddeden kaynaklanan inhibisyonun lineer karma tip inhibisyon (mixed type inhibition) olduğuna karar verilmiştir. Her bir farklı başlangıç boyarmadde derişimi için, çizilen $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiğinin (Eş. 2.32) y eksenini kesim noktasından $\mu_{mi}(\mu_m / (1+I/\alpha K_I))$ (Eş. 2.34), doğrunun eğiminden $K_S^I (K_S(1+I/K_I))$ (Eş. 2.33) hesaplanmıştır (Çizelge 5.3). Boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı K_S^I grafiği çizilerek (Şekil 5.16) grafiğin eğiminden K_I (İnhibisyon sabiti, mg/L) 1132 mg/L bulunmuştur.

Çizelge 5.3. Şekil 5.15'ten hesaplanan, boyarmadde derişimine karşı K_S^I ve $1/\mu_{mi}$ değerleri

I (mg/L)	K_S^I (g/L)	μ_{mi}
0,0	3,17	0,474
23,0	3,55	0,476
45,3	3,65	0,472
76,3	3,54	0,441
109,0	4,02	0,455
283,6	4,03	0,441
435,7	4,13	0,431



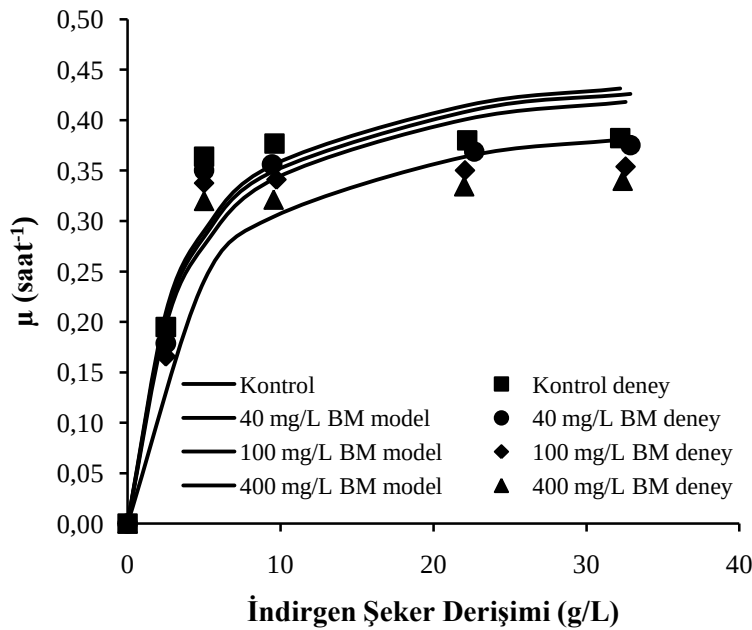
Şekil 5.16. Boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı K_S^I ve $1/\mu_{mi}$ grafiği

Benzer şekilde boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı $1/\mu_{mi}$ grafiğı çizilerek (Şekil 5.16) eğimden a sabiti 3,73 olarak hesaplanmıştır. İnhibisyon sabitinin bu kadar yüksek olması, *S. cerevisiae* mayasının yüksek derişimlerdeki Violet 90 boyarmaddesine oldukça dirençli olduğunu göstermektedir. $a>1$ olması modelin lineer karma tip inhibisyon olduğunu açık bir göstergesidir. Ayrıca a ve K_i değerlerine bakarak inhibisyon mekanizmasına göre mikroorganizma yapısındaki enzimin, boyarmadde ile enzim-inhibitör (EI) ve enzim-substrat-inhibitör (ESI) kompleksi oluşturmaya ilgisinin az olduğunu göstermektedir.

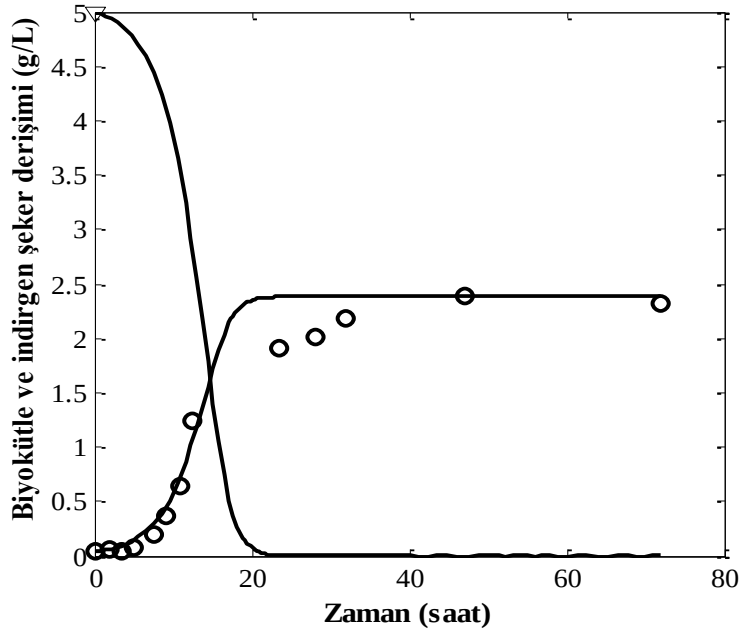
Das ve arkadaşları (2010a) farklı tekstil boyarmaddelerinin *Pichia fermentans* mayası ile biyobirikiminde yarışmasız inhibisyon modelini kullanmışlar ve farklı boyarmaddeler için, inhibisyon sabitini (K_i) 137,2-195,18 mg/L olarak bulmuşlardır. Das ve arkadaşları (2010b) Basic Violet 90 boyarmaddesinin *Candida tropicalis* mayası ile biyobirikiminde yarışmalı inhibisyon modelinin sistem için en uygun model olduğunu görmüşler ve bu modelde inhibisyon sabitini (K_i) 369,4 mg/L olarak bulmuşlardır. Gönen ve Aksu (2009b) *Candida utilis* ile Turquoise blue G biyobirikiminde, yarışmalı inhibisyon modelini kullanarak inhibisyon sabitini (K_i) 367,1 mg/L olarak bulmuşlardır.

Monod kinetik parametreleri Eş. 2.26 daki Monod eşitliğinde yerine konarak μ_{mmod} hesaplanmış ve μ_{mmod} ile deneysel μ_{mdeney} Şekil 5.17’de karşılaştırılmıştır. Kinetik model ile deneysel çalışmadan elde edilen özgül üreme hızlarının düşük indirgen şeker derişimleri için daha uyum içinde olduğu görülmektedir. Diğer yandan, substrat tüketim hızı (Eş. 2.11) ile biyokütle üretim hızı (Eş.2.6) için yazılan diferansiyel denklemler MATLAB’da yazılan bir programda birlikte çözdürülmüştür. Programda, farklı başlangıç indirgen şeker ve boyarmadde derişimleri için, kinetik model ile elde edilen biyokütle ve substrat derişimi, deneysel biyokütle ve substrat derişimi sonuçları ile karşılaştırılmıştır. MATLAB’dan elde edilen kinetik model ve deney sonuçlarının karşılaştırılması, bazı farklı başlangıç indirgen şeker ve boyarmadde derişimleri için Şekil 5.18-5.24’de verilmiştir. 5 g/L indirgen şeker derişiminde, kontrol ortamı ve farklı başlangıç boyarmadde derişimleri için elde

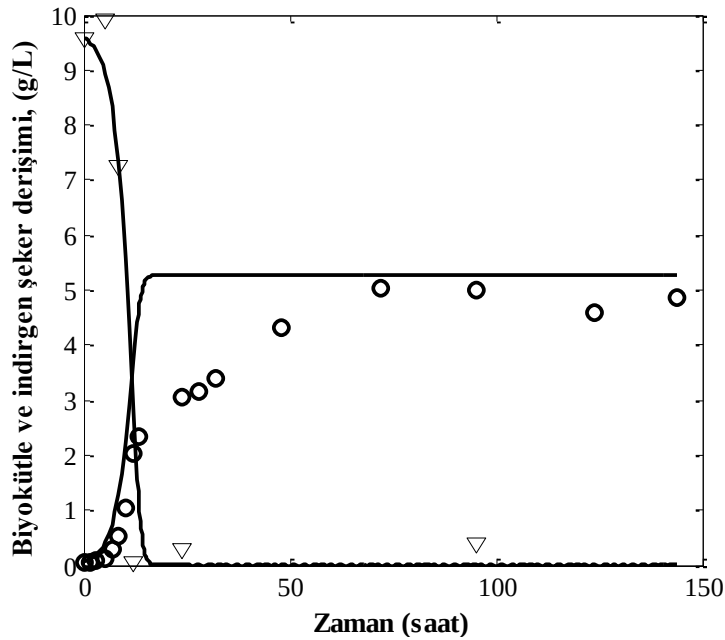
edilen deneysel üreme eğrilerinin kinetik model ile uyum içinde olduğu ancak 10 g/L ve daha yüksek indirgen şeker içeren ortamdaki deneysel üreme eğrilerinin kinetik model ile özellikle yavaşlamış üreme evresinde uyumlu olmadığı gözlemlenmiştir. Melasta sadece indirgen şeker derişimi belirlenmiş olup kinetik eşitliklerde sadece bu derişim değerleri kullanılmıştır. Ancak melas ortamında ölçemediğimiz başka substratlarda bulunmakta ve mayanın söz konusu evrelerde bu substratları tükettiği düşünülmektedir. Ortamda melas derişimi arttıkça, indirgen şeker derişimi ve diğer substratların miktarıda artmaktadır. Yüksek indirgen şeker derişimlerinde, maya birinci üstel üreme evresinde indirgen şekeri tüketmekte ve ikinci üstel üreme evresinde (yavaşlama evresi) ise ortamdaki diğer substratları tüketmiş olabilir. Deneysel veriler ile kinetik model arasındaki uyumsuzluk, melas ortamında bulunabilecek diğer substratların kinetik ifadelerde kullanılmamış olmasından kaynaklanabilir.



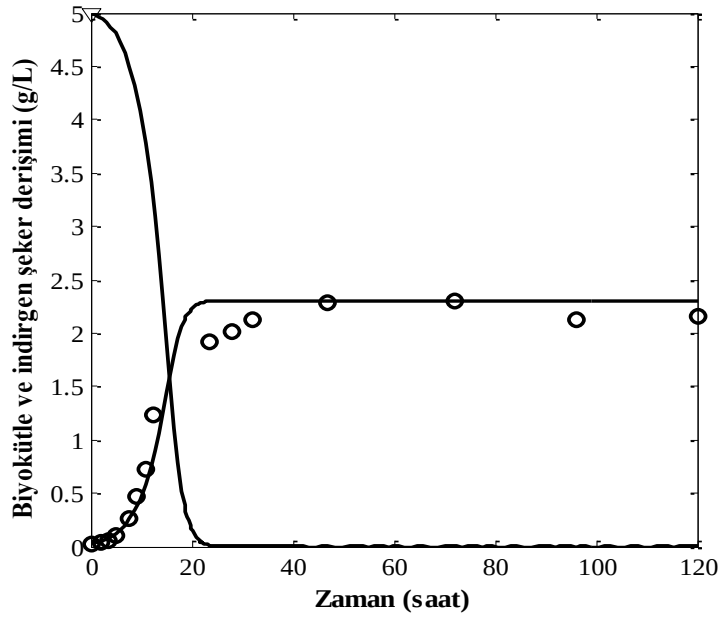
Şekil 5.17. *S. cerevisiae* için farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde kinetik model ve deneysel özgül üreme hızlarının karşılaştırılması (— kinetik model, ■ kontrol, ● 40 mg/L BM, ◆ 100 mg/L BM, ▲ 400 mg/L BM)



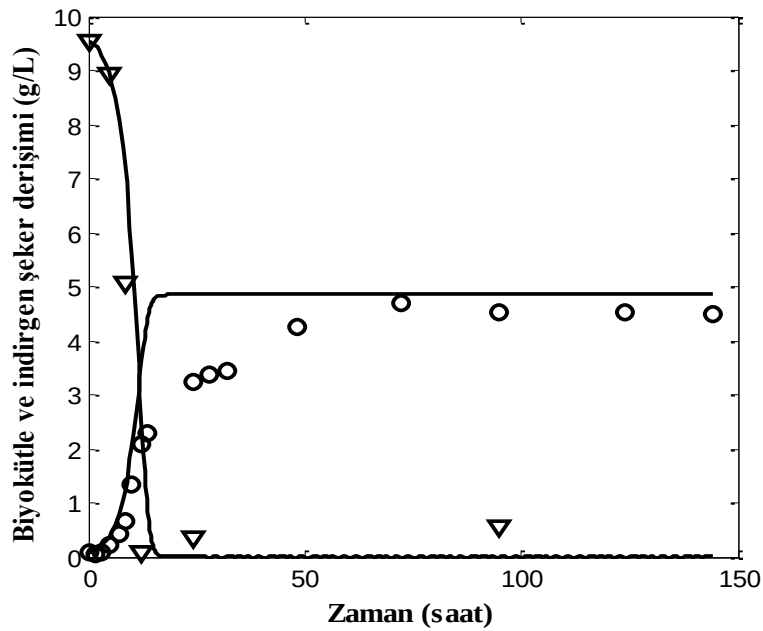
Şekil 5.18. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇ : deneysel indirgen şeker derişimi, $\circ$: deneysel biyokütle derişimi (5 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı,)



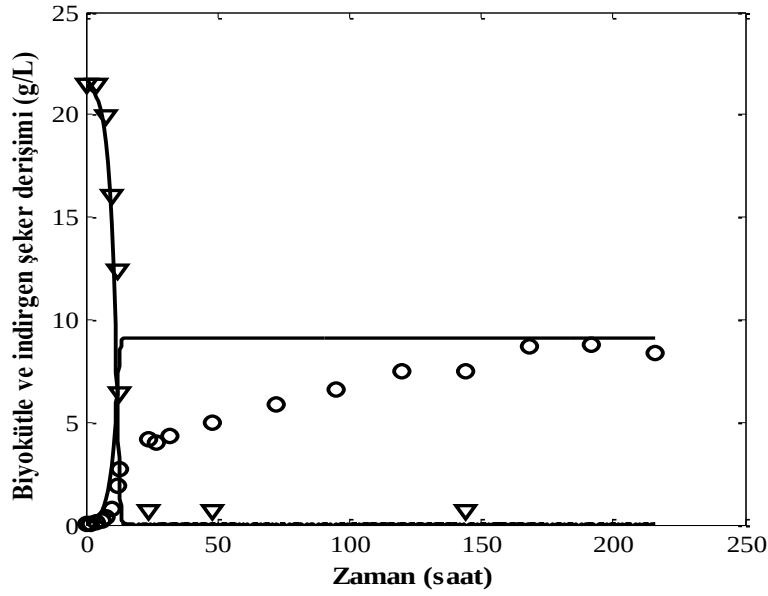
Şekil 5.19. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇ : deneysel indirgen şeker derişimi, $\circ$: deneysel biyokütle derişimi (9,6 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı)



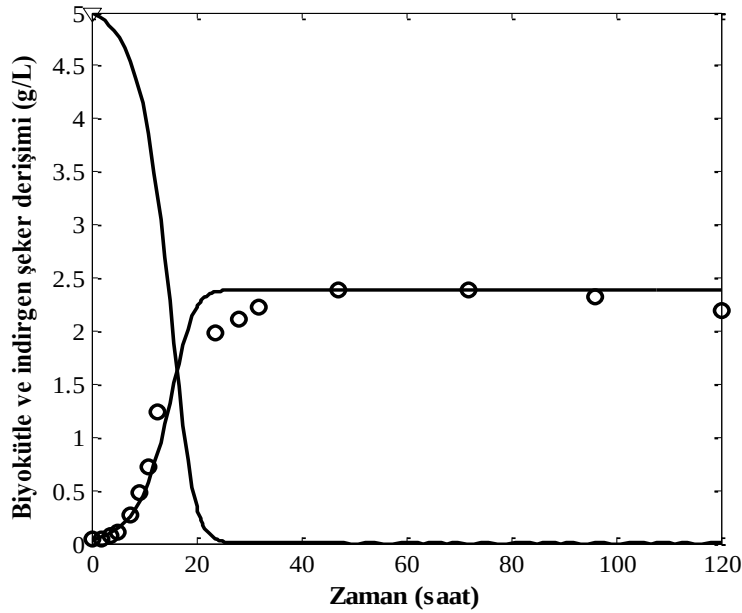
Şekil 5.20. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇ : deneysel indirgen şeker derişimi, $\circ$:deneysel biyokütle derişimi (5 g/L indirgen şeker, 60,8 mg/L BM)



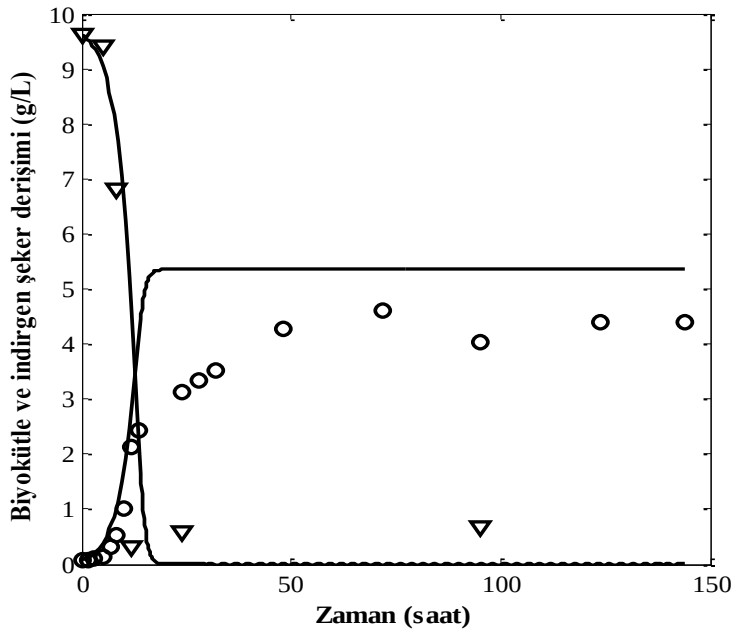
Şekil 5.21. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları, – kinetik model, ∇ :deneysel indirgen şeker derişimi, $\circ$: deneysel biyokütle derişimi (9,56 g/L indirgen şeker, 81,2 mg/L BM)



Şekil 5.22. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
– kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (21,5 g/L indirgen şeker, 74 mg/L BM)



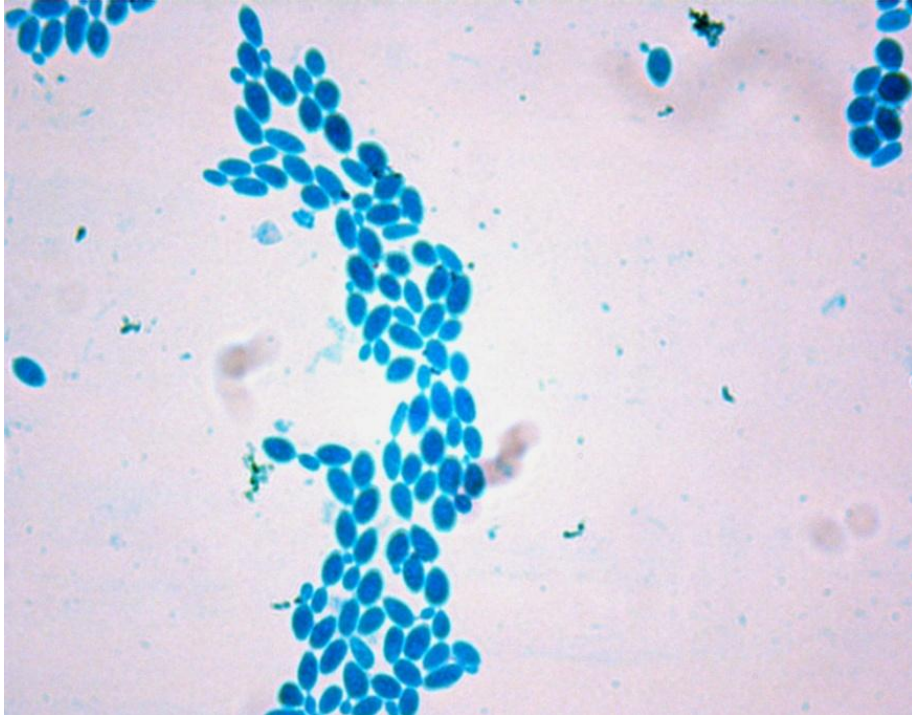
Şekil 5.23. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
– kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (5 g/L indirgen şeker, 274 mg/L BM)



Şekil 5.24. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (9,6 g/L indirgen şeker, 262 mg/L BM)

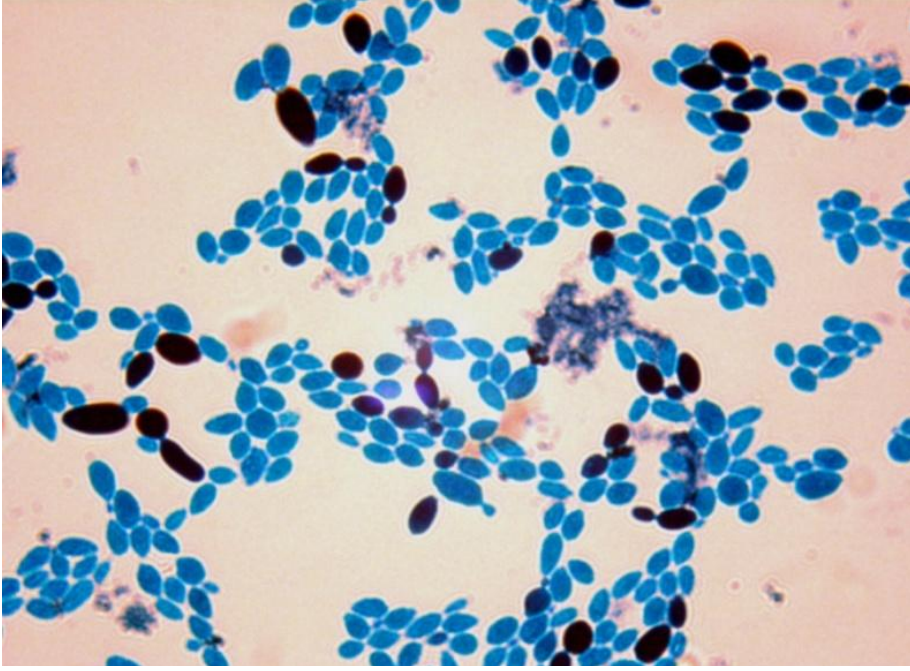
5.1.5. *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi

S. cerevisiae maya hücrelerinin boyarmadde içeren ortamdaki davranışını gözlemleyebilmek için ışık mikroskobunda resmi çekilmiştir. Mikroskopta resmi çekilecek preparatların hazırlanışı Bölüm 4.5.5'te verilmiştir. Preparatlar mikroskopta 100 kat büyütülerek çekilmiştir. Şekil 5.25'de boyarmadde içermeyen kontrol ortamındaki *S. cerevisiae* maya hücrelerinin resmi görülmektedir. Resimde *Saccharomyces cerevisiae* maya hücrelerinin oval şekilde oldukları ve ortamda tomurcuklanan hücrelerin bulunduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca bazı hücrelerin boyutlarının iyice büyüdüğü tespit edilmiş olup bu hücreler, tomurcuklanmak üzere olan hücrelerdir.

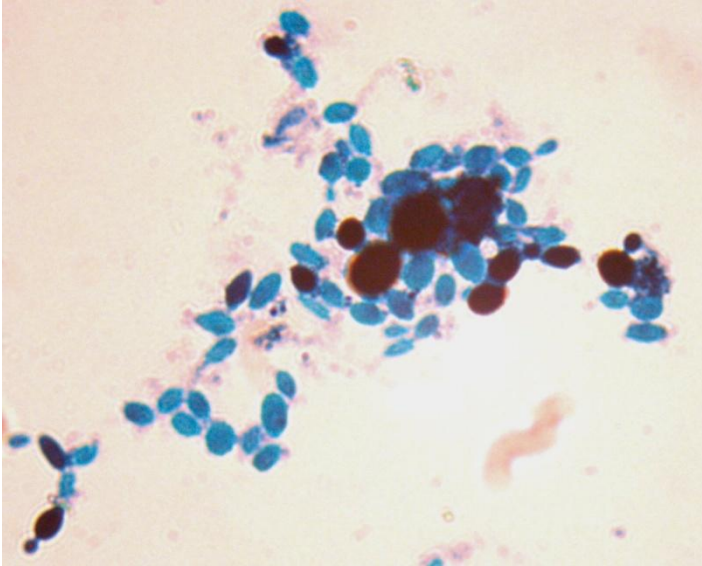


Şekil 5.25. Boyarmadde içermeyen kontrol ortamında *S. cerevisiae*'nin mikroskop görüntüsü

Şekil 5.26 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda üreyen *S. cerevisiae* maya hücrelerine aittir. Koyu renkli hücreler boyarmaddeyi tutan hücrelerdir. Boyarmadde hücrenin içine girerek sadece vakuollerini değil, hücrenin her yerini doldurmuş durumdadır. Şekilde boyarmaddeyi tutan maya hücrelerinin, tutmayan hücelere göre daha büyük olduğu, maya hücrelerinin boyarmadde ile tamamen doldurulduğu görülmektedir. Bazı hücreler tamamen boyarmadde ile dolarken, boyarmadde tutmaya başlayan hücrelerin, boyarmaddeyi tüm yüzeylerinden aynı anda içlerine aldığı gözlemlenmektedir. Boyarmadde tutan hücrelerin bazılarının şekli bozulurken, bazıları da hala yapısını korumaktadır. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda hücrelerin bazıları boyarmadde tarafından yapısal bozunmaya uğrasa da, genel olarak hücreler canlılıklarını korumakta ve üremeye devam etmektedirler. Boyarmadde tutan hücreler tomurcuklanarak üremeye devam etmekte ve tomurcuklanan kısmına boyarmadde aktarmaktadır.



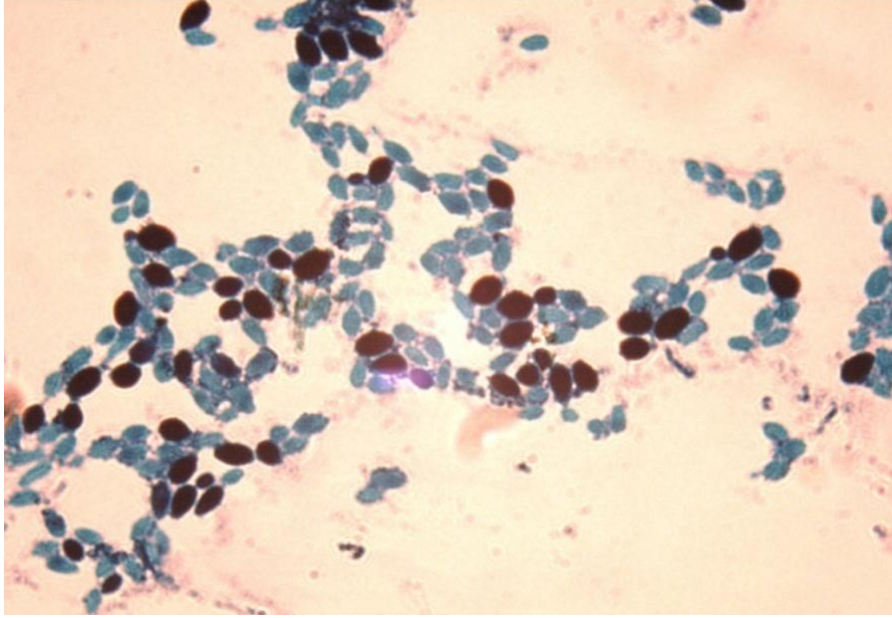
Şekil 5.26. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda *S. cerevisiae*'nin mikroskop görüntüsü



Şekil 5.27. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda *S. cerevisiae*'nin mikroskop görüntüsü

400 mg/L boyarmadde içeren ortamda üreyen hücrelerde (Şekil 5.27-28), boyarmadde mayanın hücre çeperlerini doldurmuş, bazı hücrelerde ise hücre duvarını

bozmuştur. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda bazı hücreler boyarmadde ile dolularak boyutları



Şekil 5.28. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda *S. cerevisiae*'nin mikroskop görüntüsü

2-3 kat artmıştır. Bazı hücrelerin hücre duvarı boyarmadde tarafından parçalanmış ve hücrenin içindeki boyarmadde ortama geri verilmiştir. Benzer gözlemler Xin ve arkadaşları (2010) tarafından TEM ve SEM çekimleri ile saptanmıştır. Cu-kompleks boyarmaddesinin *Penicillium oxalicum* tarafından biyobirikiminde, misellerin eşit olmayan bir şekilde genişlediğini, çap olarak genişlediğini, iğ zincirlerinin oluştuğunu görmüşlerdir. Ayrıca hücre duvarının gevşek biçimde ilk haline göre 4-5 kat kalınlaştığını belirtmişlerdir. Bu araştırmacılar, boyarmaddenin önce hücre yüzeyine adsorplandığını daha sonra sitoplazmaya sızdığını öne sürmüşlerdir. Gevşek ve kalınlaşan hücre duvarının boyarmadde biyobirikimi için uygun bir hacim ve daha sonra sitoplazmaya geçiş için uygun bir yol oluşturduğunu savunmuşlardır.

5.2. *Candida tropicalis* ile Boyarmadde Giderimi Çalışmaları

5.2.1. *Candida tropicalis* ile boyarmadde giderimine adaptasyonun etkisi

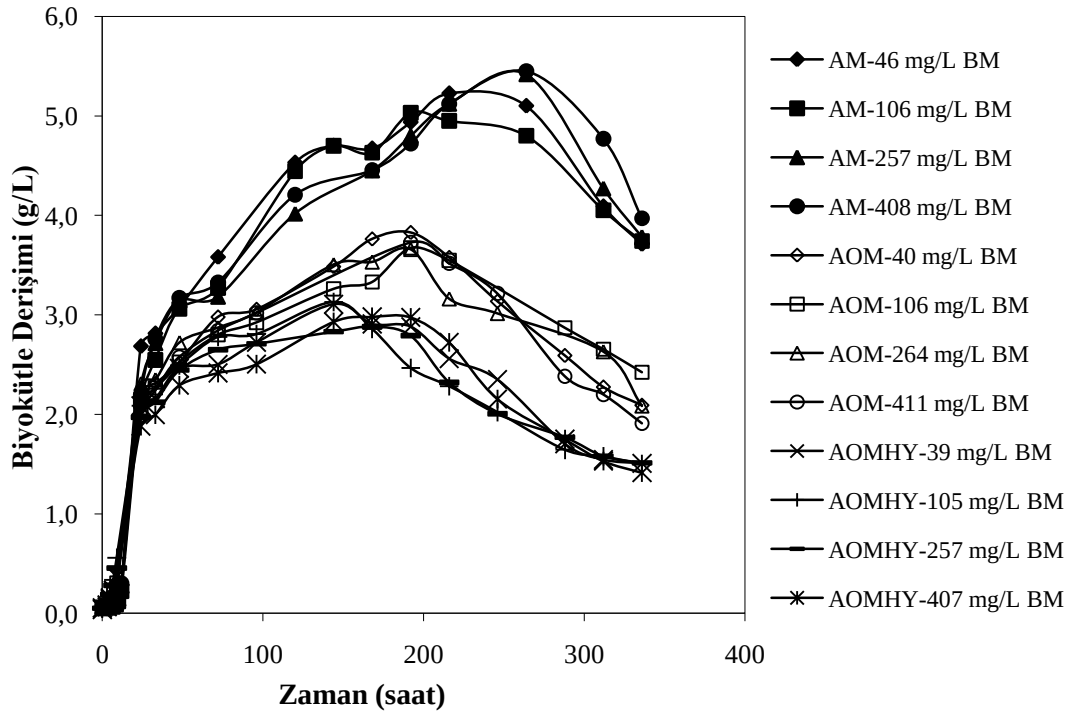
Çalışmanın bu aşamasında *C. tropicalis* mayasının boyarmaddeye adaptasyonunun, boyarmadde biyobirikimine etkisi kesikli sistemde incelenmiştir. Deneyler 150 mL çalışma hacminde, 140 rpm karıştırma hızında, başlangıç pH'ı 5 ve başlangıç indirgen şeker derişimi 10 g/L iken gerçekleştirilmiştir. Adaptasyon deneylerinde ilk olarak, *C. tropicalis* mayası çalışılan boyarmadde derişimlerine tek tek adapte edilmiş (Bölüm 4.4.) ve adapte edilmiş *C. tropicalis* mayasıyla biyobirikim deneyleri gerçekleştirilmiştir. Adaptasyon deneylerinde ikinci olarak, *C. tropicalis* mayası boyarmaddeye adapte edilmemiş (AOM) ve boyarmadde içermeyen üreme ortamından direk boyarmadde içeren deney ortamına aşılantmıştır (Bölüm 4.4). Adaptasyon deneylerinde üçüncü olarak ise, melas çözeltisi hidroliz işlemine tabi tutulmadan direk kullanılmış ve maya boyarmaddeye adapte edilmemiştir (Çizelge 5.4).

Çizelge 5.4. *C. tropicalis* mayasının boyarmaddeye adaptasyonunun boyarmadde giderimine etkisi

Boyarmadde Derişimi (mg/L)	μ_m (saat ⁻¹)	Xm (g/L)	% Boyarmadde Giderimi
Maya boyarmaddeye adapte edilmiş (AM)			
Kontrol	0,237	5,26	-
46	0,234	5,23	42,9
106	0,222	5,03	44,0
257	0,211	5,15	31,0
408	0,206	5,45	23,4
Maya boyarmaddeye adapte edilmemiş (AOM)			
Kontrol	0,237	5,26	-
40	0,220	3,83	34,6
106	0,217	4,06	20,4
264	0,208	3,66	19,1
411	0,181	4,02	18,3
Maya boyarmaddeye adapte edilmemiş ve melas hidroliz edilmemiş (AOMHY)			
Kontrol	0,320	3,28	-
39	0,263	3,11	27,2
105	0,255	3,13	19,4
257	0,254	2,88	13,1
407	0,220	2,98	10,0

Deneysel sonuçlara göre *C. tropicalis* mayası üreme ortamında boyarmaddeye adapte edildiği zaman, elde edilen özgül üreme hızı ve boyarmadde biyobirikimi, mayanın boyarmaddeye adapte edilmediği koşullara göre nispeten daha yüksektir. Örneğin özgül üreme hızı, kontrol deneyinde 0,237 saat⁻¹, 106 mg/L boyarmadde içeren deneyde, adapte maya ile 0,222 saat⁻¹, 106 mg/L boyarmadde içeren deneyde, adapte olmayan maya ile 0,217 saat⁻¹ olarak elde edilmiştir. Diğer yandan Şekil 5.29 farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde adapte maya (AM), adapte olmayan maya (AOM) ve hidroliz edilmemiş melas + boyarmaddeye adapte edilmemiş maya (AOMHY) ile gerçekleştirilen biyobirikim deneylerine ait üreme eğrileridir. Her ne kadar AM, AOM ve AOMHY için üreme eğrilerinin üstel üreme evreleri birbirine oldukça yakın olsa da, deneysel sonuçlar adapte mayanın üreme hızlarının AOM'ye

göre daha yüksek olduğunu göstermekte ve üremenin 24. saatinden sonra AM ve AOM üreme eğrilerinin arasının açıldığını göstermektedir. AOMHY ile elde edilen üreme hızları AM ve AOM üreme hızlarının üzerinde olup, AOMHY üreme eğrileri AM ve AOM'nin üreme eğrilerinin altında kalmıştır.

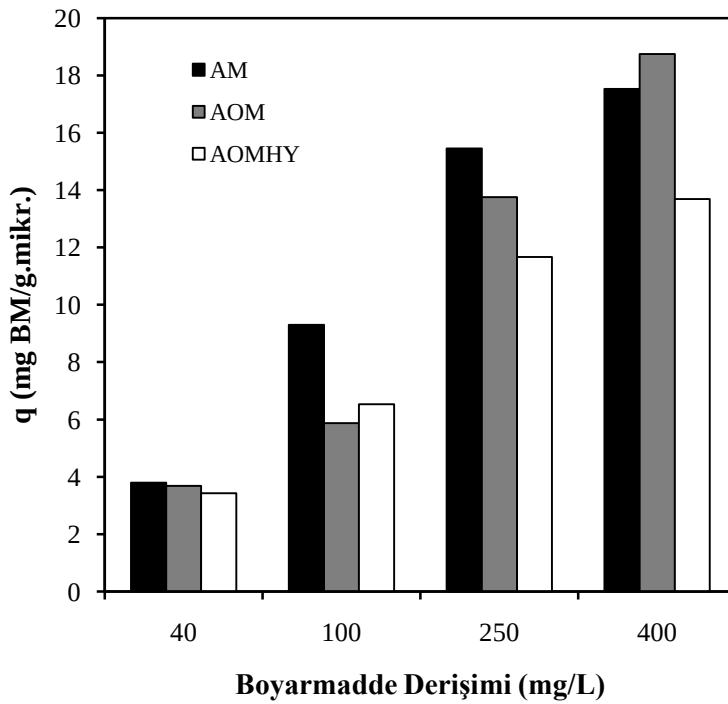


Şekil 5.29. Farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde AM, AOM ve AOMHY için üreme eğrileri (10 g/L ind. şeker, pH=5)

AM ve AOM ile gerçekleştirilen boyarmadde biyobirikimleri için de benzer eğilim gözlenmektedir. Maya boyarmaddeye adapte edildiğinde elde edilen giderim %'leri daha yüksektir. 46 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde AM ile % 42,9, 40 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde AOM ile % 34,6 boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir.

Şekil 5.30. farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde, adapte maya (AM) ve adapte olmayan maya (AOM) ile gerçekleştirilen boyarmadde biyobirikimi deneylerinde, elde edilen boyarmadde tutma kapasitelerini (q) göstermektedir. Adapte maya ile daha yüksek tutma kapasitesi elde edilmiştir.

Melasın hidroliz edilmeden direk olarak kullanıldığı durumda elde edilen üreme hızları, adapte olmayan mayanın (AOM ve melas hidroliz edilmiş) ve adapte mayanın (AM) üreme hızlarına oranla daha yüksek ($0,32 - 0,22 \text{ saat}^{-1}$) olmasına rağmen boyarmadde biyobirikimi (% 27,2-10,0) ve boyarmadde tutma kapasitesi daha düşük çıkmıştır.

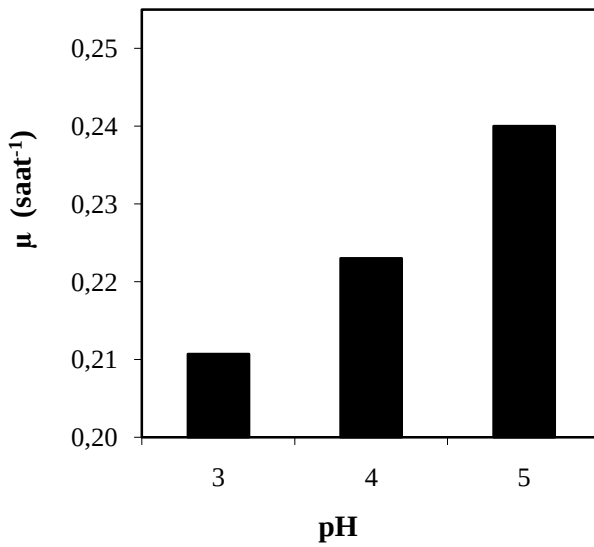


Şekil 5.30. AM, AOM ve AOMHY ile farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinin boyarmadde tutma kapasitesine (q) etkisi (10 g/L ind. şeker, pH=5)

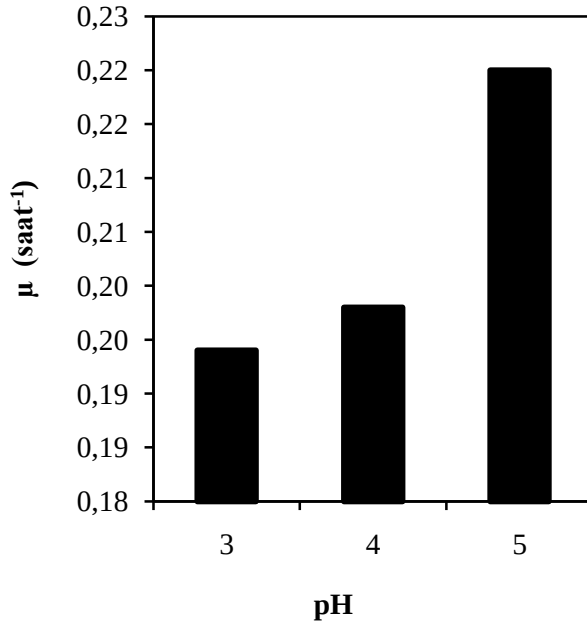
Mayanın boyarmaddeye adaptasyonu ve melasın hidrolizi ile ilgili sonuçlar, *S. cerevisiae* ile adaptasyon deneylerinde elde edilen sonuçlara benzer şekilde, mayanın boyarmaddeye adapte edilerek biyobirikim deneylerinde kullanılmasının daha iyi olacağını göstermektedir. Bu sonuçlara göre en yüksek üreme derişimi ve en iyi boyarmadde giderimi, mayanın boyarmaddeye adapte edildiği koşullarda elde edilmiştir. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında boyarmaddeye adapte edilmiş maya kullanılmıştır.

5.2.2. *Candida tropicalis* ile boyarmadde giderimine pH etkisi

Ortam başlangıç pH'ı mayanın boyarmaddeye olan ilgisinin bir ölçüsüdür. Başlangıç pH'nın melaslı besin ortamında *Candida tropicalis* mayasının üremesi üzerine etkisi boyarmadde içermeyen ve içeren ortamlar için pH 3-5 aralığında incelenmiştir. Boyarmadde içeren ve içermeyen deney ortamlarının her ikisinde de başlangıç pH'ı 3'den 5'e arttırıldıkça, *Candida tropicalis* mayasının özgül üreme hızının arttığı gözlemlenmiştir (Şekil 5.31, 5.32). Boyarmadde içeren ve içermeyen ortamlarda, *Candida tropicalis* mayası ile en düşük özgül üreme hızı pH 3'te (kontrol ortamında $0,211 \text{ saat}^{-1}$, boyarmadde içeren ortamda $0,194 \text{ saat}^{-1}$) elde edilmesine rağmen, en yüksek biyokütle derişimi pH=3'te elde edilmiştir.

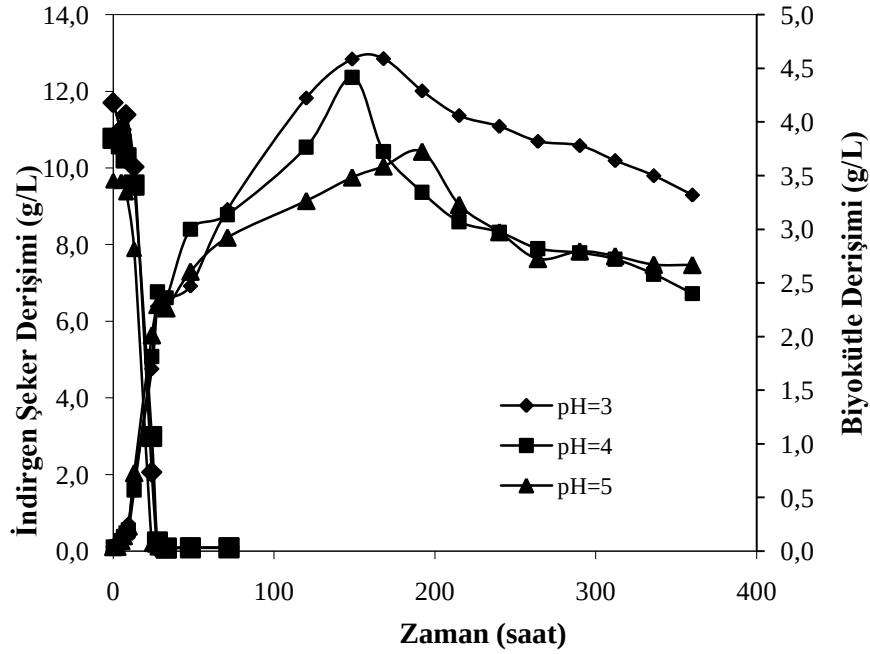


Şekil 5.31 Kontrol deneylerinde başlangıç pH'ının *C. tropicalis*'in özgül üreme hızına etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, S₀=10 g/L)

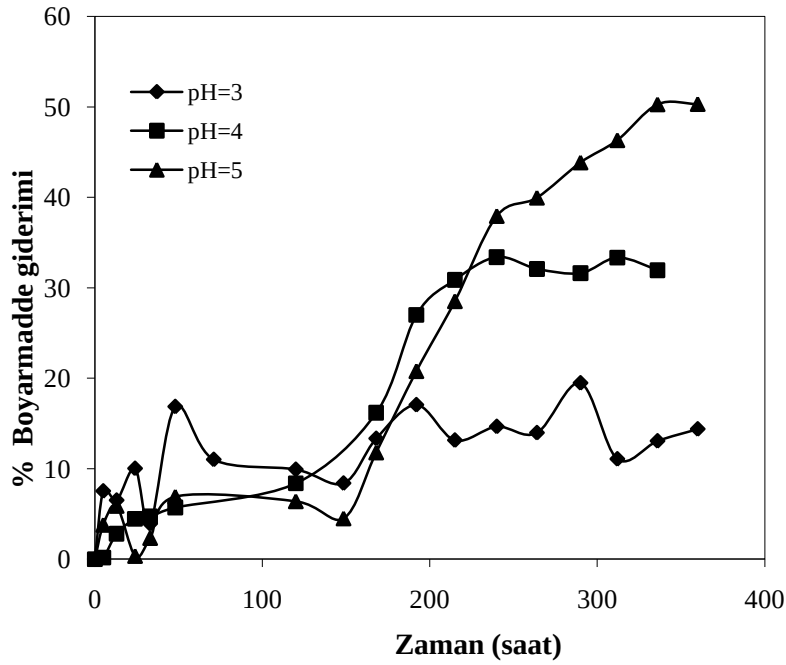


Şekil 5.32. 50 mg/L boyarmadde içeren ortamda başlangıç pH'ının *C. tropicalis*'in özgül üreme hızına etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, S₀=10 g/L)

Şekil 5.33'de farklı başlangıç pH'larına ait üreme eğrileri ve indirgen şeker tüketimleri görülmektedir. Her bir farklı pH'ta indirgen şeker tüketimleri hemen hemen aynı olmakla beraber, deneyin ilk 24 saatinde (*C. tropicalis* mayasının üreme eğrisinin üstel üreme evresinde) ortamdaki bütün şeker tüketilmiştir. Şekil 5.34'de farklı başlangıç pH'ların *C. tropicalis* mayası ile elde edilen boyarmadde biyobirikimleri görülmektedir. Her üç pH'ta da başlangıçta boyarmadde giderimi düşük olmasına rağmen deneyin 150. saatinden sonra boyarmadde giderimi artmıştır. Çalışılan koşullarda, pH=3'te % 19,5, pH=4'te % 33,3 ve pH=5'te % 50,3 boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* ile gerçekleştirilen deneylerde olduğu gibi *C. tropicalis* ile en yüksek boyarmadde biyobirikimi pH=5'te gerçekleştiği için devam eden deneylerde pH=5 olarak seçilmiştir. Dönmez (2002) Remazol Blue, Reactive Black ve Reactive Red boyarmaddelerinin, *C. tropicalis* mayası ile kesikli sistemde biyobirikiminde, bütün boyarmaddeler için optimum pH'ı 3 olarak belirlemiştir.



Şekil 5.33. Başlangıç pH'nın *C. tropicalis*'in biyokütle üremesi ve indirgen şeker tüketimine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, K.H.=140 rpm, $S_0=10\text{ g/L}$, $C_{0,BM}=50\text{ mg/L}$)



Şekil 5.34. Başlangıç pH'nın % boyarmadde biyobirikimine etkisi (K.H.=140 rpm, $T=30^{\circ}\text{C}$, $S_0=10\text{ g/L}$, $C_{0,BM}=50\text{ mg/L}$)

5.2.3. *Candida tropicalis* mayası ile boyarmadde giderimine başlangıç indirgen şeker derişiminin ve başlangıç boyarmadde derişiminin etkisi

İndirgen şeker derişiminin ve başlangıç boyarmadde derişiminin boyarmadde biyobirikimine etkisinin incelendiği bu bölümde deneyler, başlangıç pH'ı 5, 30°C sıcaklıkta ve 140 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Deneylerde substrat olarak kullanılan melastaki indirgen şekerin derişimi yaklaşık olarak 1, 3, 6, 11 ve 20 g/L olarak seçilmiş ve her bir indirgen şeker derişiminde boyarmadde derişimi yaklaşık olarak 20, 40, 100, 250 ve 400 mg/L olarak değiştirilmiştir. Her bir durum için özgül üreme hızı (μ , saat⁻¹), erişilen en yüksek maya derişimi (X_m , g/L), boyarmadde giderim yüzdesi, % boyarmadde giderimi ve mayanın boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q, mg BM/ g biyokütle) hesaplanmış ve Çizelge 5.5'de sunulmuştur.

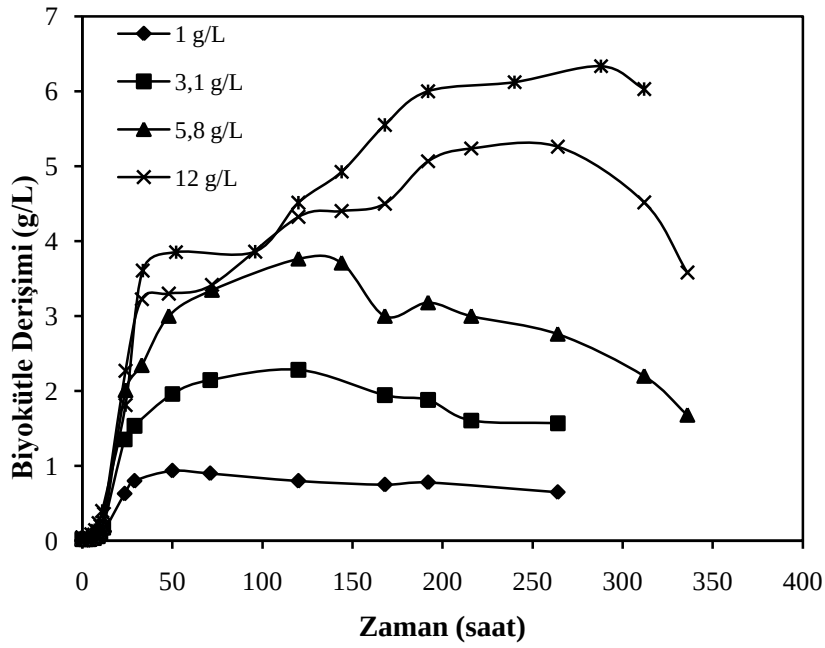
Başlangıç boyarmadde derişiminin ve indirgen şeker derişiminin *C. tropicalis* mayasının üremesine ve üreme hızına etkisi

İndirgen şeker derişimi ve boyarmadde derişiminin boyarmadde biyobirikimine etkisinin incelendiği deneylerde, boyarmadde biyobirikimi deneylerine paralel olarak, her bir indirgen şeker derişiminde, boyarmadde içermeyen ortamlarda kontrol deneyleri yapılmıştır. Hem bu kontrol deneylerinde hem de ortamda boyarmadde içeren deneylerde indirgen şeker derişimi arttıkça artan şeker miktarına bağlı olarak *C. tropicalis* mayasının üremesinde belirgin bir artış olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 5.35-36). Bununla birlikte düşük indirgen şeker derişimlerinde üremenin tamamlanma süresinin kısa olduğu, ortamdaki başlangıç indirgen şeker derişimi arttırıldıkça üremenin tamamlanması için geçen sürenin uzadığı saptanmıştır. Örneğin yaklaşık 1 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, hem kontrol deneylerinde hem de boyarmadde içeren deneylerde, *C. tropicalis* mayasının üremesi 50. saatte tamamlanırken, yaklaşık 5 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde üreme 144. saatte ve 10 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde üreme 216. saatte tamamlanmaktadır. Diğer yandan farklı başlangıç indirgen şeker derişimlerinde, hem

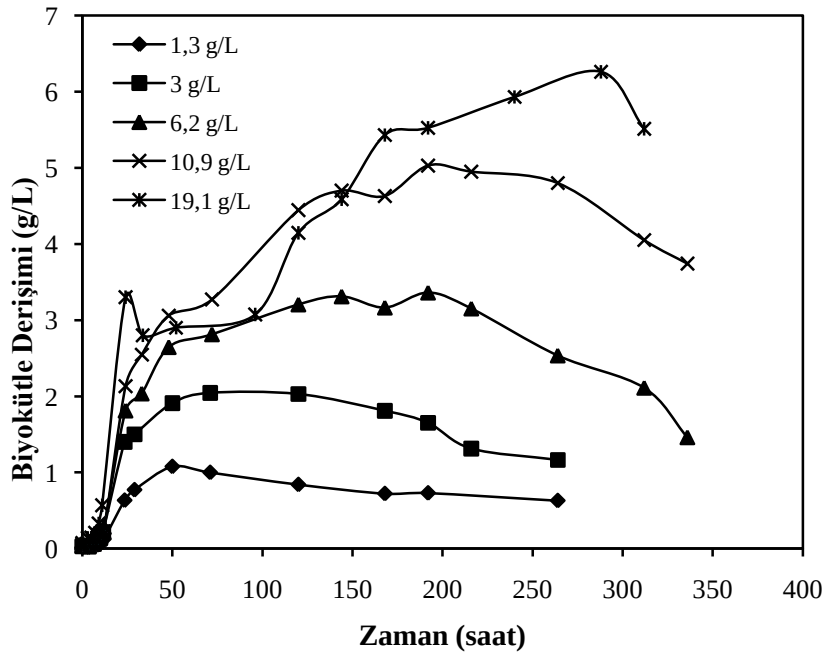
kontrol ortamında hem de boyarmadde içeren *C. tropicalis* üreme eğrilerinde 4 saatlik bir gecikme fazı gözlemlenmiştir.

Çizelge 5.5. Her bir başlangıç indirgen şeker derişiminde değışen farklı boyarmadde derişimlerinde *Candida tropicalis* 'in özgül üreme hızı, % boyarmadde giderimi ve q değeri

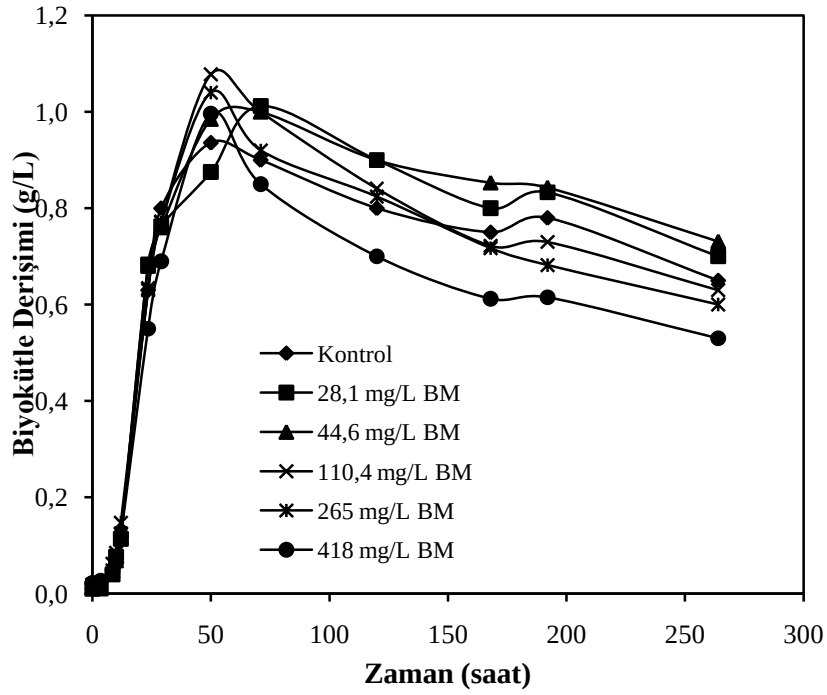
So (g/L)	Coboya (mg/L)	μ (saat ⁻¹)	X _m (g/L)	% BM giderim	q (mg BM/ g biyokütle)
1,0	0,0	0,145	0,94	-	-
3,1	0,0	0,193	2,28	-	-
5,8	0,0	0,217	3,76	-	-
12,0	0,0	0,247	5,26	-	-
20,7	0,0	0,252	6,33	-	-
1,2	28,1	0,142	1,01	6,5	1,8
3,0	22,0	0,180	2,05	25,5	2,7
6,1	23,0	0,210	3,57	26,7	1,7
11,0	25,0	0,240	5,28	23,0	1,1
19,2	32,0	0,244	6,22	28,4	1,5
1,2	44,6	0,139	1,00	5,4	2,4
2,9	45,0	0,179	2,10	16,2	3,5
6,3	44,0	0,205	3,64	21,5	2,6
10,8	46,2	0,234	5,23	42,9	3,8
19,6	52,4	0,238	6,36	32,5	2,7
1,3	110,4	0,136	1,08	5,0	5,1
3,0	109,0	0,169	2,05	17,1	9,1
6,2	106,5	0,194	3,36	17,1	5,4
10,9	106,4	0,222	5,03	44,0	9,3
19,1	117,1	0,228	6,26	31,3	5,9
1,4	265,0	0,132	1,04	4,7	12,0
3,1	263,5	0,166	2,15	15,0	18,4
10,1	256,5	0,211	5,15	31,0	15,4
18,6	258,0	0,217	6,21	24,0	10,0
1,5	418,0	0,128	1,00	4,7	19,6
3,3	416,5	0,159	2,06	12,1	24,5
6,5	414,0	0,180	3,33	14,7	18,3
10,8	408,0	0,206	5,45	23,4	17,5
18,6	411,0	0,210	6,34	17,6	11,4



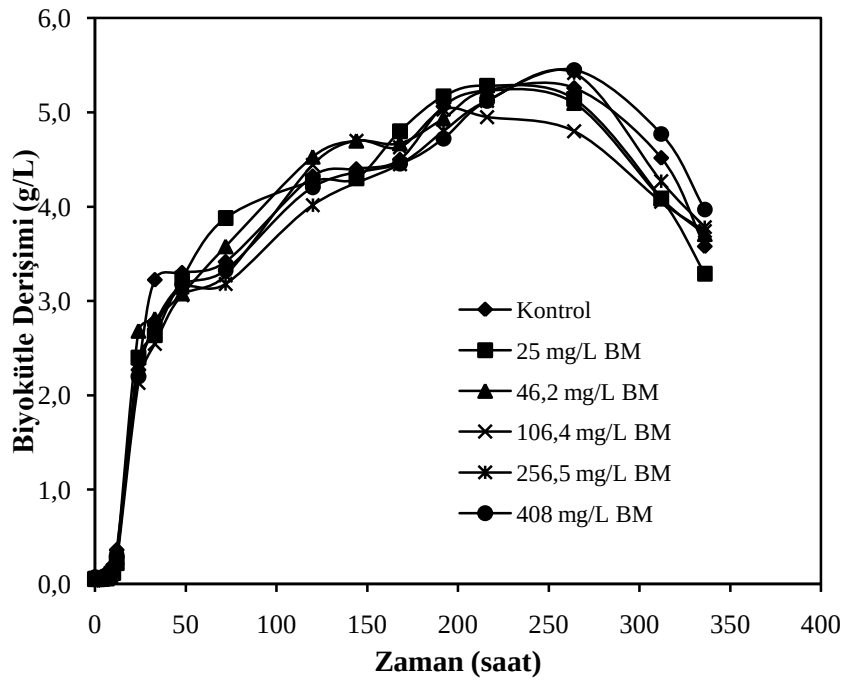
Şekil 5.35. Kontrol ortamında başlangıç indirgen şeker derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, pH=5)



Şekil 5.36. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda başlangıç indirgen şeker derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi (T=30°C, K.H.=140 rpm, pH=5)

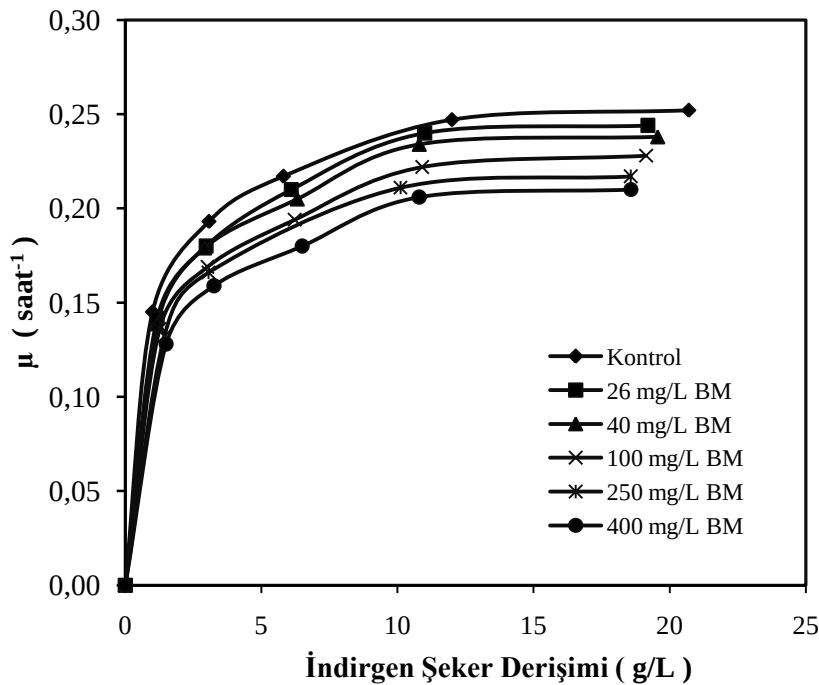


Şekil 5.37. 1 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, boyarmadde derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, K.H.=140 rpm, pH=5)



Şekil 5.38. 10 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, boyarmadde derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, K.H.=140 rpm, pH=5)

Şekil 5.37 1 g/L indirgen şeker derişiminde, farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinin *C. tropicalis* mayasının üremesine, Şekil 5.38 ise 10 g/L indirgen şeker derişiminde, farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinin *C. tropicalis* mayasının üremesine ait eğrilerini göstermektedir. Kontrol deneyi ve farklı boyarmadde derişimlerinde, başlangıç indirgen şeker derişiminin mayanın özgül üreme hızına etkisi Şekil 5.39’de gösterilmektedir. Şekilde en üstteki eğri, farklı başlangıç indirgen şeker derişimleri için, kontrol ortamına ait olup yukarıdan aşağıya doğru boyarmadde derişimi artmaktadır. Bu durum *C. tropicalis*’in üremesinin boyarmadde ile inhibe olduğunu göstermektedir. Örneğin yaklaşık 10 g/L indirgen şeker derişiminde, kontrol deneyi için özgül üreme hızı 0,247 saat⁻¹ iken, 106,4 mg/L boyarmadde içeren ortamda 0,222 saat⁻¹ ve 408 mg/L boyarmadde içeren ortamda ise 0,206 saat⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan her bir farklı boyarmadde derişiminde, başlangıç indirgen şeker artışıyla özgül üreme hızı artış göstermiştir. En yüksek özgül üreme hızı, 20,7 g/L başlangıç indirgen şeker içeren ve boyarmadde içermeyen kontrol ortamında 0,252 saat⁻¹ olarak elde edilmiştir.



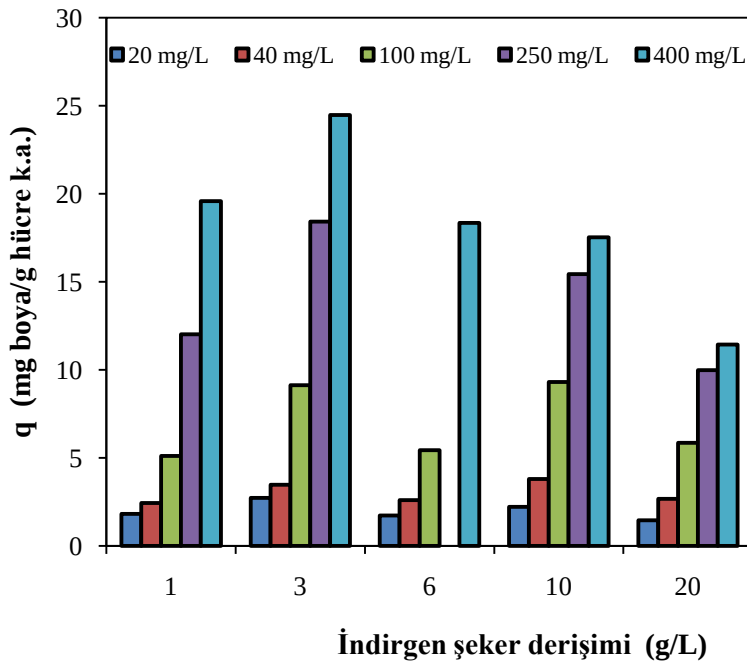
Şekil 5.39. Farklı başlangıç boyarmadde derişimleri için özgül üreme hızı ile substrat derişimi arasındaki ilişki

S. cerevisiae ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında elde edilen özgül üreme hızları (Çizelge 5.2), *C. tropicalis* mayasının özgül üreme hızları (Çizelge 5.5) ile karşılaştırıldığında, *S. cerevisiae* ile daha yüksek hızlar elde edilmiştir. Bunun nedeni *S. cerevisiae* mayasının melaslı besin ortamındaki karbon ve diğer besin kaynaklarını *C. tropicalis*'e göre daha hızlı tüketmesinden ve melaslı besin ortamına daha iyi adapte olmasından kaynaklanmış olabilir.

Başlangıç boyarmadde derişiminin ve indirgen şeker derişiminin biyobirikime birlikte etkisi

Herbir farklı başlangıç boyarmadde ve başlangıç indirgen şeker derişimi için, *Candida tropicalis* mayasına ait boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q) hesaplanmıştır (Şekil 5.40). Biyobirikim kapasitesi (q), her bir başlangıç indirgen şeker derişimi için, başlangıç boyarmadde derişiminin artışı ile artmaktadır. Düşük boyarmadde içeren ortamda düşük biyobirikim kapasitesi, yüksek boyarmadde derişimlerinde yüksek biyobirikim kapasitesi elde edilmesi, boyarmaddenin kütle transferinde yürütücü kuvvet olarak etki etmesinden kaynaklanmaktadır. Diğer yandan *C. tropicalis* mayasının boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q), indirgen şeker derişimine de bağımlılık göstermektedir. Biyobirikim kapasitesi q, en yüksek değerine 3 g/L indirgen şeker derişiminde ulaşmıştır. Başlangıç indirgen şeker derişimi 3 g/L'nin üzerine çıktıkça biyobirikim kapasitesi düşmüştür. En yüksek boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q) 3,3 g/L indirgen şeker derişimi ve 416,5 mg/L başlangıç boyarmadde derişimi için 24,5 mg BM/ g biyokütle olarak elde edilmiş olup, mikroorganizma tarafından tutulan boyarmadde derişimi ise $C_{tut} = 50,5$ mg/L (biyobirikim % 12,1)'dir. Diğer yandan tutulan boyarmadde derişimi (C_{tut}), farklı başlangıç boyarmadde ve indirgen şeker derişimi ile artış göstermektedir (Şekil 5.41). Her bir farklı başlangıç boyarmadde derişimi için, *C. tropicalis* tarafından tutulan boyarmadde derişimi (C_{tut}) 10 g/L indirgen şeker derişiminde en yüksek değere ulaşmakta, 20 g/L indirgen şeker derişiminde ise düşmektedir. Bunun nedeni, ortamda indirgen şeker derişiminin artışıyla, melasta şeker dışı maddelerin miktarı artmakta ve bu maddelerin boyarmadde biyobirikimini olumsuz yönde etkilediği

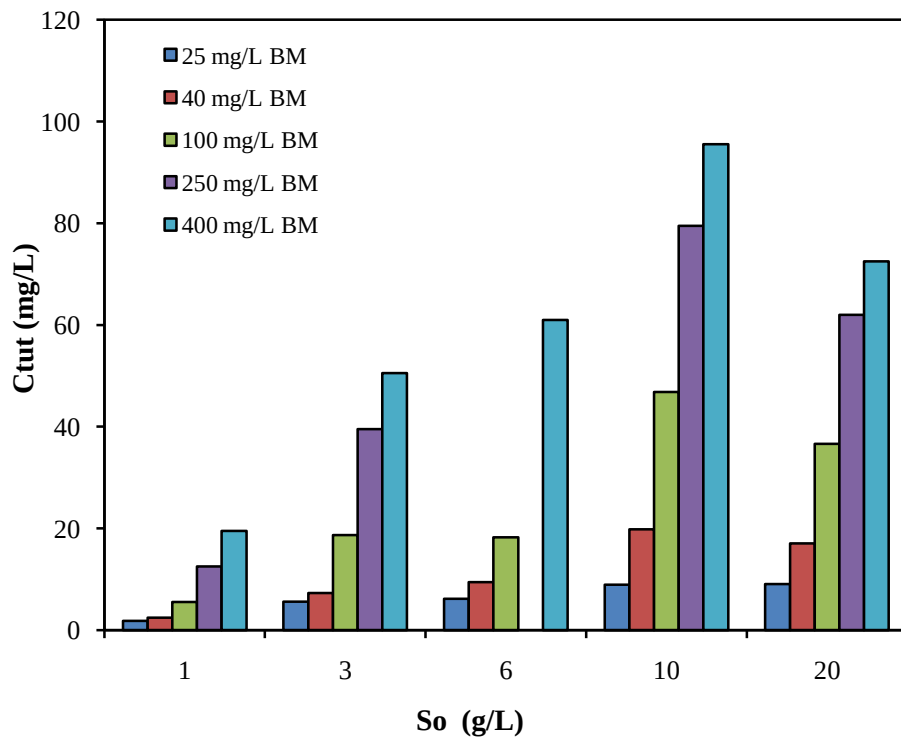
düşünülmektedir. *C. tropicalis* mayası tarafından tutulan en yüksek boyarmadde derişimi $C_{tut} = 95,5$ mg/L olarak, 10,8 g/L indirgen şeker ve 408 mg/L boyarmadde içeren ortamda elde edilmiştir. Bu koşullarda (9,6 g/L indirgen şeker ve 426,5 mg/L boyarmadde derişimi) *S. cerevisiae* mayası ile tutulan boyarmadde derişimi 229,4 mg/L'dir.



Şekil 5.40. *C. tropicalis*'in boyarmadde tutma kapasitesinin (q) indirgen şeker ve boyarmadde derişimi ile değışimi

C. tropicalis mayasıyla Violet 90 boyarmaddesinin giderimi, biyobirikim ortamındaki başlangıç indirgen şeker ve başlangıç boyarmadde derişiminden etkilenmektedir. Yapılan deneylerde, en yüksek boyarmadde giderimi, 106,4 mg/L başlangıç boyarmadde derişimi ve 10,9 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde % 44 olarak elde edilmiştir. Bu koşullardaki özgül üreme hızı $0,222 \text{ saat}^{-1}$, biyobirikim kapasitesi (q) 9,3 mg BM/ g biyokütle olarak elde edilmiştir. Bu çalışmada *S. cerevisiae* ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında, 424 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde ve 5 g/L indirgen şeker derişiminde 81,9 mg BM/g biyokütle boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir. Dönmez (2002), *Candida*

tropicalis mayasının Remazol Blue, Reactive Black ve Reactive Red boyarmaddelerinin biyobirikiminde, 700 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, mayanın biyobirikim kapasitesi sırasıyla 111,9 mg BM/g biyokütle, 101,9 mg BM/g biyokütle ve 79,3 mg BM/g biyokütle olarak bulmuştur. Bu çalışmada % boyarmadde biyobirikim değerleri 44,6-99,3 arasındadır. Aksu ve Dönmez (2005), Remazol Blue ve Remazol Black B boyarmaddelerinin *Candida tropicalis* mayası ile biyobirikim kapasitesini, 1000 mg/L başlangıç boyarmadde derişimi için, 167,5 mg BM/g biyokütle ve 163,3 mg BM/g biyokütle olarak elde etmişlerdir.

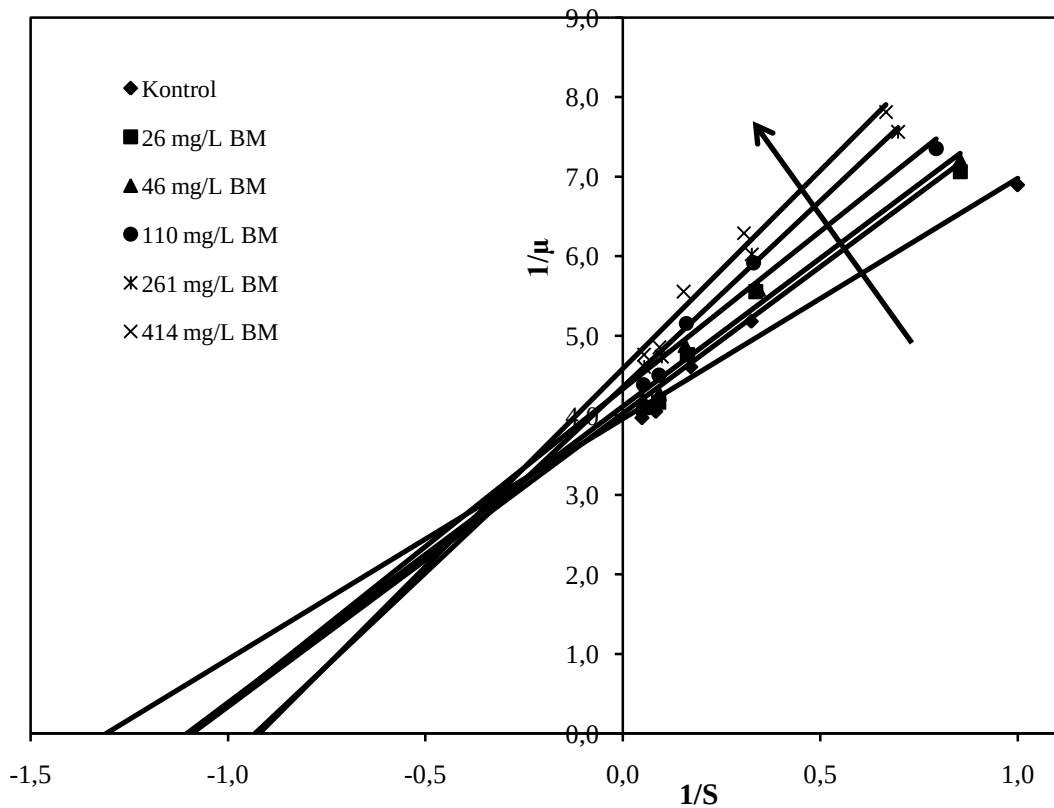


Şekil 5.41. *C. tropicalis* ile tutulan boyarmadde derişiminin (Ctut) indirgen şeker ve boyarmadde derişimi ile değışimi

C. tropicalis mayasının üreme kinetiğı

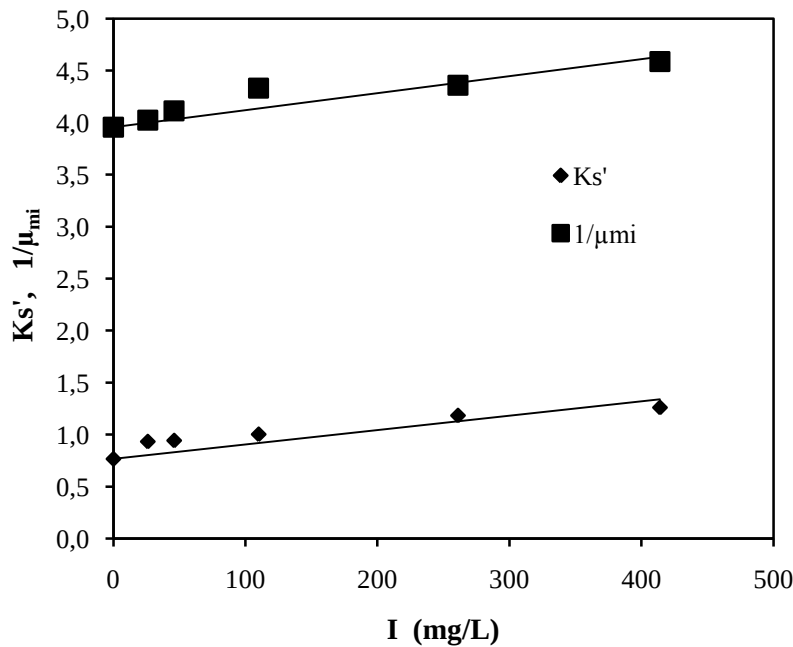
Candida tropicalis mayası ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarının bu aşamasında, özgül üreme hızı ile substrat arasındaki ilişkiyi belirleyebilmek için Monod denklemi kullanılmıştır. Şekil 5.32’de *C. tropicalis* mayasının özgül üreme

hızı ile indirgen şeker derişimi arasındaki ilişkiye göre, substrat inhibisyonu gözlenmemekte, ancak boyarmadde inhibisyonu söz konusudur. Monod eşitliğinde, *C. tropicalis* mayasına ait μ_m ve K_S Monod kinetik parametrelerini hesaplayabilmek için Monod eşitliğinin doğrusallaştırılmış formu kullanılmıştır. Bu amaçla, Eş. 2.22'ye göre $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiğı çizilmiştir (Şekil 5.42). Boyarmadde içermeyen kontrol ortamı (en alttaki eğri) için, bu doğrunun y eksenini kestiğı noktadan μ_m sabiti ($0,253 \text{ saat}^{-1}$) ve eğiminden ise Monod doygunluk sabiti ($K_S=0,765 \text{ g/L}$) hesaplanmıştır. *C. tropicalis* mayasının boyarmadde biyobirikimi için, kirletici olarak boyarmaddenin *C. tropicalis*'in özgül üreme hızı üzerine gösterdiği inhibisyon etkisi yarışmalı, yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon şeklinde incelenmiştir. Şekil 5.42'te en alttaki doğru kontrol ortamına ait olup, ok yönündeki her bir doğru, artan derişimlerdeki boyarmadde içindir.



Şekil 5.42. Kinetik sabitlerin hesaplanmasında kullanılan $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiğı

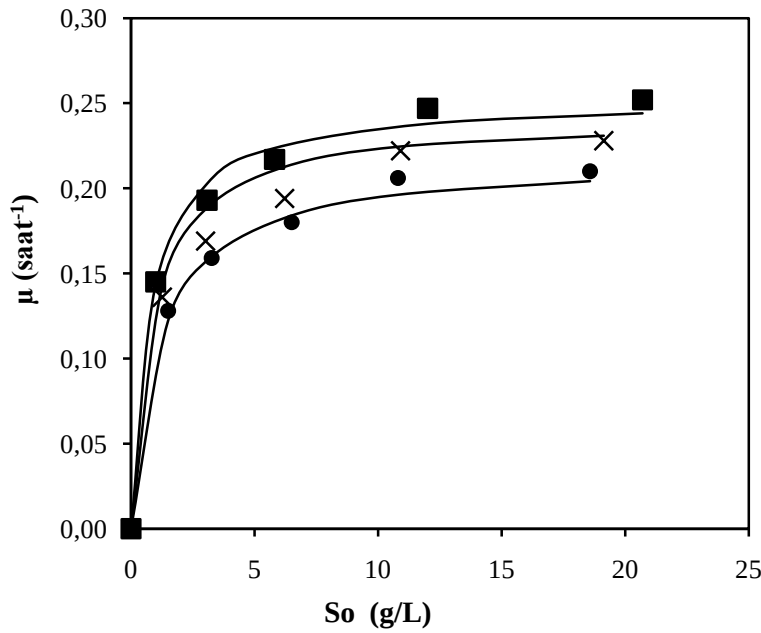
Doğrular birbirini, y eksenini üzerinde veya x eksenini üzerinde değilde ara bir noktada kesmektedir. Bu durumda boyarmaddeden kaynaklanan inhibisyonun, yarışmalı, yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon değilde lineer karma tip inhibisyon (mixed type inhibition) olduğuna karar verilmiştir. Her bir boyarmadde derişimi için, çizilen $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiğinden inhibisyonun ve Eş. 2.32 kullanılarak y eksenini kesim noktasından μ_{mi} ($\mu_m / (1 + I/\alpha K_I)$), doğrunun eğiminden $(K_s(1 + I/K_I))$ değerleri hesaplanmıştır. Boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı grafiği çizilerek, (Şekil 5.43) grafiğinin eğiminden K_I (İnhibisyon sabiti, mg/L) 546 mg/L bulunmuştur. Boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı $1/\mu_{mi}$ grafiği çizilerek (Şekil 5.43) bu grafiğinin eğiminden α faktörü 4,52 olarak hesaplanmıştır. *C. tropicalis* mayası ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında boyarmadde inhibisyon sabiti çalışılan boyarmadde derişimi aralığının üzerinde olup, mayanın bu derişimdeki boyarmaddeye karşı oldukça dirençli olduğunu göstermektedir. Ayrıca α sabitinin birden büyük olması inhibisyon modelinin lineer karma tip inhibisyon modeline uyduğunu destekler niteliktedir.



Şekil 5.43. Boyarmadde derişimine (inhibitör, I) karşı K_s' ve $1/\mu_{mi}$ grafiği

S. cerevisiae ile boyarmadde biyobirikimi çalışmalarında inhibisyon sabiti 1132 mg/L olup, *C. tropicalis* mayasına ait inhibisyon sabitinin yaklaşık iki katı kadardır. Deneysel sonuçlar ve kinetik sabitler açısından Violet 90 boyarmaddesinin biyobirikiminde, *S. cerevisiae* mayasının *C. tropicalis* mayasına oranla daha verimli olduğu düşünülmektedir.

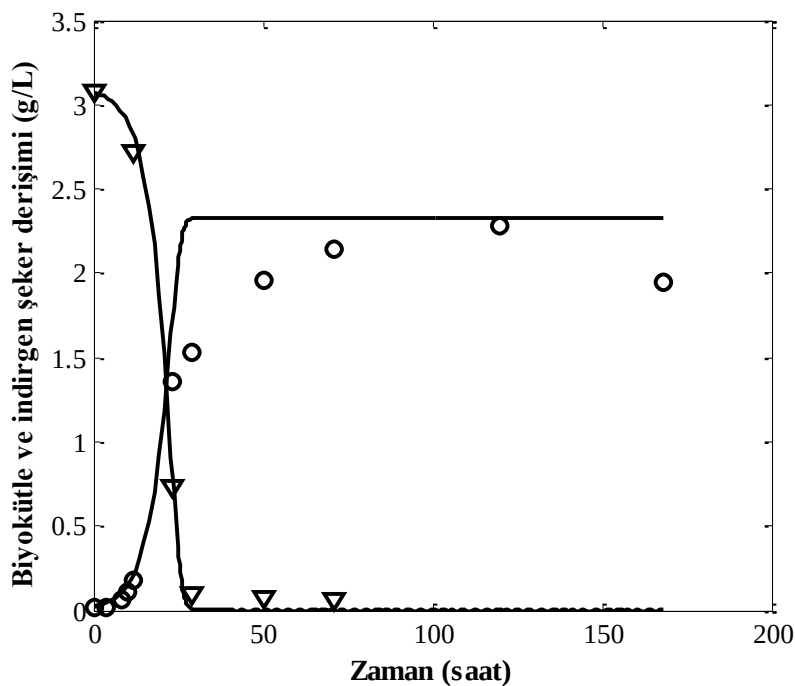
Monod kinetik parametreleri Eş. 2.26'de yerine konarak her bir başlangıç boyarmadde ve indirgen şeker derişimi için μ_{mod} hesaplanmıştır. Deneysel çalışmada elde edilen özgül üreme hızı (μ_{deney}) ile μ_{mod} parametreleri Şekil 5.44'de karşılaştırılmıştır. Monod kinetik modeli ve lineer karma tip inhibisyonu tanımlayan model ile deneysel çalışmadan elde edilen özgül üreme hızlarının birbiri ile uyumlu oldukları görülmüştür.



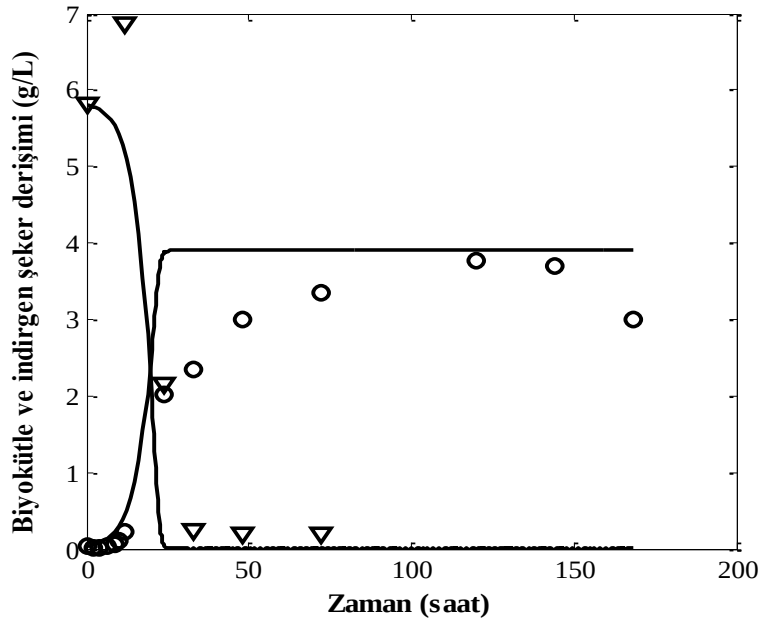
Şekil 5.44. *C. tropicalis* için farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde kinetik model ve deneysel özgül üreme hızlarının karşılaştırılması (— kinetik model, ■ kontrol, × 100 mg/L BM, ● 400 mg/L BM)

Diğer yandan, substrat tüketim hızı (Eş. 2.11) ile biyokütle üretim hızı (Eş.2.6) için yazılan diferansiyel denklemler MATLAB'da yazılan bir programda birlikte

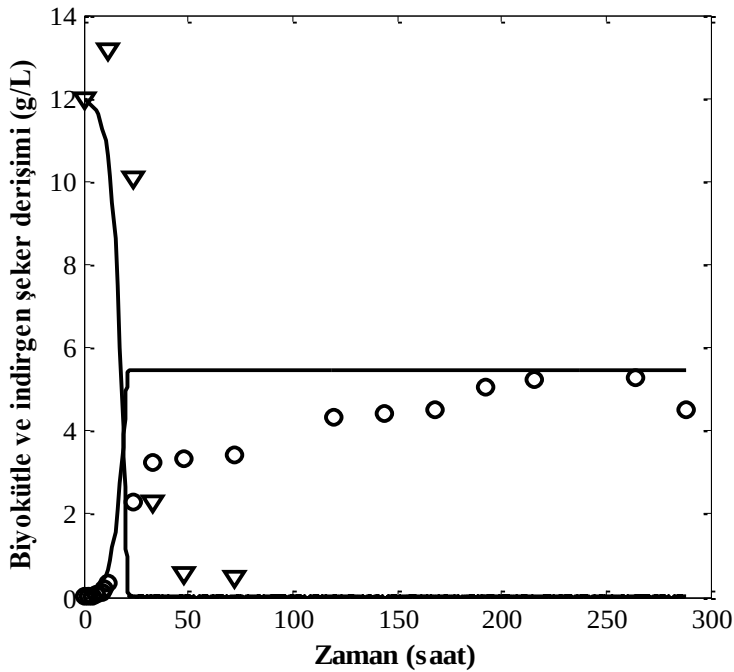
çözdürülmüştür. Programda, farklı başlangıç indirgen şeker ve boyarmade derişimleri için, kinetik model ile elde edilen biyokütle ve substrat derişimi, deneysel biyokütle ve substrat derişimi sonuçları ile karşılaştırılmıştır. MATLAB'dan elde edilen kinetik model ve deney sonuçlarının karşılaştırılması, bazı farklı başlangıç indirgen şeker ve boyarmadde derişimleri için Şekil 5.45-5.54'de verilmiştir. Aksu ve Dönmez (2005), *Candida tropicalis* mayası ile Remazol Blue ve Remazol Black B boyarmaddelerinin biyobirikiminde, boyarmadde anyonlarının, mayanın özgül üreme hızına inhibitör etkisini yarışmasız inhibisyon modeli ile açıklamışlardır.



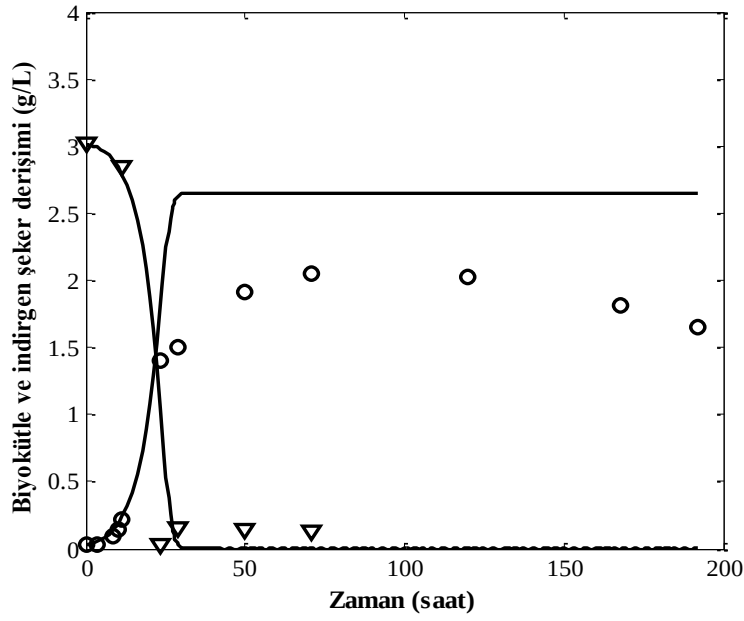
Şekil 5.45. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (3,08 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı)



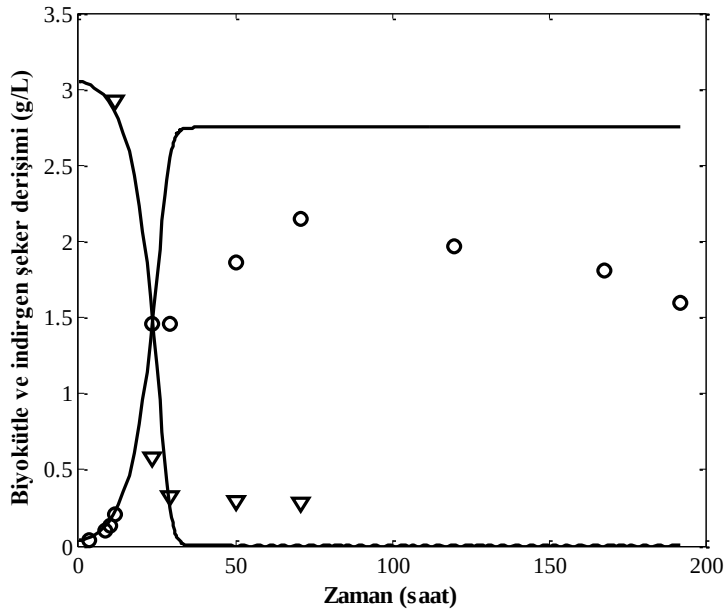
Şekil 5.46. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○:deneysel biyokütle derişimi (5,8 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı)



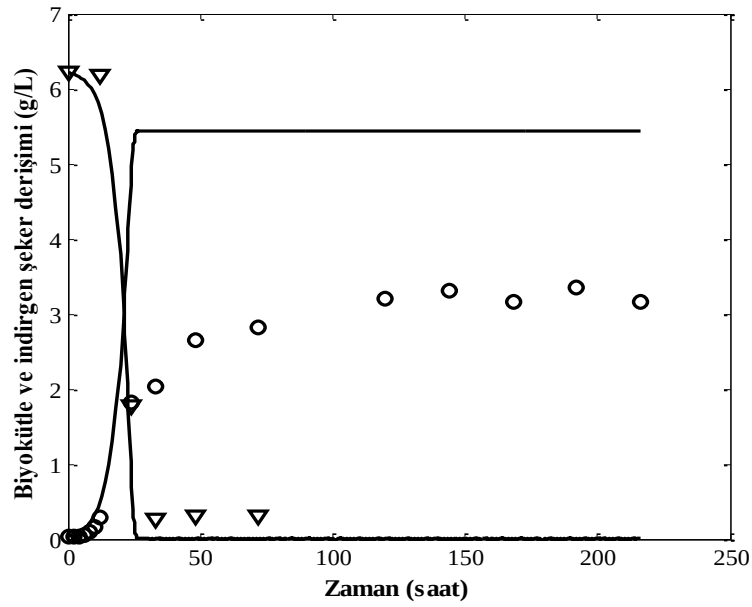
Şekil 5.47. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (12 g/L indirgen şeker, kontrol ortamı)



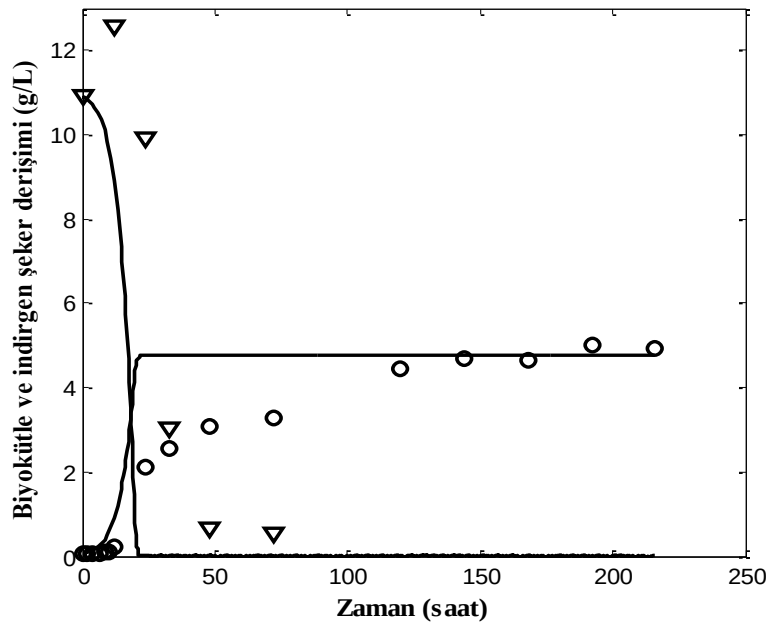
Şekil 5.48. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (3,0 g/L indirgen şeker, 109 mg/L BM)



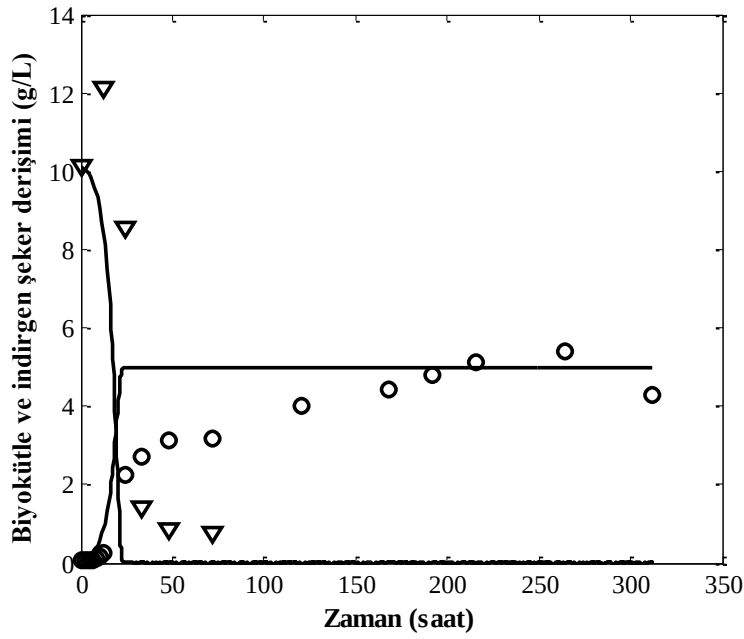
Şekil 5.49. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (3,06 g/L indirgen şeker, 263,5 mg/L BM)



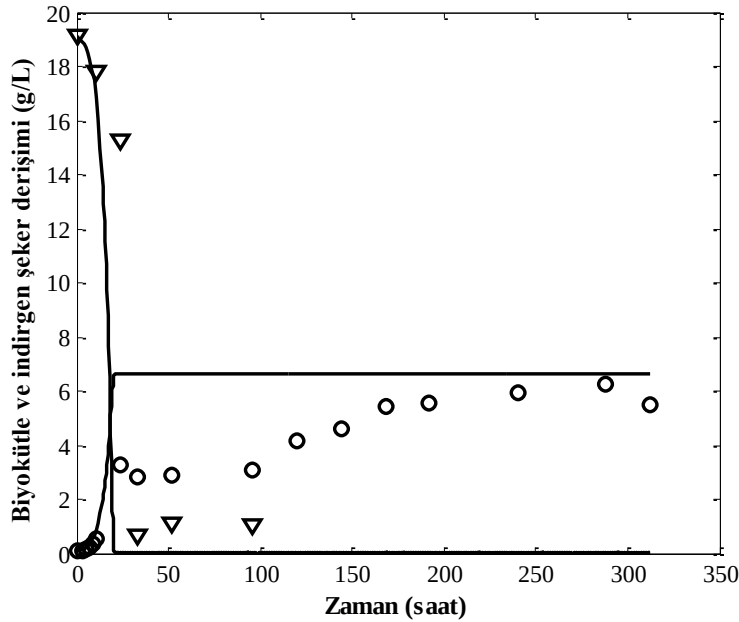
Şekil 5.50. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (6,22 g/L indirgen şeker, 106,5 mg/L BM)



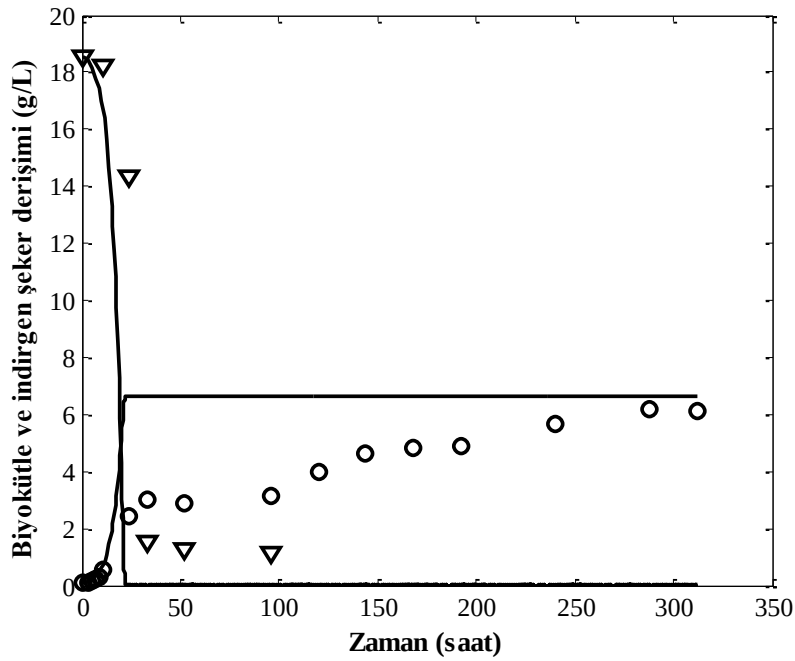
Şekil 5.51. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (10,91 g/L indirgen şeker, 106,4mg/L BM)



Şekil 5.52. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○:deneysel biyokütle derişimi (10,91 g/L indirgen şeker, 256,5 mg/L BM)



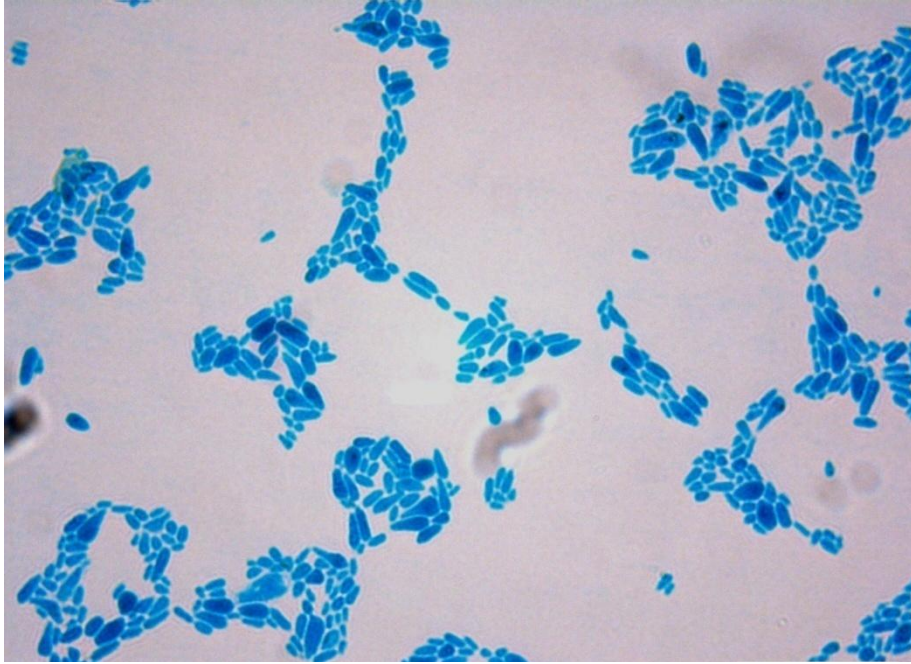
Şekil 5.53. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○:deneysel biyokütle derişimi (19,134 g/L indirgen şeker, 117 mg/L BM)



Şekil 5.54. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (18,57 g/L indirgen şeker, 258 mg/L BM)

5.2.4. *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi

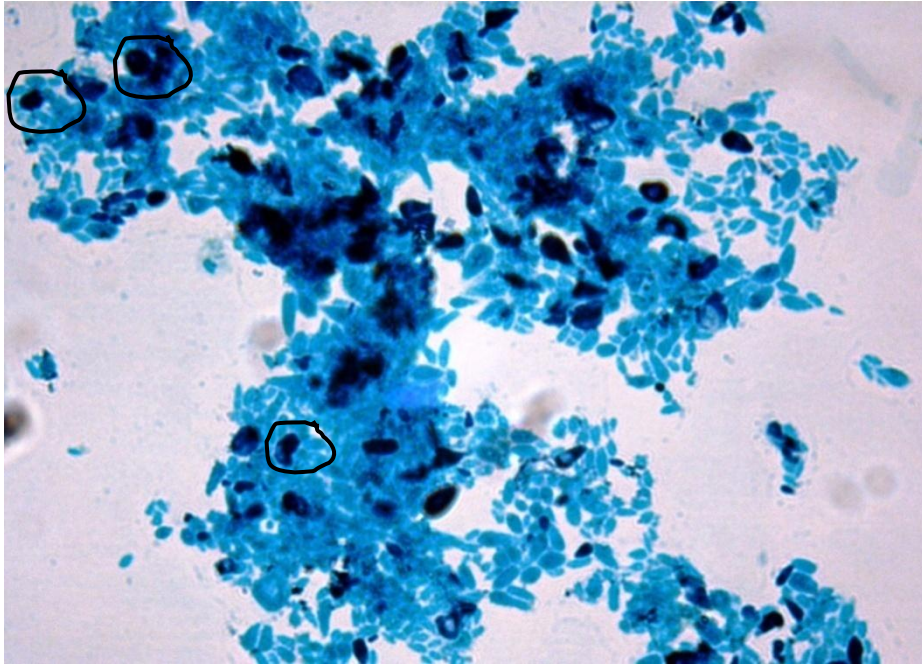
C. tropicalis maya hücrelerinin, boyarmadde içermeyen kontrol ortamında ve boyarmadde içeren biyobirikimin gerçekleştiği deney ortamındaki davranışını gözlemleyebilmek için ışık mikroskobunda resimleri çekilmiştir. Mikroskopta resmi çekilecek preparatların hazırlanışı Bölüm 4.5.5'te verilmiştir. Preparatların resmi mikroskopta 100 kat büyütülerek çekilmiştir. Boyarmadde içermeyen kontrol ortamındaki *C. tropicalis* maya hücreleri uzun oval yapıda olup (Şekil 5.55), şişmiş gibi duran büyük boyutlu hücreler ortamda bölünmek üzere olan maya hücreleridir. Maya hücreleri birbirine bitişik olarak dizilmişlerdir. Resimlerde maya hücrelerinin içerisindeki çekirdek kısmı ve vakuoller görülmektedir. *C. tropicalis* mayası bölünmeyle çoğalmaktadır.



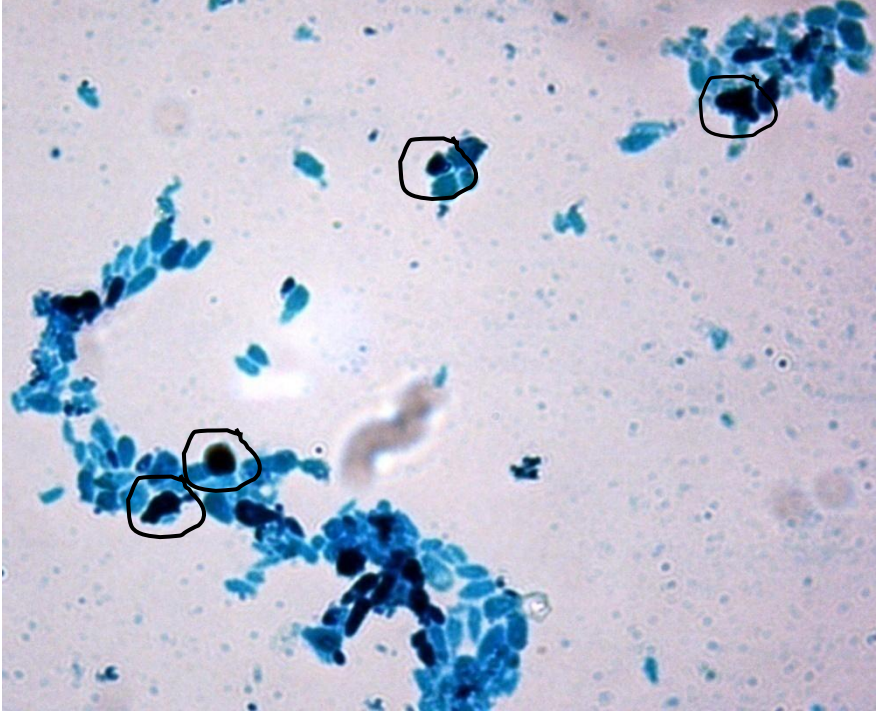
Şekil 5.55. Boyarmadde içermeyen kontrol ortamında *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü

Şekil 5.56-57 10 g/L indirgen şeker ve 100 mg/L boyarmadde içeren ortamdaki *C. tropicalis* maya hücrelerini göstermektedir. Bu ortamda maya hücreleri birbirlerine neredeyse yapışmış durumdadırlar. Hücreler boyarmaddeyi tutmuş ve boyarmadde hücrelerin çekirdeklerine, vakuollerine ve hücrenin her yerine dolarak hücreyi doldurmuştur. Boyarmaddenin, maya hücrelerinin hücre duvarlarındaki karbonhidrat ve protein yapısını bozarak hücre duvarını yıkıma uğrattığı, hücrenin parçalanmasına neden olduğu düşünülmektedir. Resimlerde görüldüğü gibi boyarmaddeyi tutan birçok hücrenin hücre duvarı yıkıma uğradığından, hücrenin parçalandığı görülmektedir. Hücre parçalandığı zaman, tuttuğu bütün boyarmaddeyi ortama geri vermektedir. *C. tropicalis* maya hücreleri, ortamdaki boyarmaddenin çoğunu yapısına alma eğilimindedir. Diğer yandan, hücrelerin bir kısmı boyarmadde ile inhibisyona uğramalarına rağmen, bir kısmı hala oldukça iyi durumda olup üremeye devam etmektedirler. Benzer şekilde ortamda 400 mg/L (Şekil 5.58-59) boyarmadde içeren ortamda *C. tropicalis* maya hücreleri, boyarmaddeyi daha fazla tutmuş, boyarmaddeyi tutan hücreler tamamen boyarmadde ile dolarak şişmiştir. Her iki farklı başlangıç boyarmadde derişiminde de, boyarmadde tutan hücrelerin, hücre

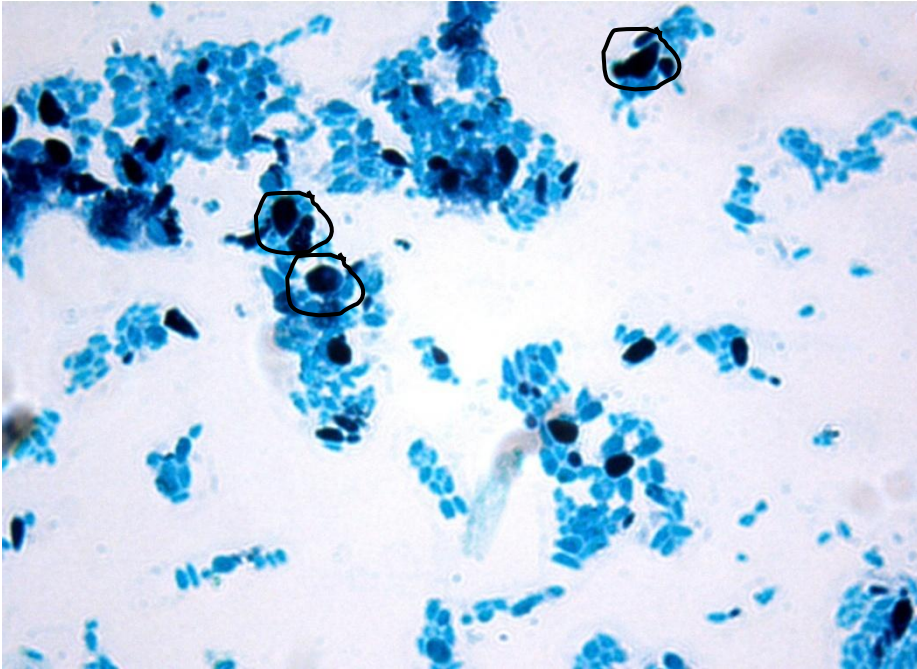
duvarının zarar görmesi neticesinde şekil ve boyutları değişmiş, bazı hücreler parçalanmıştır. Şekillerde yuvarlak içine alınan hücreler, şekil ve boyutu değişen, parçalanmış hücrelerden bazılarıdır. *Candida tropicalis* mayasının, boyarmadde içeren ortamdaki bu görünümü, boyarmadde uzaklaştırma mekanizmasının, biyobirikim şeklinde gerçekleştiğini destekler niteliktedir.



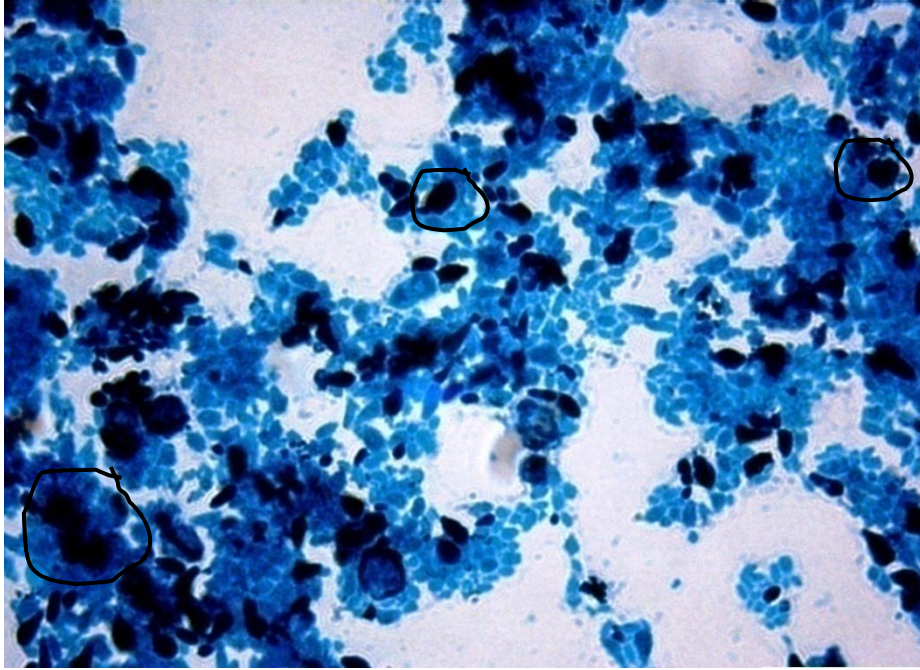
Şekil 5.56. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü



Şekil 5.57. 100 mg/L boyarmadde içeren ortamda *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü



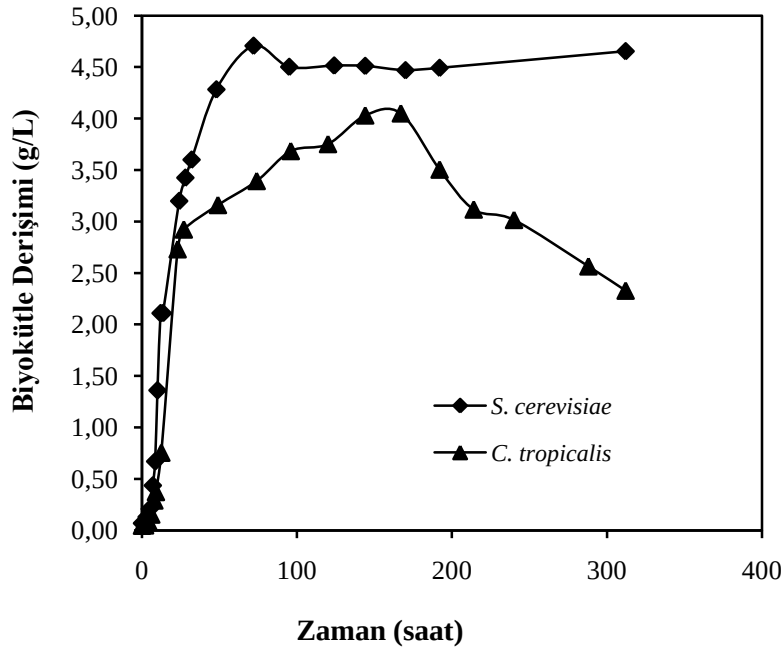
Şekil 5.58. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü



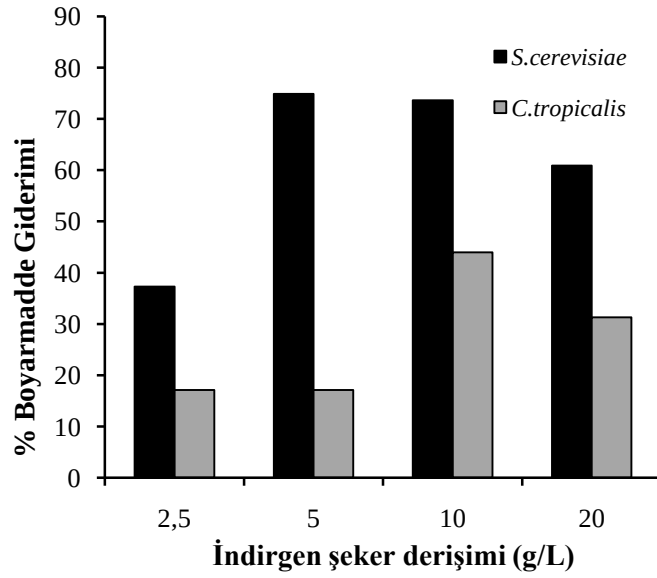
Şekil 5.59. 400 mg/L boyarmadde içeren ortamda *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü

5.3. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* Mayalarının Boyarmadde Giderimi Açısından Karşılaştırılması

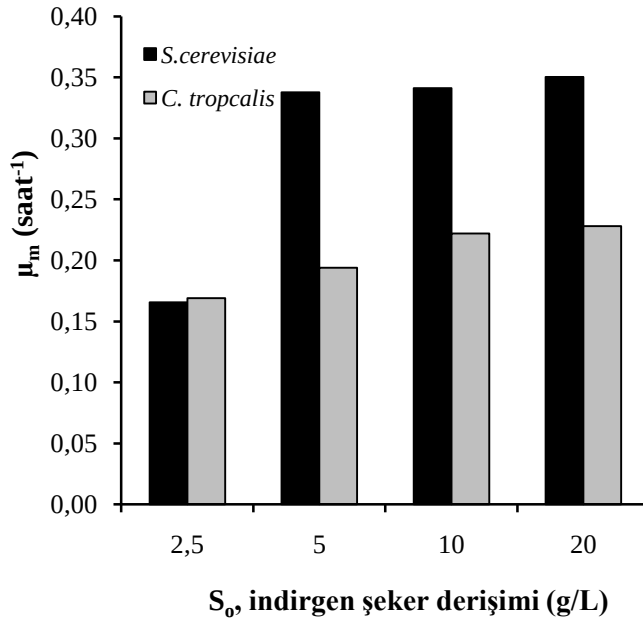
S. cerevisiae mayası ile *C. tropicalis* mayasının boyarmadde biyobirikimi açısından karşılaştırılmıştır. Şekil 5.60 da 10 g/L indirgen şeker ve 100 mg/L boyarmadde içeren ortamdaki biyokütle üreme eğrilerini göstermektedir. Diğer yandan 100 mg/L boyarmadde derişimi için, farklı başlangıç indiren şeker derişimlerinde, her iki mayanın % boyarmadde biyobirikimleri Şekil 5.61, özgül üreme hızları Şekil 5.62 ve boyarmadde biyobirikim kapasiteleri Şekil 5.63'de karşılaştırılmıştır. Şekillerde *S. cerevisiae*'nin boyarmadde biyobirikimi ve boyarmadde tutma kapasitesi açısından *C. tropicalis*'e oranla daha iyi olduğu görülmektedir. Benzer şekilde biyokütle üretmesi ve özgül üreme hızları açısından karşılaştırıldığında *S. cerevisiae* mayasının boyarmaddeye daha dirençli olduğunu söylemek mümkündür.



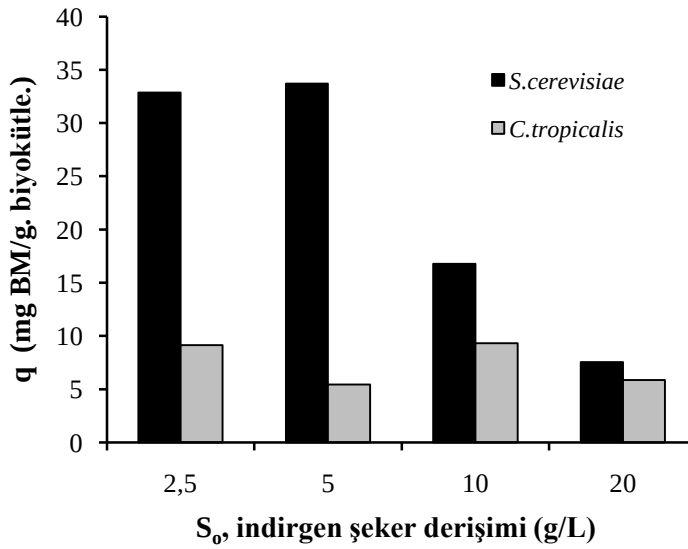
Şekil 5.60. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayalarının boyarmadde giderimi sırasında biyokütle üremelerinin karşılaştırılması (100 mg/L boyarmadde)



Şekil 5.61. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayalarının boyarmadde biyobirikimlerinin karşılaştırılması (100 mg/L boyarmadde)



Şekil 5.62. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayalarının boyarmadde giderimi sırasında özgül üreme hızlarının karşılaştırılması (100mg/L boyarmadde)



Şekil 5.63. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayalarının boyarmadde giderimi sırasında boyarmadde tutma kapasitelerinin karşılaştırılması (100mg/L boyarmadde)

Saccharomyces cerevisiae ile yapılan çalışmalarda en yüksek boyarmadde giderimi 5 g/L indirgen şeker derişiminde ve 21,6 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde %

94,9 olarak elde edilmiştir. *Candida tropicalis* ile en yüksek boyarmadde giderimi, 10,9 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, 106,4 mg/L başlangıç boyarmadde derişimi için % 44'tür. Literatürde yapılan çalışmalarda, Çizelge 5.6'da görüldüğü gibi bazı boyarmaddelerin gideriminde, farklı maya türleriyle, farklı boyarmadde giderimleri elde edilmektedir. Örneğin Remazol Blue boyarmaddesi, *Saccharomyces cerevisiae* ile % 50,6 [Aksu, 2003], *Candida tropicalis* ile % 98,6 [Aksu ve Dönmez, 2005] ve *Rhodotorula mucilaginosa* ile % 93 [Ertuğul ve ark., 2009] giderilmektedir. Bu farklılık, her bir boyarmaddenin yapısına ve kompleks oluşuna bağlıdır. Boyarmaddenin yapısındaki en küçük bir değişiklik boyarmadde giderimini etkilemektedir [Vijaykumar et al.,2006]. Metal kompleks boyarmaddeler oldukça kompleks yapılıdır. Literatürde yapılan çalışmalarda metal kompleks boyarmaddelerin gideriminde bakteri ve mantarlar kullanılmıştır (Çizelge 5.7). bu çalışmada Violet 90 boyarmaddesinin gideriminde *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida tropicalis* mayaları kullanılmıştır. Bu mayalarla Violet 90 boyarmaddesinin giderimi, literatürde yapılan çalışmalarla kıyaslandığında, mayaların metal kompleks boyarmaddelerin gideriminde kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çizelge 5.6. Boyarmaddelerin mayalarla giderimi ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar

Mikroorganizma	Boyarmadde	Co (mg/L)	Ctut (mg/L)	% BM Giderimi	Deney koşulları	Kaynak
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Biyobirikim)	Remazol Blue Remazol Red	249,2 219,1	126,1 153	50,6 69,8	25°C 100 rpm pH=3	Aksu, 2003
<i>Candida tropicalis</i> (Biyobirikim)	Remazol Blue Remazol Black B	197,3 195,7	190,9 191,9	98,6 98,1	25°C 150 rpm pH=4	Aksu, Dönmez, 2005
<i>Candida tropicalis</i> (Biyobirikim)	Mono azo dispers	50		100	30°C 100 rpm pH=6	Arora ve ark., 2005
<i>Pichia fermentans</i> (Biyobirikim)	Acid Blue 93 Direct Red 28 Basic Violet 3	10 10 10		100 93 70	28°C 120 rpm pH=5	Das ve ark.,
<i>Candida tropicalis</i> (Biyobirikim)	Remazol Blue Reactive Black Reactive Red	718 730,8 701,8	675,7 627,7 312,8	94,1 85,9 44,6	25°C 100 rpm pH=3	Dönmez 2002
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (Biyobirikim)	Remazol Blue	56,8		93	30°C 100 rpm pH=4	Ertuğul ve ark., 2009

Çizelge 5.6. (Devam) Boyarmaddelerin mayalarla giderimi ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar

Mikroorganizma	Boyarmadde	Co (mg/L)	Ctut (mg/L)	% BM Giderimi	Deney koşulları	Kaynak
<i>Candida utilis</i> (Biyobirikim)	Remazol Turquoise Blue G	49,6	40,7	82	25°C 150 rpm pH=4	Gönen ve Aksu, 2009
<i>Candida tropicalis</i> (Biyobirikim)	Remazol Turquoise Blue G	51,2	35,3	69	25°C 150 rpm pH=4	Gönen ve Aksu, 2009
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Biyoparçalanma)	Methyl Red	100	-	100	30°C 150 rpm pH=9	Jadhav ve ark., 2007
<i>Candida olephila</i> (Biyobirikim)	Reactive Black 5	200	-	100	26°C 120 rpm	Lucas ve ark., 2006
<i>Kluyveromyces marxianus</i> IMB3 (Biyobirikim)	Remazol Black B	200	-	96	37°C 150 rpm pH=5	Meehan ve ark., 2000
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (Biyobirikim)	Reactive Red 2	50	-	93	25°C 100 rpm pH=5	Onat ve ark., 2010
	Reactive Blue 4	50		88		
	Basic Yellow 2	50		40		
İzole maya 2023	Reactive Blue 221	203,77	20,1	98,7	26°C 200 rpm pH=4,5	Pajot ve ark., 2007
	Reactive Red 141	162,95	149,9	92,0		
İzole maya 2118	Reactive Blue 221	199,27	175,1	87,9		
	Reactive Red 141	16,52	152,1	90,2		
<i>Candida zeylanoides</i> (Biyoparçalanma)	Methyl orange	65,4	-	100	25°C 120 rpm	Ramalho ve ark., 2002
<i>Trichosporon beigelii</i> NCIM-3326	Reactive Blue 171	50	-	100	37°C pH=7	Saratale ve ark., 2009
<i>Candida tropicalis</i> <i>Debaryomyces polymorhus</i> (Biyoparçalanma)	Procion Marine H-EXL	100	-	97 94	28°C 140 rpm pH=5-6	Yang ve ark., 2003
<i>Debaryomyces polymorhus</i> (Biyoparçalanma)	Reactive Black 5	200	-	98	28°C 140 rpm pH=5-7	Yang ve ark., 2003
<i>Candida tropicalis</i> <i>Debaryomyces polymorhus</i> (Biyoparçalanma)	Reactive Black 5	200	-	76,4 92,7	28°C 140 rpm pH=5-6	Yang ve ark., 2008
<i>Pseudomyces rugulosa</i> Y-48 <i>Candida krusei</i> G-1	Reactive Brilliant Red K-2BP	200	-	99 99	28°C 200 rpm pH=5-6	Yu ve Wen, 2005
<i>Candida tropicalis</i>	Violet 90 metal-kompleks	106,4	46,8	44	30°C 140 rpm pH=5	Bu çalışma
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Violet 90 metal-kompleks	21,6	20,5	94,9	30°C 140 rpm pH=5	Bu çalışma

Çizelge 5.7. Metal-kompleks boyarmaddelerin giderimi ile ilgili yapılan çalışmalar

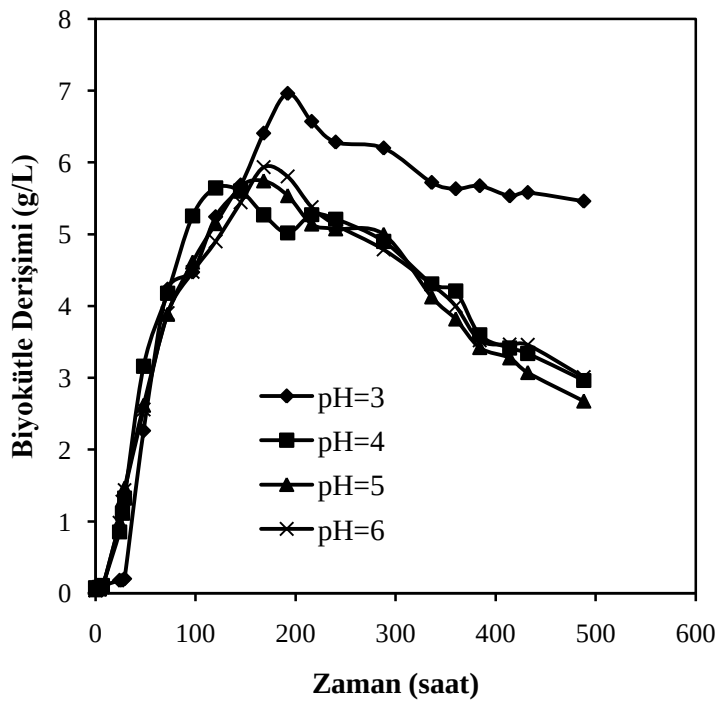
Mikroorganizms	Boyarmadde	Co (mg/L)	% BM Giderimi	Deney koşulları	Kaynak
<i>Shewanella strain</i>	Irgalan Grey GLN (Cr-Co-kompleks) Irgalan Black RBLN (Cr-kompleks) Irgalan Blue 3GL (Co-kompleks)	120	8 mg/L/g biyokütle/ dak 11 38 mg/L/g biyokütle/ dak 38 mg/L/g biyokütle/ dak	30°C 200 rpm pH=7-8	Li ve Guthrie, 2010
<i>Penicillium oxalicum</i>	Reactive Blue 21 (Cu-kompleks BM)	400 200	99,7 100	30°C 120 rpm pH=7	Xin ve ark., 2010
<i>Funalia trogii</i>	Acid Black 52 (1:1 metal-kompleks)	100 300 400	100 86 81,4	28°C 100 rpm pH=4,5	Park ve ark., 2006
<i>Cladosporium cladosporioides</i>	Acid Blue 193 (1:1 Cr-kompleks BM)	100	100	40°C pH=5,6	Vijaykumar ve ark., 2006
<i>Trametes versicolor</i>	Grey Lanaset G (Cr-Co-kompleks BM)	150	90	25°C pH=4,5	Blanquez ve ark., 2004

5.4. Krom Giderimine pH Etkisi

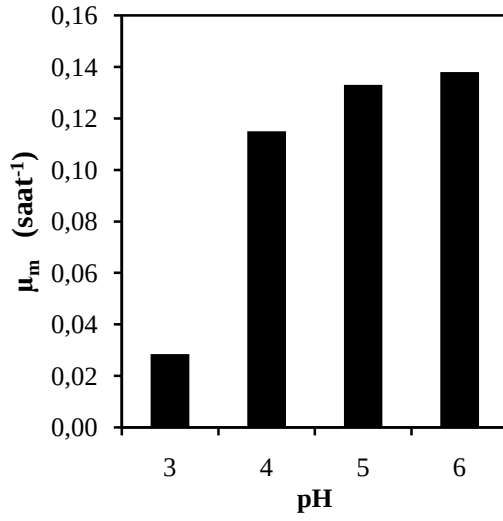
5.4.1. *Saccharomyces cerevisiae* ile krom giderimine pH etkisi

Saccharomyces cerevisiae mayası ile krom biyobirikimine pH etkisinin incelendiği bu bölümde, ortamda başlangıç krom (VI) derişimi 50 mg/L ve başlangıç indirgen şeker derişimi 10 g/L'dir. *S. cerevisiae* mayası ile krom gideriminde Cr (VI) kaynağı olarak $K_2Cr_2O_7$ kullanılmıştır. Başlangıç pH'ı 3-6 arasında değiştirilerek her bir farklı başlangıç pH'ında *S. cerevisiae* mayasına ait üreme eğrileri Şekil 5.64'de olduğu gibidir. Deneyler sırasında alınan örneklerde toplam krom ve krom (VI) derişimleri belirlenmiştir. Deneylerin 72. saatinde ortamdaki krom (VI)'nın tamamı krom (III)'e indirgenmiştir. *S. cerevisiae* mayası içermeyen melaslı besin ortamında, Cr(VI)'nın Cr(III)'e indirgenmesi incelenmiş ve pH 3'te başlangıçtaki krom(VI)'nın tamamı, pH 4-6 arasında ise büyük bir kısmı krom (III)'e indirgenmiştir. *S. cerevisiae* ile krom giderimi ortamında ise, melas tarafından indirgenmemiş olan krom (VI)'nın, maya tarafından indirgendiği gözlemlenmiştir. Muter ve arkadaşları (2001) Juvera-Espinosa ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmalarda, krom (VI)'nın krom (III)'e melas ve maya tarafından indirgendiğini belirlemişlerdir. Bu nedenle

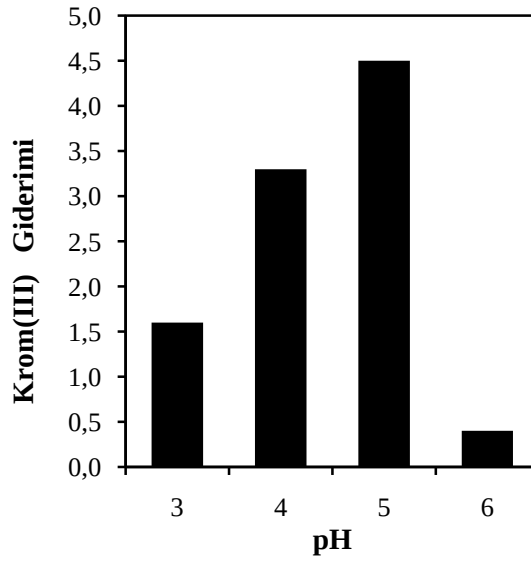
ortamdaki krom biyobirikimi, krom (III)'e göre hesaplanmıştır. Şekil 5.65-66 sırası ile başlangıç pH'ının özgül üreme hızlarına ve krom (III) biyobirikimine etkisini göstermektedir. pH 3-6 arasında özgül üreme hızları $0,0285-0,138 \text{ saat}^{-1}$ aralığında, krom (III) biyobirikimi ise % 0,4 - 4,5 aralığında değişmiştir. *S. cerevisiae* ile elde edilen en yüksek krom (III) biyobirikimi, pH=5'te % 4,5'tur. Bu pH'taki özgül üreme hızı $0,133 \text{ saat}^{-1}$ 'dir.



Şekil 5.64. 50 mg/L krom iyonu içeren ortamda *S. cerevisiae* üremesine pH etkisi
($T=30^{\circ}\text{C}$, $S_0=10 \text{ g/L}$, $C_{0,\text{krom (III)}}=50 \text{ mg/L}$)



Şekil 5.65. *S. cerevisiae* ile özgül üreme hızına pH'ın etkisi
($T=30^{\circ}\text{C}$, $S_0=10\text{ g/L}$, $C_{0,\text{krom (III)}}=50\text{ mg/L}$)

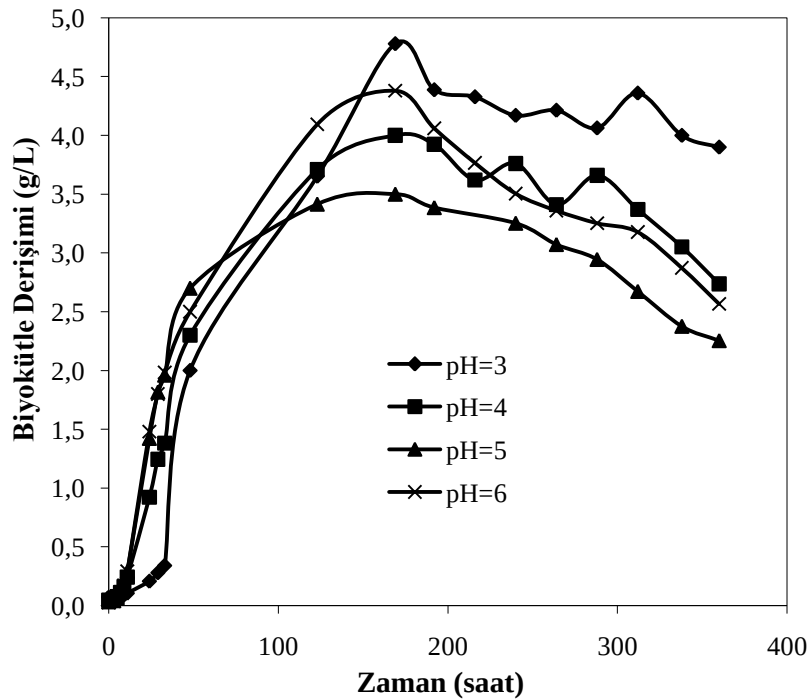


Şekil 5.66. *S. cerevisiae* ile krom(III) giderimine pH'ın etkisi
($T=30^{\circ}\text{C}$, $S_0=10\text{ g/L}$, $C_{0,\text{krom (III)}}=50\text{ mg/L}$)

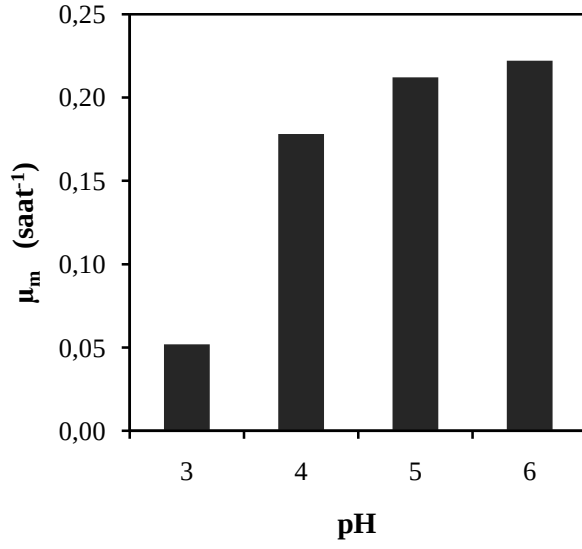
5.4.2. *Candida tropicalis* ile krom iyonu giderimine pH etkisi

Candida tropicalis mayası ile krom giderimine pH etkisinin incelendiği bu bölümde, ortamda başlangıç krom (VI) derişimi 50 mg/L ve başlangıç indirgen şeker derişimi 10 g/L'dir. *C. tropicalis* ile krom giderimine pH etkisinin incelendiği deneylerde,

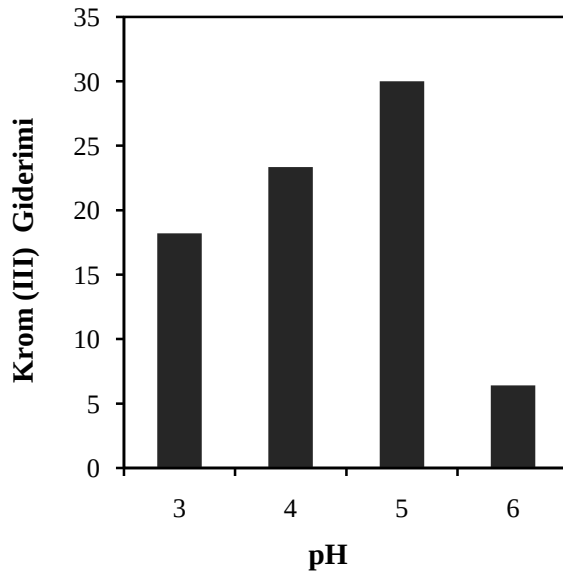
krom (VI) kaynağı olarak $K_2Cr_2O_7$ kullanılmıştır. Deneylerde başlangıç pH'ı 3-6 arasında değiştirilmiş olup her bir farklı başlangıç pH'ında *Candida tropicalis* mayasına ait üreme eğrileri Şekil 5.67'de olduğu gibidir. Deneyler sırasında alınan örneklerde toplam krom ve krom (VI) derişimleri belirlenmiştir. Deneylerin 72. saatinde ortamdaki krom (VI)'nın tamamı krom (III)'e indirgenmiştir. *S. cerevisiae* ile krom gideriminde gözlemlendiği gibi, ortamdaki krom (VI)'nın krom (III)'e indirgenmesinde, melaslı besin ortamı ve *Candida tropicalis* mayası önemli rol oynamaktadır [Muter ve ark., 2001; Juvera-Espinosa ve ark., 2006]. Bu nedenle krom giderim %'si krom (III)'e göre hesaplanmıştır. Başlangıç pH'ının özgül üreme hızları ve % krom (III) giderimine etkisi Şekil 5.68 ve 5.69'deki gibidir. pH 3-6 arasında 0,052 - 0,222 saat⁻¹ özgül üreme hızları elde edilmiştir. Benzer şekilde % 6,4-30 arasında giderim elde edilmiştir. Bu koşullarda en yüksek krom (III) giderimi, pH=5'te % 30 olarak elde edilmiştir. Bu pH'ta elde edilen özgül üreme hızı ise 0,212 saat⁻¹ 'dir.



Şekil 5.67. 50 mg/L krom iyonu içeren ortamda *Candida tropicalis* üremesine pH etkisi (T=30°C, So= 10 g/L, C_{o,krom (III)} = 50 mg/L)



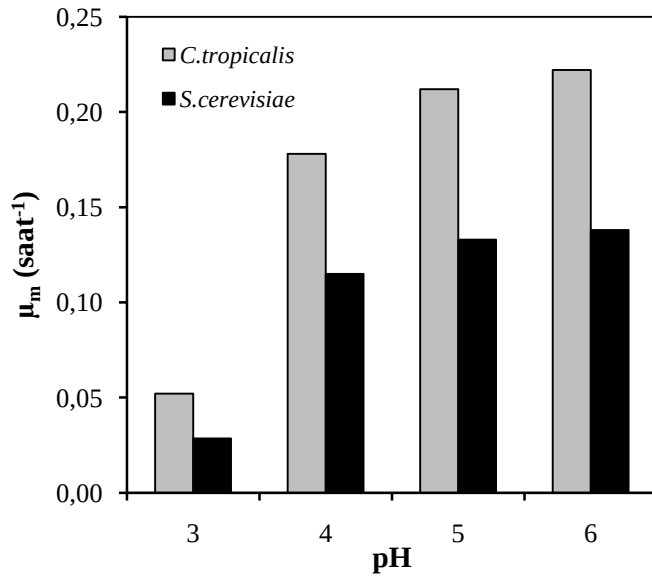
Şekil 5.68. *C. tropicalis* ile krom iyonu biyobirikiminde, pH'ın özgül üreme hızına etkisi ($T=30^\circ\text{C}$, $S_o=10\text{ g/L}$, $C_{o,\text{krom (III)}}=50\text{ mg/L}$)



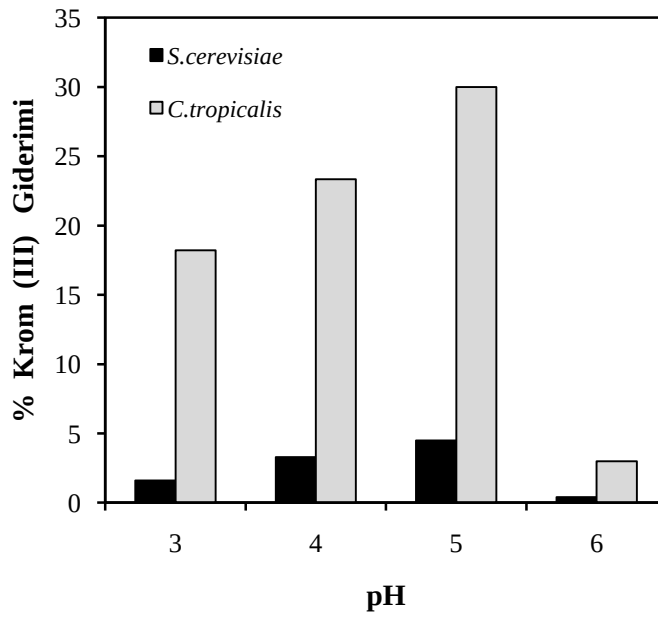
Şekil 5.69. *C. tropicalis* ile krom biyobirikiminde, pH'ın krom (III) giderimine etkisi ($T=30^\circ\text{C}$, $S_o=10\text{ g/L}$, $C_{o,\text{krom (III)}}=50\text{ mg/L}$)

5.4.3. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayalarının krom biyobirikimlerinin karşılaştırılması

S. cerevisiae ve *C. tropicalis* mayaları ile krom biyobirikimi sadece pH etkisi açısından karşılaştırılmıştır. Krom biyobirikimi çalışmalarında, ortamdaki melaslı besin ortamının ve mayaların etkisiyle ortamdaki krom (VI)'nın tamamı krom (III)'e indirgenmiştir. Krom (VI)'nın mikroorganizma hücreleri tarafından krom (III)'e indirgenmesinin, krom (VI)'nın mutajenik ve zehirli olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir [Juvera-Espinosa ve ark., 2006; Ksheminska ve ark., 2008]. Deneysel çalışmada, en yüksek krom biyobirikimi pH=5'te gerçekleştirilmiştir. Literatürde yapılan çalışmalarda (Çizelge 5.8) genellikle pH 4-6 arasında çalışılmıştır. Diğer yandan pH 6 ve daha yüksek olduğunda, mayaların biyobirikimini olumsuz yönde etkileyen ve biyolojik olarak inert olan $Cr-OH^-$ (kromun polimerleşmesi) oluşmaktadır [Zetic ve ark., 2001]. pH=5'te *S. cerevisiae* mayasının özgül üreme hızı $0,133 \text{ saat}^{-1}$ iken *C. tropicalis* mayasına ait özgül üreme hızı $0,212 \text{ saat}^{-1}$ 'dir (Şekil 5.70). Diğer yandan, pH=5'te *Candida tropicalis* ile % 30 ($q=5,06 \text{ mg krom(III)/g biyokütle}$), *S. cerevisiae* mayasıyla % 4,5 ($q=0,517 \text{ mg krom (III)/g biyokütle}$) giderim elde edilmiştir (Şekil 5.71). Sonuçlar gösteriyor ki, krom biyobirikimi çalışmalarında *C. tropicalis* mayası *S. cerevisiae* mayasına göre daha iyi sonuçlar vermektedir. Yapılan çalışmalarda mikroorganizmaların krom (III) tutma kapasiteleri ve krom giderim %'leri oldukça farklılık göstermektedir. Krom'un değeri (3, 6), kimyasal yapısı ($K_2Cr_2O_7$, $Cr_2(SO_4)_3 \cdot 16H_2O$, $CrCl_3 \cdot 6H_2O$ vs.), krom derişimi, biyobirikim deney koşulları, üreme ortamının bileşimi ve derişimi, enerji kaynağı ve sülfat, fosfat gibi iyonlar maya hücrelerinin krom biyobirikimlerini etkilemektedir [Ksheminska ve ark., 2008].



Şekil 5.70. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları ile krom iyonu biyobirikiminde özgül üreme hızına pH etkisi ($S_0=10$ g/L, $C_{0,krom}=50$ mg/L)



Şekil 5.71. *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mayaları ile krom (III) biyobirikimine pH etkisi ($S_0=10$ g/L, $C_{0,krom}=50$ mg/L)

Çizelge 5.8. Krom iyonlarının mayalarla giderimi ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar

Maya	Krom	Co	q (krom tutma kapasitesi)	% BM Giderimi	Deney koşulları	Kaynak
<i>Candida intermedia</i>	Cr(III) (KCr(SO ₄) ₂)	0,1 mM	8,68 µmol/g biyo. (Kesikli sistem) 1,92 µmol/g biyo. (Kesikli/yarı kesikli sis.)	13,5 60		Batik ve Raspor, 2000
<i>Candida sp.</i>	Cr(VI)	2,6 mM		100	30°C 54 rpm pH=6	Juvera-Espinosa ve ark., 2006
<i>Pichia guilliermondii</i>	Cr(III) Cr(VI)	8 mM 4 mM		29,3 52,3		Kaszycki ve ark., 2004
<i>Pichia guilliermondii</i>	Cr(III) (Cr ₂ (SO ₄) ₂ 16H ₂ O) Cr(VI) (K ₂ Cr ₂ O ₇)	5 mM 0,5 mM	4 mg Cr / g biyokütle 0,9 mg Cr / g biyokütle		30°C 200 rpm pH=5,5	Ksheminska ve ark., 2003
<i>Candida curvata</i> <i>Kluyveromyces lactis</i>	Cr(III) (Cr ₂ (SO ₄) ₂ 16H ₂ O) Cr(VI) (K ₂ Cr ₂ O ₇) Cr(III) (Cr ₂ (SO ₄) ₂ 16H ₂ O) Cr(VI) (K ₂ Cr ₂ O ₇)	4 mM 0,5 mM 4 mM 0,3 mM	11,1 mg Cr / g biyokütle 1,04 mg Cr / g biyokütle 3,96 mg Cr / g biyokütle 3,3 mg Cr / g biyokütle		30°C 200 rpm pH=5	Ksheminska ve ark., 2005
<i>Candida utilis</i>	Cr (VI)	200 mg/L 300 mg/L	7,3 mg Cr / g biyokütle 7,2 mg Cr / g biyokütle		30°C 180 rpm pH=5	Muter ve ark., 2001
<i>Candida intermedia</i>	Cr(III) (CrCl ₃ 6H ₂ O) Cr(III) KCr(C ₂ O ₄) ₂ 3H ₂ O Cr(VI) (Na ₂ Cr ₂ O ₇ 2H ₂ O) Cr(VI) (K ₂ Cr ₂ O ₇)	1 mM 1 mM 20 µM 20 µM	491,8 µg Cr / g biyo. 4,4 µg Cr / g biyokütle 8,4 µg Cr / g biyokütle 21 µg Cr / g biyokütle	79 47 70 71	28°C 200 rpm pH=4	Pas ve ark., 2004

Çizelge 5.8. (Devam) Krom iyonlarının mayalarla giderimi ile ilgili literatürde yapılan çalışmalar

Maya	Krom	Co	q (krom tutma kapasitesi)	% BM Giderimi	Deney koşulları	Kaynak
<i>Pichia stipitis</i>	Cr(III) ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	100 mg/L	9,1 mg Cr / g biyokütle	58	30°C 350 rpm pH=4,5	Yılmaz ve Saraçoğlu, 2008
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cr(III) ($\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)	200 mg/L	45 µg Cr / g biyokütle		30°C pH=4,5	Zetic ve ark., 2001
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cr(VI) ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)	65,4 mg/L	0,517 mg toplam Cr / g biyokütle		30°C 140 rpm pH=5	Bu çalışma
<i>Candida tropicalis</i>	Cr(VI) ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)	59,1 mg/L	5,06 mg toplam Cr / g biyokütle		30°C 140 rpm pH=5	Bu çalışma

5.5. *Candida tropicalis* ile Krom Biyobirikimine İndirgen Şeker ve Krom Derişiminin Etkisi

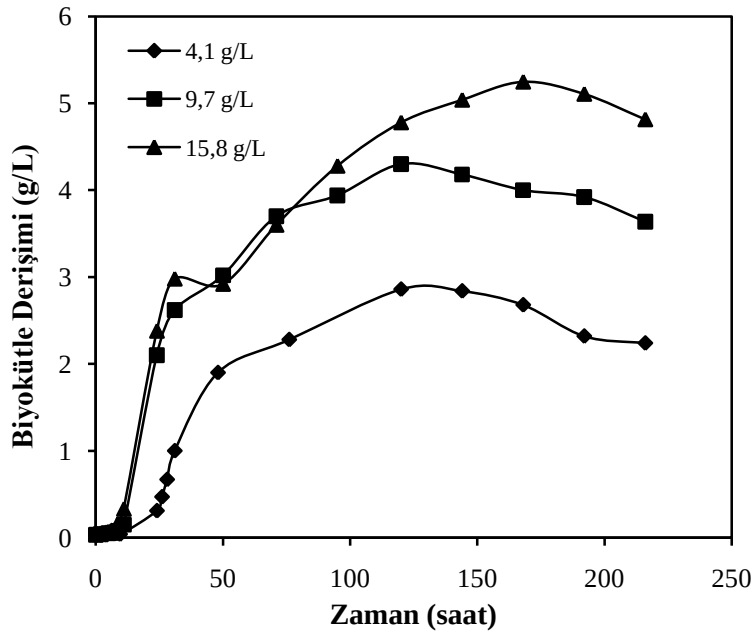
Çalışmanın bu bölümünde, melaslı besin ortamında, *Candida tropicalis* mayasıyla krom biyobirikimi incelenmiştir. Bu amaçla melastaki indirgen şeker derişimi yaklaşık 5, 10 ve 15 g/L olarak seçilmiş ve her bir başlangıç indirgen şeker derişiminde krom (III) derişimi 25, 50, 75 ve 100 mg/L olarak değiştirilmiştir. Çalışmanın bu aşamasında krom (III) kaynağı olarak $\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 16\text{H}_2\text{O}$ kullanılmıştır. Her bir deney için, özgül üreme hızı (μ , saat^{-1}), erişilen en yüksek maya derişimi (X_m , g/L), krom(III) giderim yüzdesi ve krom biyobirikim kapasitesi (q, mg Cr / g biyokütle) hesaplanarak Çizelge 5.9’da özetlenmiştir.

Çizelge 5.9. Her bir farklı başlangıç indirgen şeker derişiminde ve farklı başlangıç boyarmadde derişimlerinde *Candida tropicalis*’in özgül üreme hızı, % boyarmadde giderimi ve q değerleri

So (g/L)	C _{o,Cr(III)} (mg/L)	μ (saat^{-1})	X _m (g/L)	% Cr(III) Giderimi	q (mg Cr(III)/ g biyokütle)
4,8	0,0	0,202	2,74		
10,6	0,0	0,211	4,44		
16,9	0,0	0,224	5,20		
4,7	25,4	0,187	2,80	22,9	2,1
10,6	25,0	0,197	4,44	23,0	1,3
16,5	25,0	0,210	5,00	16,5	0,8
4,5	51,7	0,181	2,94	19,3	3,4
10,3	50,0	0,190	4,36	12,2	1,4
16,6	52,0	0,209	5,15	10,0	1,0
4,1	75,7	0,160	2,66	6,4	1,8
9,9	75,0	0,182	4,00	7,3	1,4
16,0	78,0	0,188	5,46	10,1	1,4
4,1	96,1	0,150	2,86	5,6	1,9
9,7	95,0	0,177	4,30	4,3	1,0
15,8	100,6	0,181	5,25	3,9	0,7

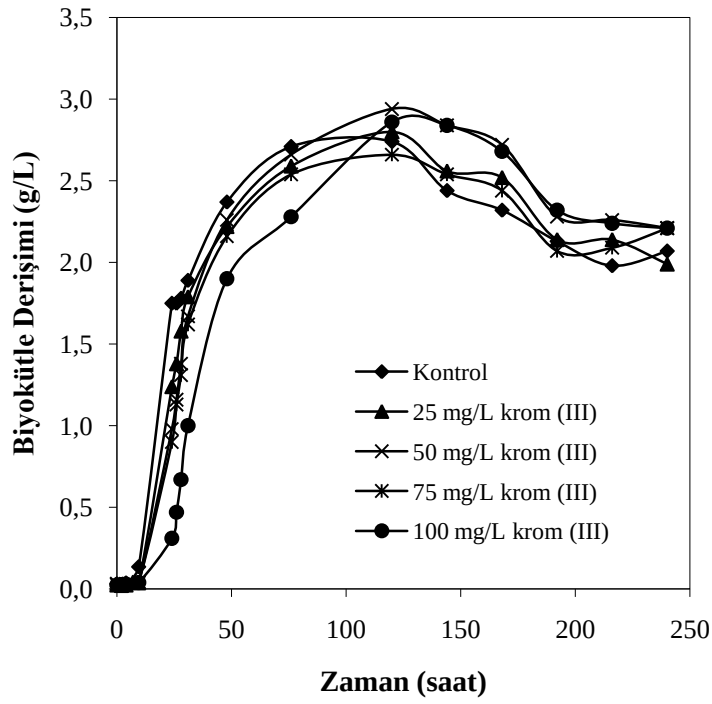
5.5.1 Başlangıç krom ve indirgen şeker derişimlerinin *C. tropicalis* üremesi ve üreme hızına etkisi

İndirgen şeker derişimi ve krom (III) derişiminin krom(III) biyobirikimine etkisinin incelendiğı deneylerde, krom (III) biyobirikimine paralel olarak, her bir indirgen şeker derişiminde, krom (III) içermeyen ortamlarda kontrol deneyleri yapılmıştır. Hem bu kontrol deneylerinde hem de ortamda krom (III) içeren deneylerde indirgen şeker derişimi arttıkça artan şeker miktarına bağılı olarak *C. tropicalis* mayasının üreme derişiminde belirgin bir artış olmaktadır (Şekil 5.72).

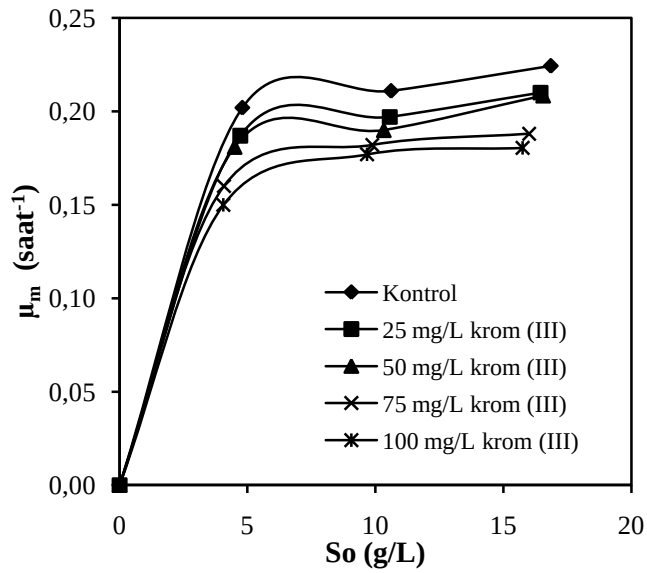


Şekil 5.72. 100 mg/L krom içeren ortamda başlangıç indirgen şeker derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi (T=30°C, pH=5, 140 rpm)

Diğer yandan Şekil 5.73 5 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, farklı başlangıç krom (III) derişimlerinin *C. tropicalis* mayasına ait üreme eğrilerini göstermektedir. Ortamdaki başlangıç krom (III) derişimi arttıkça, çalışılan krom (III) derişimi aralığında, *C. tropicalis*'in üreme derişimleri açısından krom(III) inhibisyonu gözlenmemiştir.



Şekil 5.73. Krom derişiminin *C. tropicalis* üremesine etkisi ($T=30^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=5$, 140 rpm, $S_0=5$ g/L)



Şekil 5.74. Farklı başlangıç krom derişimlerinde özgül üreme hızı ve indirgen şeker derişimi arasındaki ilişki

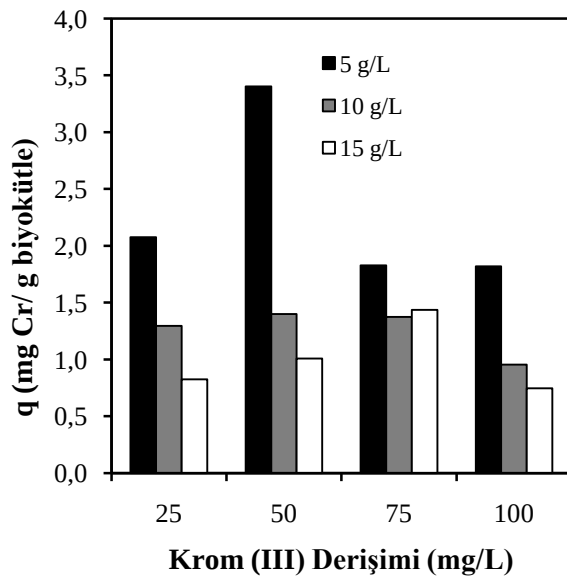
Kontrol deneyi ve farklı başlangıç krom (III) derişimlerinde, başlangıç indirgen şeker derişimi ile mayanın özgül üreme hızı arasındaki ilişki Şekil 5.74’de verilmektedir. Şekilde en üstteki eğri, farklı başlangıç indirgen şeker derişimleri için, krom içermeyen kontrol ortamına ait olup yukarıdan aşağıya doğru krom (III) derişimi artmaktadır. Bu durum *C. tropicalis*’in krom (III) tarafından inhibe edildiğini göstermektedir. Örneğin yaklaşık 10 g/L indirgen şeker derişiminde, kontrol deneyi için özgül üreme hızı 0,211 saat⁻¹ iken, 95 mg/L krom (III) içeren ortamda 0,177 saat⁻¹ olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan her bir farklı boyarmadde derişiminde, başlangıç indirgen şeker derişiminin artışıyla özgül üreme hızı artış göstermiştir. En yüksek özgül üreme hızı, 16,9 g/L başlangıç indirgen şeker içeren ve boyarmadde içermeyen kontrol ortamında 0,224 saat⁻¹ olarak elde edilmiştir.

Deneysel çalışmada, ortamdaki indirgen şekerin büyük bir kısmı (yaklaşık % 95), biyobirikim deneylerinin ilk 24 saatinde tüketilmiştir. 10-15 g/L başlangıç indirgen şeker derişimlerinde, şeker tüketimi ilk 24 saatte gerçekleşip, başlangıç krom (III) derişimlerinden etkilenmezken, 5 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde artan başlangıç krom (III) derişimine bağlı olarak, ortamdaki şekerin tüketilmesi için geçen süre uzamıştır. Muter ve ark., (2001) ile Juvera-Espinosa ve ark., (2006) çalışmalarında, krom (VI) derişimi arttıkça, mayanın glikoz tüketiminin azaldığını ve glikozun tamamen tüketilmesi için daha çok süreye ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir.

5.5.2 Başlangıç krom (III) derişiminin ve indirgen şeker derişiminin biyobirikime birlikte etkisi

Herbir farklı başlangıç krom (III) ve başlangıç indirgen şeker derişiminin, *Candida tropicalis* mayasına ait krom (III) biyobirikim kapasitesine (q) birlikte etkisi Şekil 5.75’teki gibidir. Biyobirikim kapasitesinin (q), her bir başlangıç indirgen şeker derişimi için, başlangıç krom (III) derişimi ile değişiminde belli bir eğilim saptanamamıştır. 5 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, biyobirikim kapasitesi q, 50 mg/L krom (III) derişimine kadar artmış, krom (III) derişimi 50 mg/L’in üzerine çıktığında ise düşmeye başlamıştır. Diğer yandan 10 ve 15 g/L başlangıç

indirgen şeker derişimleri için, krom (III) biyobirikim kapasitesi 75 mg/L'e kadar artmış, 100 mg/L krom (III) derişiminde düşmüştür. Benzer şekilde, *C. tropicalis* mayasının boyarmadde biyobirikim kapasitesi (q), indirgen şeker derişimine de bağımlılık göstermektedir. Deney sonuçları, krom (III) biyobirikim kapasitesinin, indirgen şeker derişimi ile ters orantılı olarak değiştiğini göstermiştir. Benzer eğilimi Aksu ve Dönmez (2005) *C. tropicalis* ile boyarmadde biyobirikiminde gözlemlemişlerdir. Ortamdaki indirgen şeker derişiminin artması ile melas ortamındaki şeker dışı maddelerin miktarının arttığı ve bu maddelerin *C. tropicalis*'in üremesini etkilemediği ancak krom biyobirikimini olumsuz yönde etkilediği düşünülmektedir. Çalışılan aralıklarda en yüksek krom (III) biyobirikim kapasitesi, 3,4 mg Cr / g biyokütle olarak 4,5 g/L indirgen şeker derişimi ve 51,7 mg/L krom (III) derişiminde elde edilmiştir. Bu koşullarda % krom (III) giderimi 19,3'tür.



Şekil 5.75. Farklı başlangıç indirgen şeker ve başlangıç krom (III) derişiminin *C. tropicalis* mayasının krom (III) biyobirikim kapasitesine etkisi

Farklı başlangıç indirgen şeker ve başlangıç krom derişiminin, *C. tropicalis* mayasıyla krom (III) biyobirikimine birlikte etkisi incelenmiştir. Krom (III) biyobirikimi hem indirgen şeker derişimiyle hem de krom (III) derişimiyle ters orantılı olarak değişmektedir. Yapılan deneylerde, en yüksek krom (III) giderimi, 25

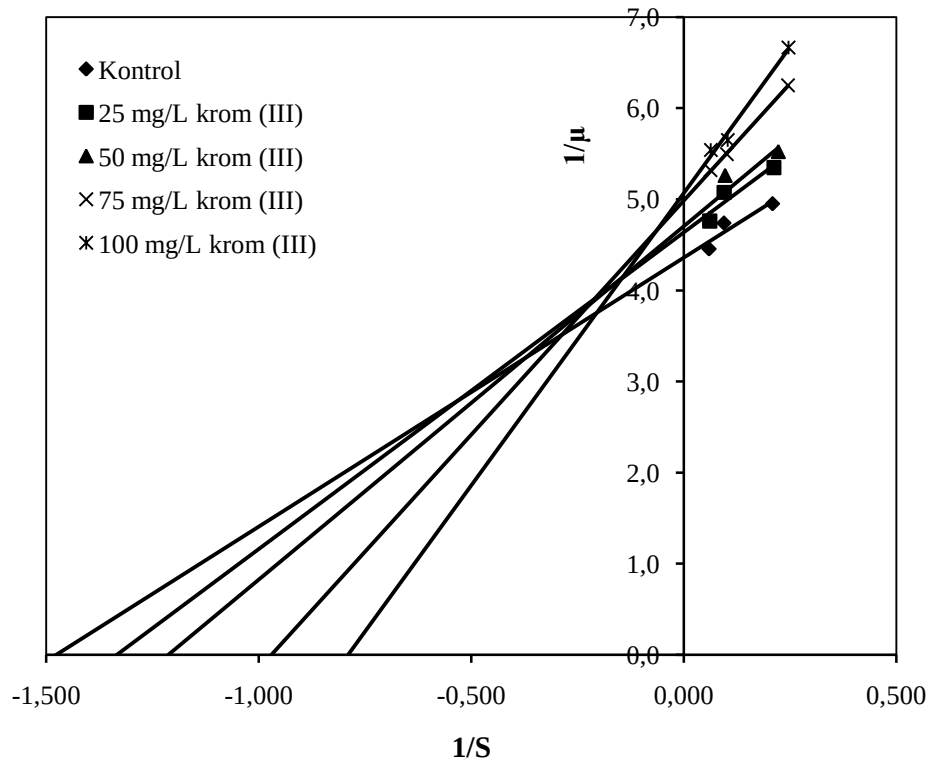
mg/L başlangıç krom (III) derişimi ve 10,6 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde % 23 olarak elde edilmiştir. Bu koşullardaki özgül üreme hızı $0,197 \text{ saat}^{-1}$, biyobirikim kapasitesi (q) 1,3 mg krom (III)/g biyokütle olarak elde edilmiştir. Ksheminska ve ark. (2003), krom (III) için 1,2-4 mg krom (III)/g biyokütle, krom (VI) için 0,4-0,9 mg krom (VI)/g biyokütle biyobirikim kapasitesi, Batic ve Raspor (2000) 8,68 μmol krom (III)/g biyokütle, Zetic ve ark. (2001) 30-45 μg krom (III)/g biyokütle, Yilmazer ve Saraçoğlu (2008) 0,58-9,10 mg krom (III)/g biyokütle, Kaszycki ve ark. (2004) 4-13 mg krom (III)/g biyokütle ve 2-6,7 mg krom (VI)/g biyokütle, Pas ve ark.(2004) 4,4-491,8 μg krom (III)/g biyokütle ve 18,4-21 μg krom (VI)/g biyokütle, Muter ve ark. (2001) 7,3 mg krom (VI)/g biyokütle krom biyobirikim kapasitesi elde etmişlerdir. Bu çalışmada elde edilen krom biyobirikim kapasiteleri, literatürde yapılmış olan çalışmalarda elde edilen biyobirikim kapasiteleri arasında yer almaktadır.

5.5.3 *C. tropicalis* mayası ile krom biyobirikiminin incelendiği deneylerde üreme kinetiği

Candida tropicalis mayası ile krom biyobirikimi çalışmalarının bu aşamasında, özgül üreme hızı ile substrat arasındaki ilişkiyi belirleyebilmek için daha önceki bölümlerde olduğu gibi Monod denklemi kullanılmıştır. Şekil 5.74’de *C. tropicalis* mayasının özgül üreme hızı ile indirgen şeker derişimi arasındaki ilişkiye göre, substrat inhibisyonu gözlenmemekte, ancak krom (III) inhibisyonu söz konusu olmaktadır. Monod eşitliğinin doğrusallaştırılmış formundan μ_m sabiti ($0,229 \text{ saat}^{-1}$) ve Monod doyumluk sabiti ($K_s=0,676 \text{ g/L}$) hesaplanmıştır. Juvera-Espinosa ve arkadaşları (2006) yaptıkları çalışmada, *Candida sp.* için en yüksek özgül üreme hızı (μ_m), krom (VI) içermeyen ve içeren ortam için sırasıyla 0,057 ve 0,0566 saat^{-1} ’dir.

C. tropicalis mayasının krom biyobirikimi için, kirletici olarak krom (III)’ün *C. tropicalis*’in özgül üreme hızı üzerine gösterdiği inhibisyon etkisi yarışmalı, yarışmasız ve kısmi yarışmalı inhibisyon şeklinde incelenmiştir. Şekil 5.76’te en alttaki doğru kontrol ortamına ait olup, ok yönündeki her bir doğru, artan

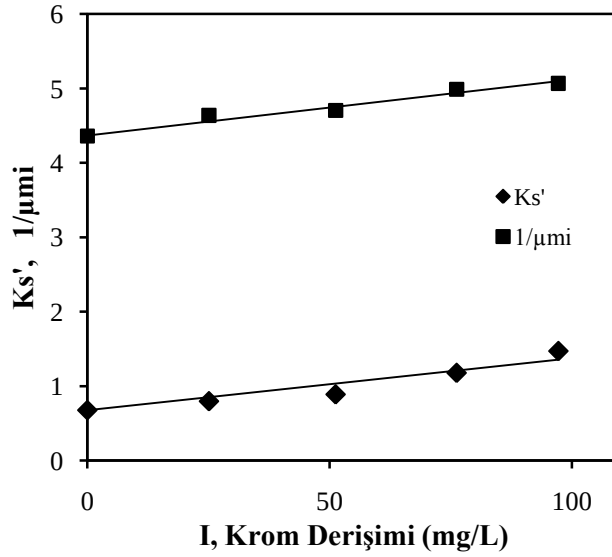
derişimlerdeki krom (III)'u göstermektedir. Doğrular birbirini, ara bir noktada kestiğinden, krom (III)'den kaynaklanan inhibisyonun, lineer karma tip inhibisyon (mixed type inhibition) olduğuna karar verilmiştir. Her bir farklı başlangıç krom (III) derişimi için, $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiğinin y eksenini kesim noktasından μ_{mi} ($\mu_m / (1 + I/\alpha K_I)$), doğrunun eğiminden $(K_s(1 + I/K_I))$ değerleri hesaplanmıştır.



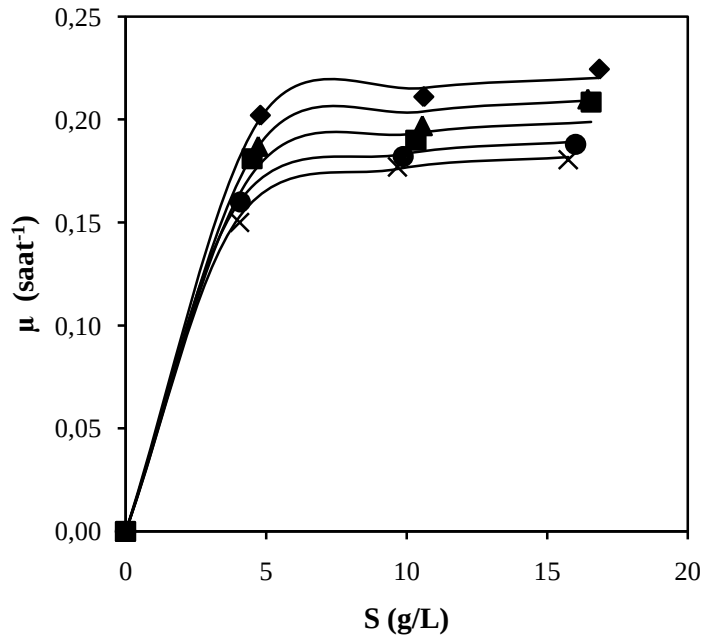
Şekil 5.76. *C. tropicalis* ile krom (III) gideriminde kinetik sabitlerin hesaplanmasında kullanılan $1/S$ 'e karşı $1/\mu$ grafiği

Krom (III) derişimine (inhibitör, I) karşı grafiği çizilerek, (Şekil 5.77) grafiğin eğiminden K_I (İnhibisyon sabiti, mg/L) 96,6 mg/L bulunmuştur. *C. tropicalis* mayası ile krom (III)'un neden olduğu inhibisyonun sabiti (96,6 mg/L), boyarmaddenin *C. tropicalis*'e neden olduğu inhibisyona oranla (546 mg/L) oldukça düşük çıkmıştır. Krom (III) inhibisyonu, boyarmadde inhibisyonuna göre mayalar açısından daha etkin gibi görünmektedir. Krom (III) derişimine (inhibitör, I) karşı $1/\mu_{mi}$ grafiği çizilerek (Şekil 5.77) bu grafiğin eğiminden α faktörü 6,03 olarak hesaplanmıştır.

Juvera-Espinosa ve arkadaşları (2006), *Candida sp.* için inhibisyon sabitini 5,8 mM (301,6 mg/L) olarak bulmuşlardır.

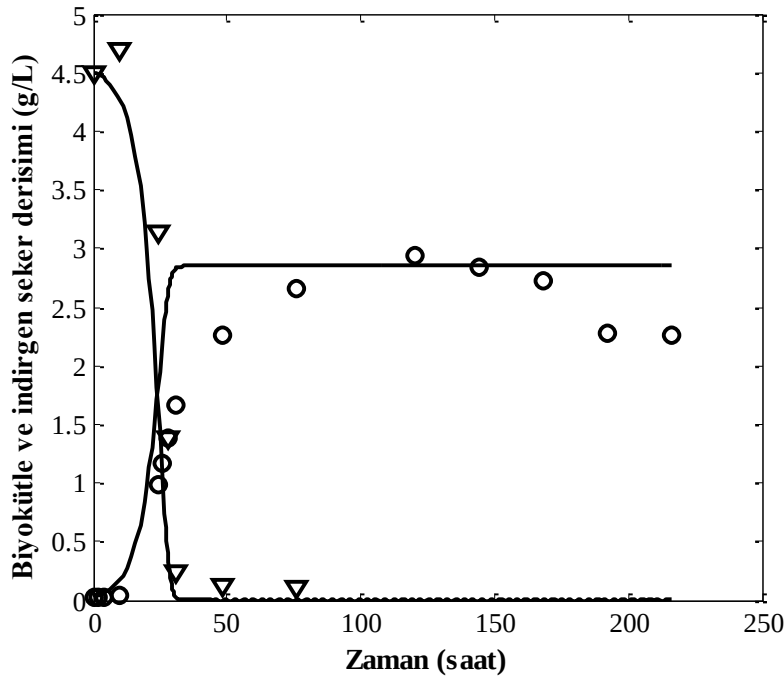


Şekil 5.77 Krom (III) derişimine karşı (I) Ks' ve $1/\mu_{mi}$ grafiğı

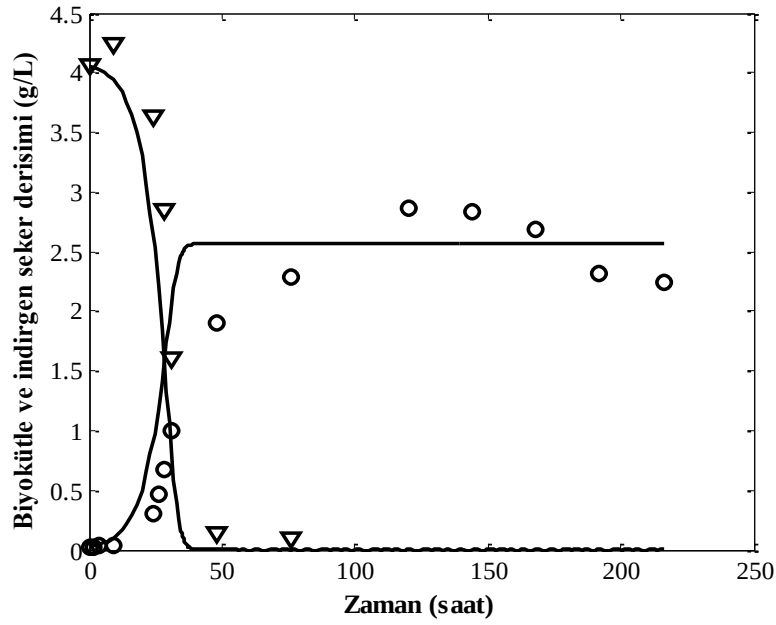


Şekil 5.78 *C. tropicalis* için farklı başlangıç krom derişimlerinde kinetik model ve deneysel özgül üreme hızlarının karşılaştırılması (— kinetik model, ◆ kontrol, ▲ 25 mg/L Cr, ■ 50 mg/L Cr, ● 75 mg/L Cr, × 400 mg/L Cr)

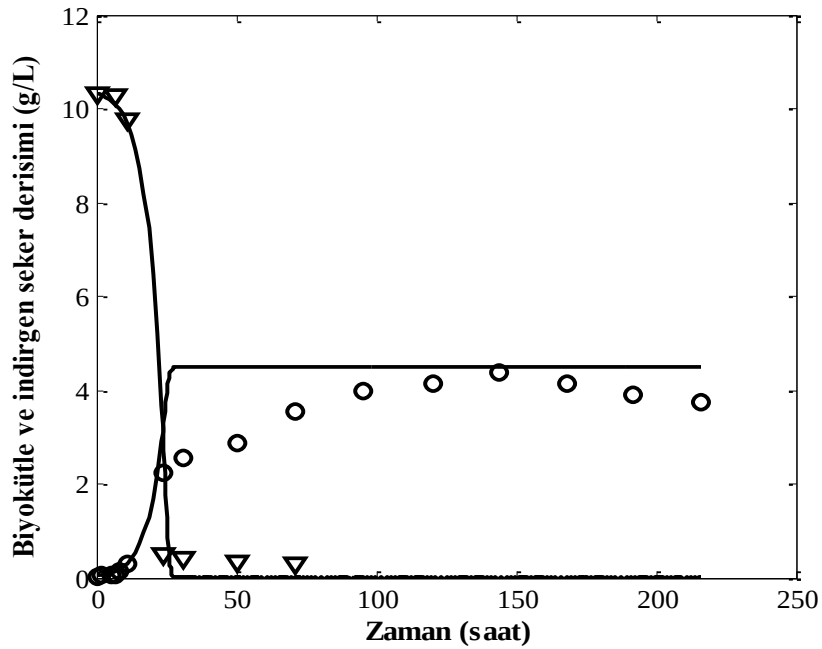
Elde edilen kinetik sabitler Monod modelinde yerine konularak μ_{model} hesaplanmış ve deneysel μ değerleri ile grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.78). Deneysel özgül üreme hızları ile kinetik modelden elde edilen özgül üreme hızları oldukça uyum içindedir. Diğer yandan, substrat tüketim hızı (Eş. 2.11) ile biyokütle üretim hızı (Eş. 2.6) için yazılan diferansiyel denklemler MATLAB’da yazılan bir programda çözdürülmüştür. Programda, farklı başlangıç indirgen şeker ve boyarmade derişimleri için, kinetik model ile elde edilen biyokütle ve substrat derişimi, deneysel biyokütle ve substrat derişimi sonuçları ile karşılaştırılmıştır. MATLAB’dan elde edilen şekiller Şekil 5.79-5.84’de verilmiştir.



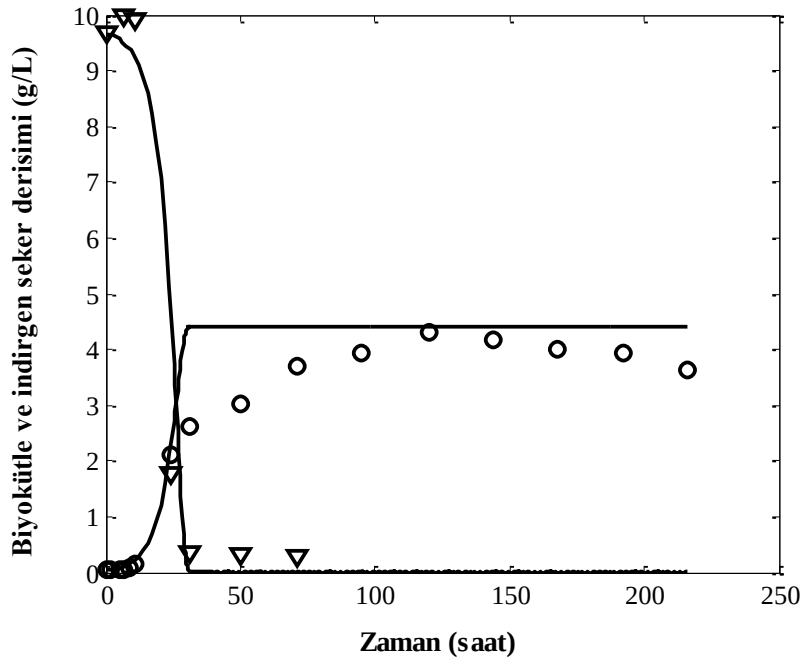
Şekil 5.79. *C. tropicalis* ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
 – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (4,5 g/L indirgen şeker, 51,7 mg/L Cr)



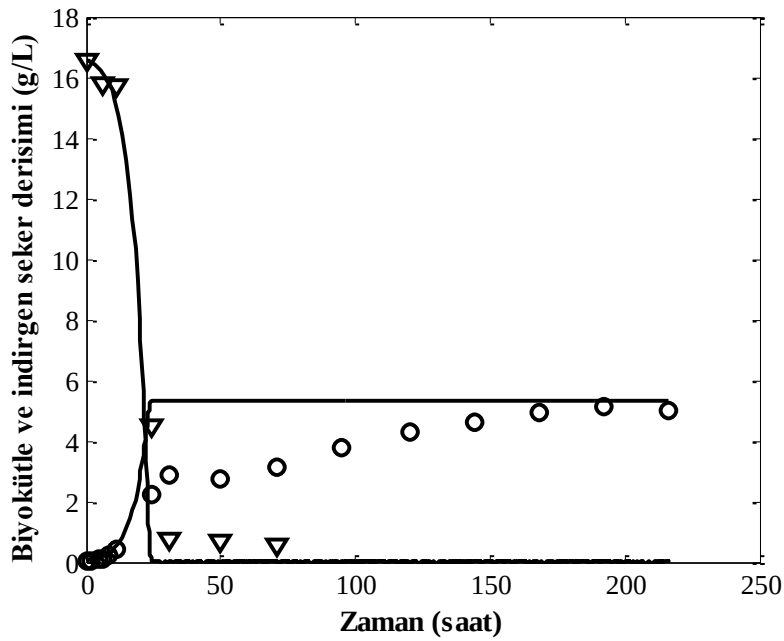
Şekil 5.80. *C. tropicalis* ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
 – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (4,06 g/L indirgen şeker, 96,1 mg/L Cr)



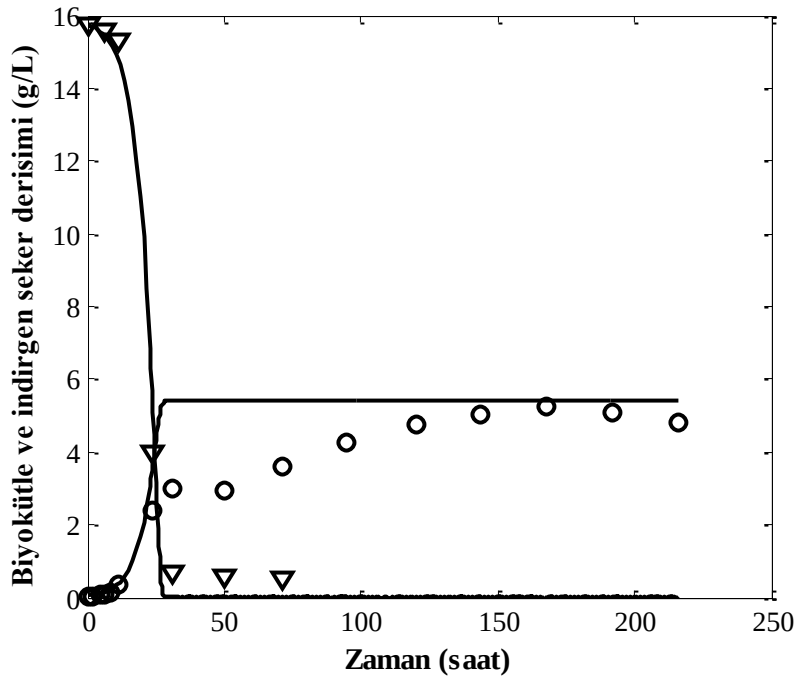
Şekil 5.81. *C. tropicalis* ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
 – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (10,33 g/L indirgen şeker, 50 mg/L Cr)



Şekil 5.82. *C. tropicalis* ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
 – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (9,7 g/L indirgen şeker, 95 mg/L Cr)



Şekil 5.83. *C. tropicalis* ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
 – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (16,6 g/L indirgen şeker, 50 mg/L Cr)

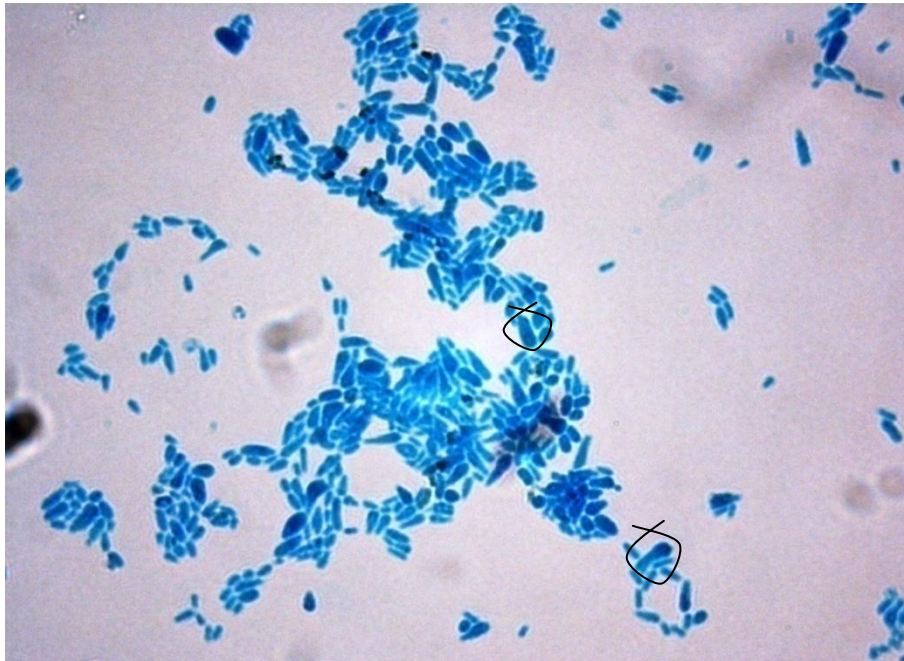


Şekil 5.84. *C. tropicalis* ile krom biyobirikimi için kinetik ve deney sonuçları
 – kinetik model, ▽:deneysel indirgen şeker derişimi, ○: deneysel biyokütle derişimi (15,75 g/L indirgen şeker, 100,6 mg/L Cr)

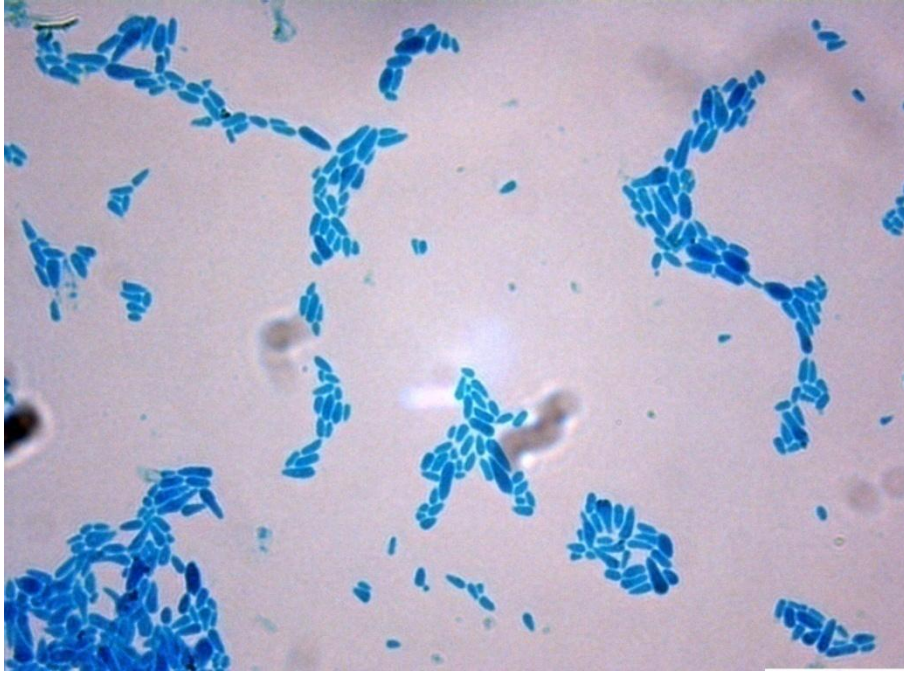
5.5.4 *C. tropicalis* mayası ile krom biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi

C. tropicalis maya hücrelerinin krom içeren ortamdaki davranışını belirleyebilmek için, hücrelerin ışık mikroskopunda resimleri 100 kat büyütülerek çekilmiştir. 25 mg/L krom (III) içeren ortamdaki maya hücrelerinin, kontrol ortamındaki hücelere oranla boyutlarının biraz daha küçük olduğu, ancak hücrelerin büyük bir kısmının düzgün olan şeklinin korunduğu görülmektedir. 25 mg/L krom (III) içeren ortamda çok az hücrenin şeklinde bozulma olmuştur. Şekil 5.85’de hücreler büyük koloniler halinde bulunmakta ve kolonilerdeki hücreler birbirleri ile daha sıkı dizilmiş durumdadırlar. 100 mg/L krom (III) içeren ortamdaki hücrelerin, (Şekil 5.86) 25 mg/L derişiminde krom (III) içeren ortamdaki hücelere kıyaslandığında, aralarında pek bir fark olmadığı görülmektedir. Diğer yandan 25 ve 100 mg/L derişiminde krom içeren ortamlardaki hücrelerin, krom (III) tutmaları hakkında pek bir şey söylemek mümkün olmamaktadır. Muter ve arkadaşları (2001), *Candida utilis*’in kromlu ve

kromsuz ortamda elektron mikroskopunda resimlerini çekmişlerdir. 50 mg/L krom (VI) içeren ortamda hücrelerin kromdan hiç etkilenmedikleri, ancak 100-300 mg/L krom (VI) içeren ortamda en az 3 tip hücre olduğunu görmüşlerdir. Hücrelerin bir kısmının 3-4 μm uzunlukta ve normal şekilde, bir kısmının yüzeyi bozulmuş ve normal boyutları zarar görmüş ve bir kısmının da uzunlukları 10 μm 'ye kadar çıkmıştır. Ortamdaki krom derişimi daha da artırıldığında ise hücre üremesi durmuştur. Ksheminska ve arkadaşları (2005) 4 mM (208 mg/L) krom (III) ve 1 mM (52 mg/L) krom (VI) içeren ortamda *Pichia guilliermondii*'nin elektron mikroskopunda çekilen resimlerini incelemişlerdir. Krom (III) ve (VI) içeren ortamda hücresel organeller, krom içermeyen kontrol ortamına göre çok daha fazla biçimlidir ve hücrede vakuolde yerleşmiş (krom olduğu düşünülen) koyu renkli bölgeler bulunmaktadır. Krom (III) içeren ortamda hücrenin şekil ve yapısında bir bozukluk olmayıp, krom (VI) içeren ortamda hücrenin şeklinde ve morfolojisinde bozulmalar olmuştur.



Şekil 5.85. 25 mg/L krom (III) içeren ortamda *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü



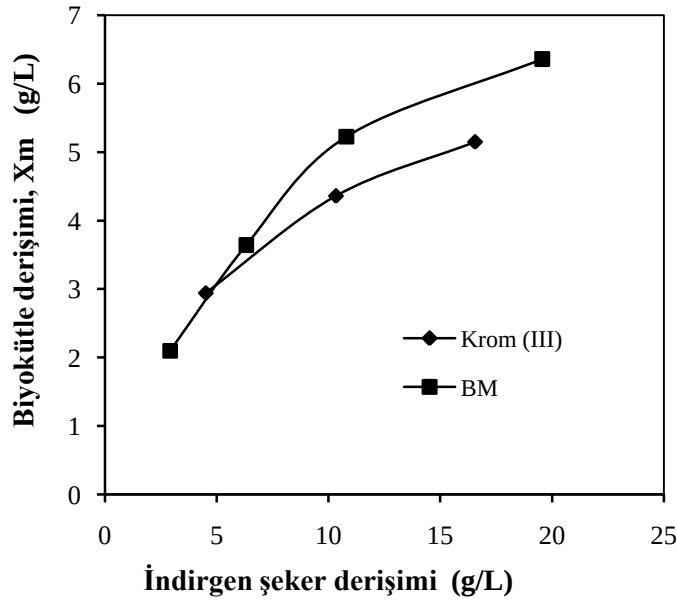
Şekil 5.86. 100 mg/L krom (III) içeren ortamda *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü

Pas ve arkadaşları (2004) *Candida intermedia* mayasının krom içeren ortamdaki fotoğraflarını elektron mikroskopunda çekmişlerdir. 1 mM (52 mg/L) krom (III) içeren ortamda hücre üremesi, hücre şekil ve boyutlarında bir değişiklik görülmezken, 10 mM (520 mg/L) krom (III) içeren ortamda, mayanın üremesi inhibe olmakta ve hücrenin morfolojik özellikleri önemli derecede değişmiştir. Ayrıca hücrenin şeklinde uzamalar görülmüştür. 1 mM (52 mg/L) krom (VI) içeren ortamda, hücre üremesi kromdan oldukça fazla etkilenmekte ve hücre morfolojisinde pek bir değişiklik olmamıştır.

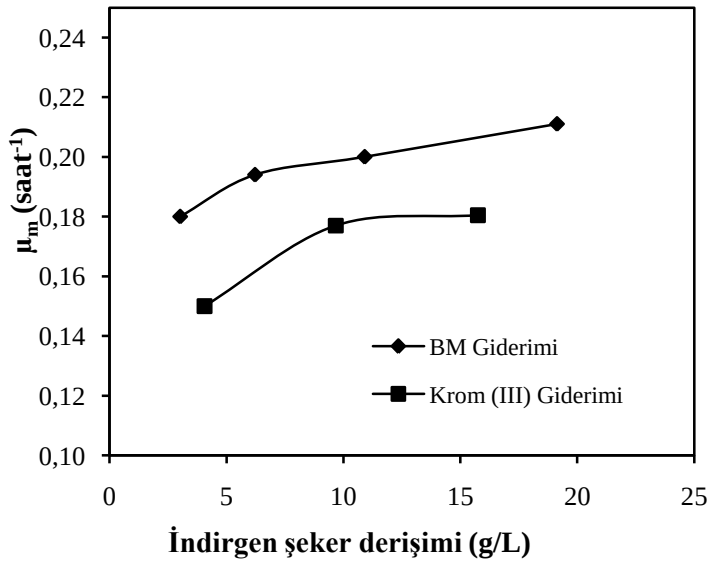
5.6. *C. tropicalis* ile Boyarmadde ve Krom (III) Biyobirikiminin Karşılaştırılması

Bölüm 5.2'de *C. tropicalis* mayasının boyarmadde biyobirikimi, Bölüm 5.5'de ise krom (III) biyobirikimi ile ilgili sonuçlar verilmiştir. Bu bölümde ise *Candida tropicalis*'in boyarmadde ve krom (III) biyobirikimlerinin karşılaştırılması

amaçlanmıştır. Şekil 5.87 *C. tropicalis*'in farklı başlangıç indirgen şeker derişimlerinde, boyarmadde ve krom biyobirikimi sırasında ulaşılan en yüksek *C. tropicalis* derişimini, Şekil 5.88 özgül üreme hızı değişimini göstermektedir.

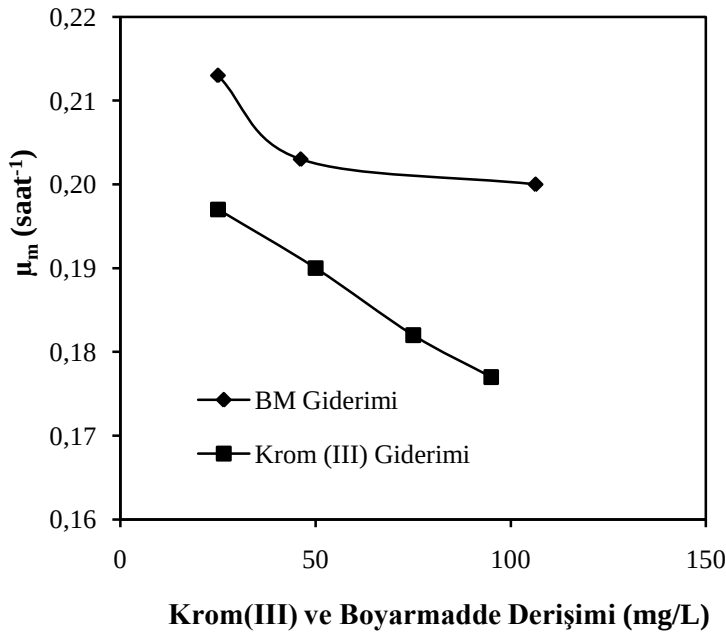


Şekil 5.87. *C. tropicalis* ile boyarmadde ve krom biyobirikiminde, indirgen şeker derişimi ile biyokütle derişimi değişimi ($C_{o,BM}=50$ mg/L, $C_{o,krom}=50$ mg/L)



Şekil 5.88. *C. tropicalis* ile boyarmadde ve krom biyobirikiminde, indirgen şeker derişimi ile özgül üreme hızı değişimi ($C_{o,BM}=100$ mg/L, $C_{o,krom}=100$ mg/L)

C. tropicalis mayası, boyarmadde içeren ortamda, üreme ve üreme hızı açısından daha iyi durumdadır. *C. tropicalis* ile boyarmadde ve krom biyobirikimleri karşılaştırıldığında (Şekil 5.89), boyarmadde biyobirikimi daha yüksek olmaktadır. Sonuç olarak boyarmaddenin *C. tropicalis* üremesi ve biyobirikime olan inhibisyon etkisi krom (III)'ün neden olduğu inhibisyona göre oldukça düşüktür.



Şekil 5.89. *C. tropicalis* ile boyarmadde ve krom(III) biyobirikiminde, krom (III) ve boyarmadde derişimi ile özgül üreme hızı değişimi ($C_{o,BM}=100$ mg/L, $C_{o,krom}=100$ mg/L)

5.7. *C. tropicalis* ile C.I. Violet 90 Boyarmaddesinin ve Krom (III)'ün Birlikte Giderimi

Bu bölümde, boyarmadde ve kromun birlikte olduğu ortamda, *C. tropicalis*'in boyarmadde ve krom (III) biyobirikimi incelenmiştir. Deneylerde ortamdaki başlangıç indirgen şeker derişimi 10 g/L, pH=5, sıcaklık 30 °C, karıştırma hızı 140 rpm'dir. Farklı başlangıç boyarmadde ve krom derişimlerinin belirlenmesi için Box Wilson deneysel tasarım yöntemi kullanılmıştır. Box Wilson deneysel tasarımı için seçilen bağımsız değişkenler C.I. Violet 90 boyarmadde derişimi (X_1) ve krom (III)

derişimi (X_2)'dir. Her bir bağımsız değişken için kodlanmış değeri (x_i) aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

Burada x_i ; i bileşeninin kodlanmış değeri, X_i ; bağımsız değişkenin gerçek değeri, X_0 ; bağımsız değişkenin merkez noktadaki gerçek değeri, ΔX ; adım aralığıdır. Box-Wilson deneysel tasarım yöntemine göre deneysel aralıklar ve bağımsız değişkenlerin seviyeleri Çizelge 5.10'daki gibidir.

Çizelge 5.10. Deneysel tasarım ve bağımsız değişkenlerin seviyeleri

Bağımsız Değişkenler		Faktor	Aralık ve Seviyeler				
		x_i	-1,414	-1	0	+1	+1,414
Boyarmadde	Derişimi	X_1	29,3	50	100	150	170,71
(mg/L)							
Krom	Derişimi	X_2	14,64	25	50	75	85,4
(mg/L)							

Burada kodlanmış değerler -1, 0 ve 1'dir. -1; düşük seviyeyi, 0 ; orta seviyeyi (merkez noktayı), +1 ; yüksek seviyeyi göstermektedir. Boyarmadde (X_1) için gerçek değerler 50-150 mg/L arasında ($\Delta X=50$ mg/L), krom (X_2) için gerçek değerler 25-75 mg/L arasında ($\Delta X=25$ mg/L) değiştirilmiştir. Box-Wilson deneysel tasarımına göre 2 faktörlü bir plan matrisi, merkez noktada 5, yıldız noktada 4 deney ile beraber toplam 13 deneyden oluşmaktadır. Box-Wilson deneysel tasarım için kodlanmış değişkenler ve bu kodlanmış değişkenlere karşılık gelen gerçek deneysel değerler Çizelge 5.11'de, gerçek değerlerde elde edilen cevaplar ise Çizelge 5.12'de verilmiştir.

Çizelge 5.11. Parametrelerin kodlanmış ve gerçek değerleri

Deney No	Kodlanmış değişkenler		Gerçek değerler	
	x_1	x_2	X_1	X_2
1	-1	-1	50	25
2	1	-1	150	25
3	-1	1	50	75
4	1	1	150	75
5	-1,414	0	29,3	50
6	1,414	0	170,71	50
7	0	-1,414	100	14,64
8	0	1,414	100	85,4
9	0	0	100	50
10	0	0	100	50
11	0	0	100	50
12	0	0	100	50
13	0	0	100	50

Bağımsız değişkenler olarak, boyarmadde ve krom (III) derişiminin cevap üzerindeki etkisi varyans analizi (ANOVA) ile incelenmiştir. ANOVA analizi, Design Expert 7.0. programında gerçekleştirilmiştir. Boyarmadde derişimi ve krom (III) derişiminin ANOVA analizindeki cevabı olarak % boyarmadde ve % krom (III) giderimi seçilmiştir. Bağımsız değişkenlerin cevap üzerindeki etkisini en iyi belirleyen model, ANOVA analizi sonuçlarına göre ikinci dereceden denklem olarak bulunmuştur. % boyarmadde giderimi ve % krom giderimi için gerçek değişkenler cinsinden elde edilen eşitlikler aşağıdaki gibidir.

$$\begin{aligned} \% \text{ BM Giderimi} = & 37,208 - 0,2258 * X_1 - 0,03178 * X_2 + 7 * 10^{-4} * X_1 * X_2 + \\ & 4,28 * 10^{-4} * X_1^2 - 1,128 * 10^{-3} * X_2^2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Krom (III) Giderimi} = & 1,0052 + 0,135 * X_1 + 0,0158 * X_2 - 8,646 * 10^{-4} * X_1 * X_2 - \\ & 4,406 * 10^{-4} * X_1^2 + 2,15 * 10^{-5} * X_2^2 \end{aligned}$$

Çizelge 5.12. Deneysel ve modelden hesaplanan cevap değerleri

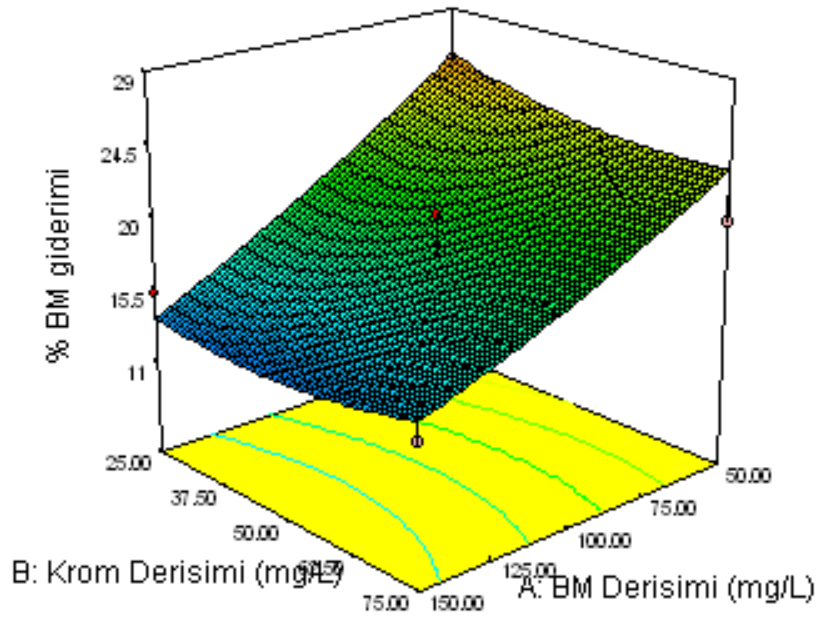
Deney No	BM derişimi (mg/L)	Krom (III) derişimi (mg/L)	% BM giderimi (deney)	%BM giderimi (model)	%Krom(III) giderimi (deney)	%Krom(III) giderimi (model)
1	29,3	50	28,6	27,6	5,1	4,1
2	50	25	25,6	26,4	6,4	6,0
3	50	75	20,5	20,9	4,2	4,7
4	100	14,64	19,2	19,3	9,3	9,0
5	100	85,4	13,4	14,0	4,0	4,2
6	150	25	15,3	14,2	8,9	8,4
7	150	75	13,7	12,2	3,6	2,9
8	170,71	50	11,1	12,8	3,8	4,6
9	100	50	18,0	18,1	6,4	6,6
10	100	50	17,9	18,1	4,6	6,6
11	100	50	16,8	18,1	7,1	6,6
12	100	50	20,6	18,1	8,1	6,6
13	100	50	17,0	18,1	6,6	6,6

Boyarmadde ve krom (III) derişimlerinin, % boyarmadde giderimine negatif etkisi olup, % krom (III) giderimine pozitif olarak etki etmektedirler. ANOVA analizinde hesaplanan p değerleri, modeldeki her bir parametrenin önemini belirtmektedir. Düşük p değerlerinde ($p < 0,05$) parametrenin modeli önemli ölçüde etkilediği, $p > 0,05$ iken ise parametrelerin model üzerinde bir etkisinin olmadığını belirtmektedir. Bu modelde, boyarmadde (X_1) ve krom (III) (X_2) derişimlerinin her ikisi birlikte, % boyarmadde giderimine etkisi olan parametrelerdir. % boyarmadde giderimine ait ANOVA analizinde boyarmaddeye ait p değeri 0,0001, kroma ait p değeri 0,0130'dur. Bu durumda % boyarmadde giderimi üzerine boyarmadde derişimi daha etkindir. Krom (III)*boyarmadde derişiminin ($X_1 * X_2$), p değeri 0,1'den büyük olduğu için % boyarmadde giderimi üzerinde etkili değildirler. Diğer yandan istatistiksel açıdan modelin matematiksel formunun uygunsuzluğunun önemsiz ve regresyon modeli için önemli olması gerekmektedir. Bu modelde, modelin uyum eksikliğinin (Lack of fit) model için önemsiz olduğu ($p = 0,4045$) ve önerilen

modelin önemli ve sistem için uygun olduğu ($p < 0,0005$) söylenebilir. Ayrıca % boyarmadde giderimi için yapılan analizin R^2 değeri 0,937'dir.

Krom (III) ve boyarmadde derişimlerinin, % krom (III) giderimine birlikte etkisinin incelendiği bu bölümde ise, modele göre, % krom (III) giderimine, krom (III) derişimi (X_2) ve boyarmaddenin karesi (X_1^2) terimleri etkili olmaktadır. Krom (III) derişiminin p değeri 0,005 ve boyarmaddenin karesi (X_1^2) teriminin p değeri ise 0,0465'tir. Bu durumda % krom (III) giderimine en etkin değişken, krom (III) derişimidir. ANOVA analizinde, uyum eksikliğinin (Lack of fit) önemsiz olduğu ($p = 0,6025$), ve % krom (III) giderimine boyarmadde ve krom (III) derişimi parametrelerinin etkisinin incelendiği çalışmaya uygulanan cevap yüzeyi yönteminin uygun ve önemli bir model olduğu ($p=0,0273$) söylenebilmektedir. Diğer yandan % krom (III) giderimi için yapılan ANOVA analizine ait R^2 değeri 0,785 'tir.

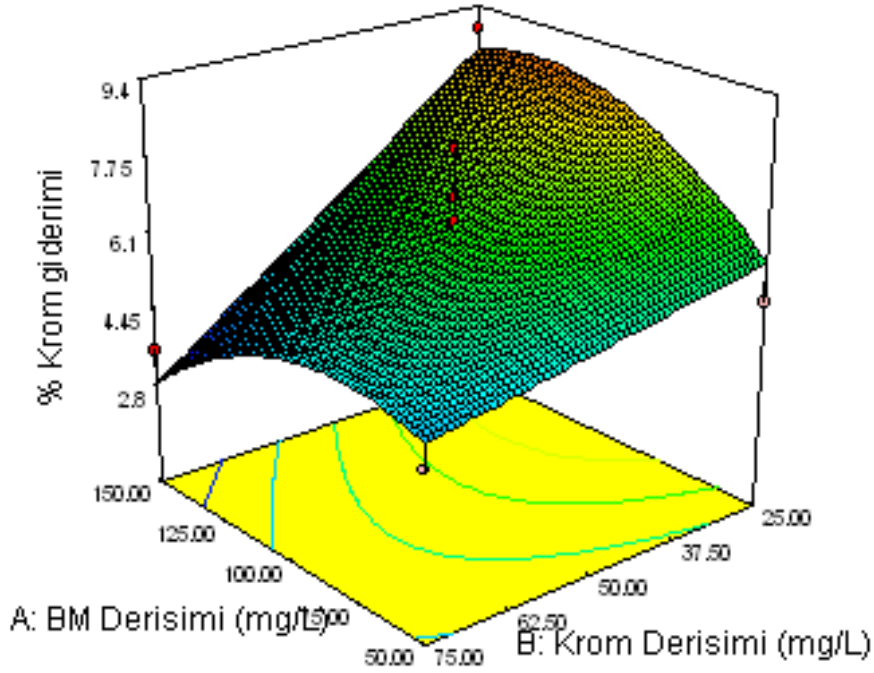
Krom (III) giderimine ve boyarmadde giderimine (cevaba), boyarmadde ve krom (III) derişimlerinin (parametrelerin) etkisi, Design Expert 7.0 programında yapılan analizin yanı sıra bu programda çizilen üç boyutlu grafiklerle de incelenmiştir. Şekil 5.90'da, % boyarmadde gideriminin, boyarmadde ve krom (III) derişimlerine bağlı üç boyutlu cevap eğrisi gösterilmektedir. Ortamda bulunan krom (III) ve boyarmaddenin artan derişimleri % boyarmadde gideriminde düşüşe neden olmaktadır. Krom (III) ve violet 90 boyarmaddesinin biyobirikime birlikte etkisinin incelendiği çalışmada, ortamda sadece boyarmadde yada krom (III) varken elde edilen boyarmadde veya krom (III) biyobirikimi, krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda elde edilen giderimlerden daha yüksek olmaktadır. Krom (III) içermeyen ortamda, 46,2 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde ($S_0=10,8$ g/L) % 42,9 boyarmadde giderimi elde edilirken, 25 mg/L krom (III) ve 50 mg/L boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda % 25,6 boyarmadde ve % 6,4 krom (III) giderimi elde edilmiştir. Benzer şekilde, başlangıçta sadece 50 mg/L krom (III) içeren ortamda ($S_0=10,3$ g/L), % 12,2 krom (III) giderimi elde edilirken, 50 mg/L krom (III) ve 100 mg/L boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda % 6,4 krom ve % 18 boyarmadde giderimi elde edilmiştir.



Şekil 5.90. Krom ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, krom ve boyarmadde derişimlerinin % boyarmadde giderimine etkisi

Ortamda krom ve boyarmaddenin birlikte olması, krom (III) ve boyarmadde giderimine zıt yönde etki etmektedir. Bu çalışmada olduğu gibi, Taştan ve ark. (2010) *Aspergillus versicolor* ile krom (VI) ve boyarmadde gideriminde, Sadettin ve Dönmez (2007) *Pormidium sp.* ile boyarmadde ve krom (VI) gideriminde, Aksu ve ark. (2007) *Trametes versicolor* ile boyarmadde ve krom (VI) gideriminde, Gönen ve Aksu (2009a) *Candida tropicalis* ile boyarmadde ve bakır (II) gideriminde, Das ve ark. (2010b) *Candida tropicalis* ile Basic Violet 3 ve kadmiyum (II) gideriminde mikrobiyal üremenin ve boyarmadde / krom / bakır giderimlerinin, ağır metal ve boyarmaddeden son derece olumsuz etkilendiğini belirtmişlerdir. Ayrıca krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, ortamdaki krom (III) veya boyarmadde derişiminin artırılması, ortamda *C. tropicalis*'in boyarmadde ve krom (III) giderimine ters yönde etki etmektedir. Şekil 5.91 boyarmadde ve krom (III) derişiminin, % krom (III) giderimi üzerindeki etkisini göstermektedir. Gönen ve Aksu (2009a) boyarmadde ve Cu(II) birlikte içeren ortamda, Cu (II) ve boyarmadde giderimini yanıt yüzey metodunu kullanarak analiz etmişlerdir. ANOVA analize göre

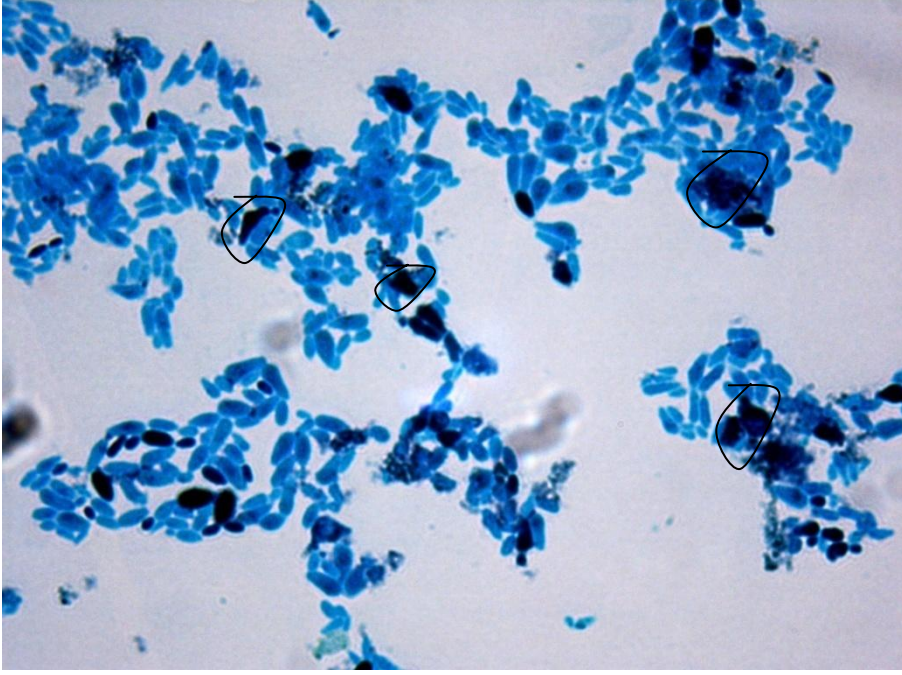
Cu(II) ve boyarmadde giderimine ait analizlerin her ikisinde de, Cu(II) ve boyarmadde derişimlerinin etkili olduğunu görmüşlerdir.



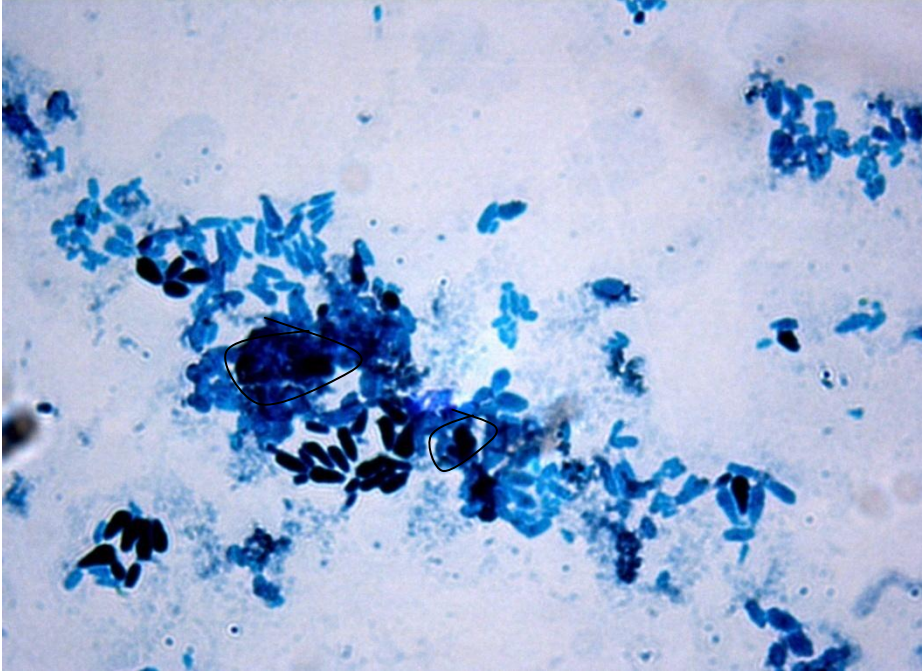
Şekil 5.91. Krom ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, krom ve boyarmadde derişimlerinin % krom giderimine etkisi

5.7.1 *C. tropicalis* ile krom (III) ve boyarmadde biyobirikiminin mikroskopta incelenmesi

C. tropicalis maya hücrelerinin krom ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamdaki davranışını belirleyebilmek için, hücrelerin ışık mikroskobunda resmi çekilmiştir. Ortamdaki C.I.Violet 90 boyarmaddesinin derişimi 100 mg/L ve krom (III) derişimi 100 mg/L'dir. Genel olarak maya hücreleri boyarmaddeyi tutmuş ve hücrelerin her yeri boyarmaddeyle dolmuştur. Boyarmaddeyle dolan hücrelerin bazıları normal şeklini korurken, bazı hücrelerin hücre duvarları boyarmadde tarafından yıkıma uğratarak parçalanmışlardır (Şekil 5.92-5.93). Hücrelerin bir kısmı birbirine iyice yapışmış ve hücrelerin dış sınırları görünmez hale gelmiştir.



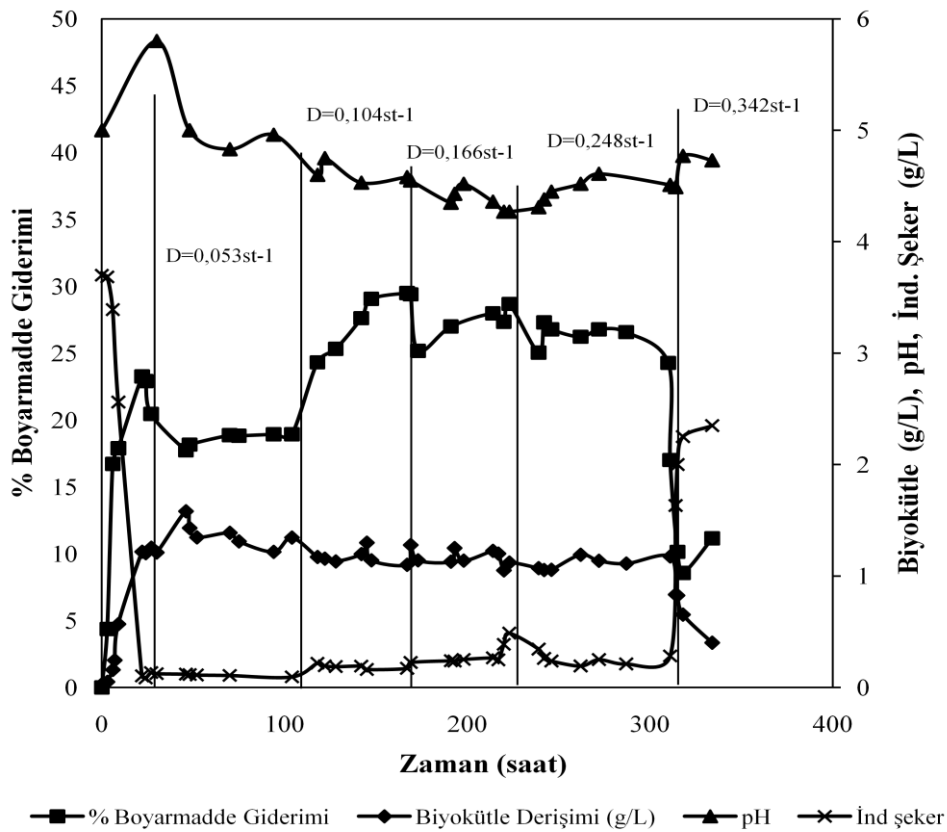
Şekil 5.92. Krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda *C. tropicalis*'in mikroskop görüntüsü



Şekil 5.93. Krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda *C. tropicalis*'in başka bir mikroskop görüntüsü

5.8. *S. cerevisiae* İle Reaktör Sisteminde Gerçekleştirilen Biyobirikim Deneyleri

Bu bölümde Violet 90 boyarmaddesinin atıksulardan giderimi sürekli reaktör sisteminde gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta reaktöre 50 mg/L boyarmadde ve 5 g/L indirgen şeker içeren melaslı besin ortamı konmuştur. Sistem ilk önce, *Saccharomyces cerevisiae* üstel üreme evresine ulaşınca kadar kesikli olarak çalıştırılmış ve 26. saatte sisteme taze besleme verilmeye başlanmıştır. Reaktör sistemi, 24. saatten 104. saate kadar $F=0,44$ mL/dk ($D=0,053$ h⁻¹) bekleme akış hızında, 104. saatten 168. saate kadar $F=0,87$ mL/dk ($D=0,104$ h⁻¹) besleme akış hızında çalıştırılmıştır. 168. saatten sonraki hızlar Şekil 5.94'deki gibidir.



Şekil 5.94. Reaktör besleme akış hızının biyokütle üremesi, boyarmadde giderimi, indirgen şeker derişimi ve pH'a etkisi

Besleme akış hızı 0,44- 2,85 mL/dk (0,053 – 0,342 saat⁻¹) aralığında değiştirilmiş ve boyarmadde giderimi açısından optimum bir besleme akış hızı ve seyrelme hızı gözlemlenmiştir. Sistemde en yüksek boyarmadde biyobirikimi, 0,104 saat⁻¹ seyrelme hızına karşılık gelen 0,87 mL/dk besleme akış hızında, yaklaşık % 30 olarak elde edilmiştir. Diğer hızlarda ise % 10-28 arasında giderim elde edilmiştir (Çizelge 5.13). Kesikli sistemde 5 g/L indirgen şeker derişiminde, 43,4 mg/L boyarmadde derişiminde % 84,6 boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir.

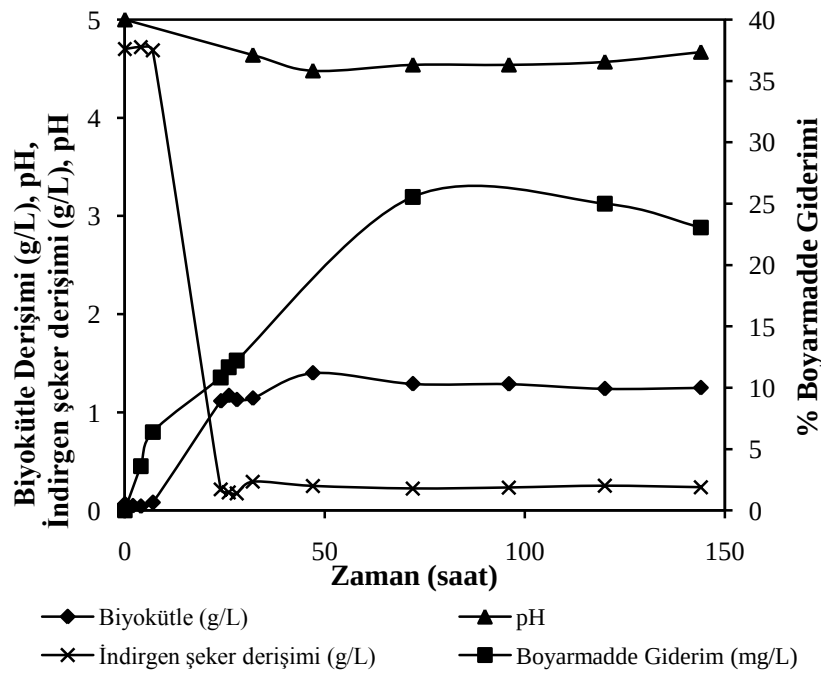
Besleme akış hızı 0,87 mL/dk'dan ($D=0,104$ saat⁻¹) daha yüksek hızlara arttırıldığında, beslemenin reaktörde kalış süresi azalmakta ve buna bağlı olarak boyarmadde biyobirikimi düşmektedir. Diğer yandan besleme akış hızının arttırılması ile ortamdaki *S. cerevisiae* derişiminin azaldığı görülmüştür. Khelifi ve arkadaşları (2008) Indigo boyarmaddesini içeren tekstil atıksuyunun arıtımı için sürekli sistemde deneyler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada atıksu besleme hızı arttırıldığında, mikrobiyal hücrelerin biyolojik aktivitelerinin azaldığını ve buna bağlı olarak boyarmadde biyobirikiminde azalma olduğunu görmüşlerdir.

Çizelge 5.13. Reaktör sistemindeki deneylerde, farklı akış hızları için elde edilen seyrelme hızı, % boyarmadde giderimi ve reaktör çıkışındaki indirgen şeker derişimleri

F (mL/dk)	D (saat⁻¹)	1/D (saat)	% Boyarmadde Giderimi	S (g/L)
-	-	-	23,3	0,085
0,44	0,053	19,00	18,9	0,095
0,87	0,104	9,61	30,0	0,172
1,38	0,166	6,00	28,0	0,266
2,07	0,248	4,03	26,8	0,211
2,85	0,342	2,92	10,0	2,350

Besleme akış hızı 2,85 mL/dk 'ya ($D=0,342 \text{ saat}^{-1}$) artırıldığında, reaktördeki *S. cerevisiae* derişiminin çok hızlı bir şekilde azaldığı, boyarmadde biyobirikiminin % 10'a düştüğü ve reaktör çıkışındaki indirgen şeker derişiminin artış gösterdiği, yani sistemin artık "Wash-out" olduğu gözlemlenmiştir. Kariminiaae-Hamedani ve arkadaşlarının (2005) yaptıkları çalışmada belirttikleri gibi, sistem Wash-out olmadan önce yatışkın durumda çalışırken, Wash-out'dan sonra sistem yatışkın olmayan duruma geçmiştir.

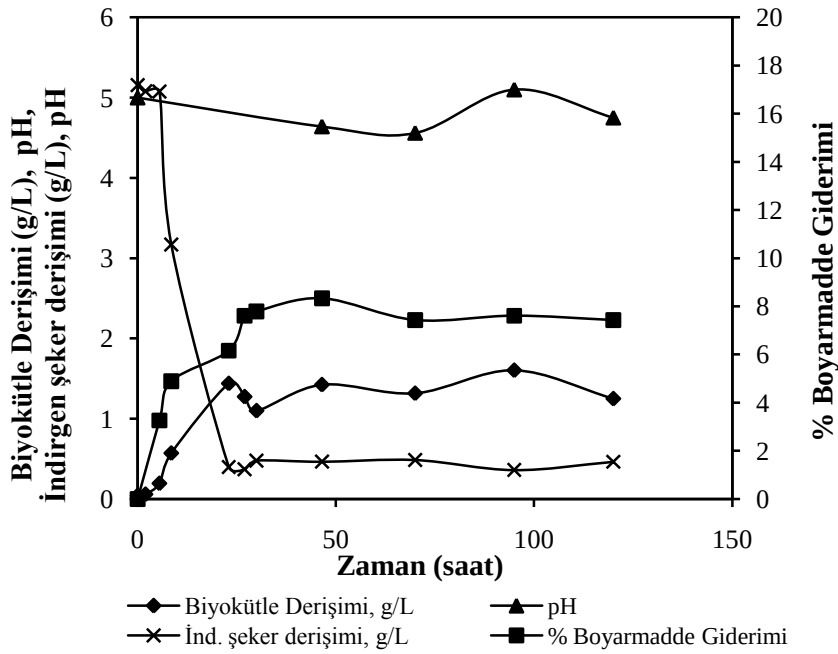
Diğer yandan başlangıç boyarmadde derişimi değiştirilerek başlangıç boyarmadde derişiminin boyarmadde giderimine etkisi araştırılmıştır. 108 mg/L ve 276 mg/L boyarmadde derişimleri ile gerçekleştirilen deneylerde, besleme akış hızı sırasıyla 0,8 mL/dakika ($D=0,096 \text{ saat}^{-1}$) ve 0,84 mL/dakikadır ($D=0,1 \text{ saat}^{-1}$).



Şekil 5.95. 108 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, sürekli reaktördeki boyarmadde biyobirikimi, *S. cerevisiae* üremesi, pH ve indirgen şeker derişimi değişimi (F= 0,8 mL/dk, D=0,096 saat⁻¹, 4,7 g/L indirgen şeker)

108 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, % 25,6 ve 276 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, % 8,3 boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir (Şekil 5.95-

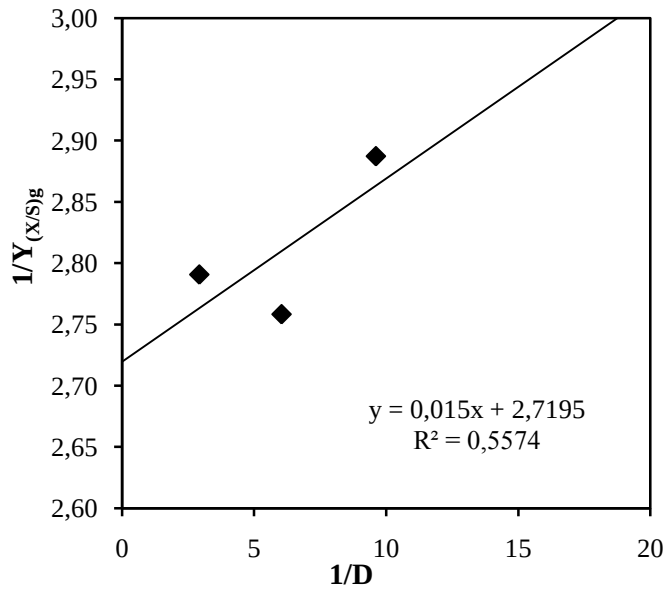
96). Kesikli sistemde 5 g/L indirgen şeker derişiminde, 106,8 ve 274,3 mg/L boyarmadde derişimlerinde sırasıyla % 74,9 ve % 40,9 arasında boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir.



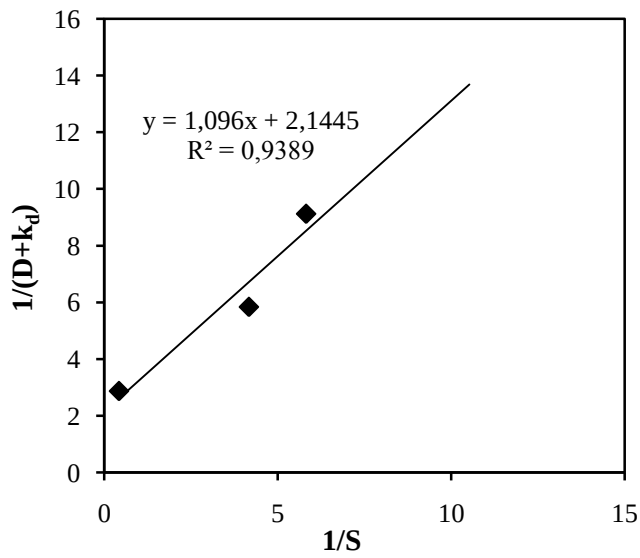
Şekil 5.96. 276 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, reaktördeki boyarmadde biyobirikimi, *S. cerevisiae* üremesi, pH ve indirgen şeker derişimi değişimi ($F=0,84$ mL/dk, $D=0,1$ saat⁻¹, 5.15 g/L indirgen şeker)

Sürekli biyoreaktör sisteminde, 50 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde, farklı seyrelme hızlarında çalışılması durumunda, sisteme ait kinetik parametreler hesaplanmıştır. Sistemde hücreler için gerekli bakım katsayısı ve hücre içi solunum katsayısını hesaplamada Eş. 2.51 kullanılmıştır. Bu eşitliğe göre, $1/D$ 'ye karşı $1/Y_{X/S(g)}$ (görünür biyokütle verimi) grafiğe geçirilmiştir (Şekil 5.97). Şekil 5.97'de iki indirgen şeker derişimi değeri, verilerin doğrusallıktan sapmasına yol açtığı için kullanılmamıştır. Doğrunun eğiminden bakım katsayısı (m) 0,0150 g substrat / (g biyokütle*saat) ve doğrunun y eksenini kesim noktasından $Y_{X/S(m)}$ (maksimum verim katsayısı) 0,37 g substrat / g biyokütle olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan Eş. 2.53 'den ($m = k_d / Y_{X/S(m)}$) k_d (hücre içi solunum katsayısı) 0,0056 saat⁻¹ olarak hesaplanmıştır.

Biyoreaktörde, 50 mg/L boyarmadde içeren ortamda mikroorganizmalara ait en yüksek özgül üreme hızı (μ) ve Monod doygunluk sabiti (K_S) Eş.2.54'e göre bulunmuştur. Bu eşitlikte, $1/S$ 'e karşı $1/(D+k_d)$ grafiğe geçirilmiş (Şekil 5.98) ve doğrunun y eksenini kesim noktasından μ_m 0,466 saat⁻¹ ve eğiminden K_S 0,511 g/L bulunmuştur.



Şekil 5.97. $1/D$ 'ye karşı $1/Y_{(X/S)g}$ grafiği



Şekil 5.98. $1/S$ 'e karşı $1/(D+k_d)$ grafiği

Ayrıca reaktör sistemini, optimum koşullarda çalıştırmak için gerekli seyrelme hızı değeri (D_{opt}) Eş.2.55 'den $0,298 \text{ saat}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Kariminiaae-Hamedani ve arkadaşlarının (2005) *Saccharomyces cerevisiae*'nin kesikli ve sürekli sistemde üreme kinetiğinin incelendiği çalışmada μ_m ve K_s $0,341 \text{ saat}^{-1}$ ve 1 g/L bulunmuştur. Pazouki ve arkadaşları (2008) *Aspergillus fumigatus* ile boyarmadde giderimi ile kesikli sistemde yaptıkları çalışmada, üreme kinetiği için Lojistik eşitliği kullanarak μ_m $0,03 \text{ saat}^{-1}$ hesaplanmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan çalışmada tekstil atıksularında bulunan, alıcı ortamdaki canlılar ve çevre için tehlike oluşturan Violet 90 metal kompleks boyarmaddesinin ve kromun mikroorganizmalar yardımıyla giderimi araştırılmıştır. Bu amaçla kullanılan mikroorganizmalar *Candida tropicalis* ve *Saccharomyces cerevisiae* mayalarıdır. Deneyler kesikli sistemde gerçekleştirilmiştir. Sadece *S. cerevisiae* mayası ile boyarmadde giderimi hem kesikli hem de sürekli sistemde incelenmiştir. Deneylerde kullanılan mayalar için besin kaynağı olarak, şeker fabrikalarından temin edilen ve şeker üretiminde bir yan ürün olan melas kullanılmıştır.

S. cerevisiae ile Violet 90 boyarmaddesinin giderimine ön adaptasyon, pH, karıştırma hızı, boyarmadde derişimi ve indirgen şeker derişimi etkisi incelenmiştir. Adaptasyon deneylerinde, boyarmaddeye adapte edilmiş *S. cerevisiae* mayası (AM), boyarmaddeye adapte edilmemiş *S. cerevisiae* mayası (AOM) ile hidroliz edilmemiş melas + boyarmaddeye adapte edilmemiş *S. cerevisiae* mayası (AOMHY) kullanılarak boyarmadde biyobirikim deneyleri gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmanın sonunda, AM, AOM ve AOMHY ile sırasıyla 44, 38, 49 mg/L başlangıç boyarmadde derişimlerinde % 74,4 , % 49,3 ve % 35,7 biyobirikim elde edilmiştir. Çalışmanın devam eden bölümlerinde adapte maya (AM) kullanılmıştır.

Başlangıç pH'ının melaslı besin ortamında *Saccharomyces cerevisiae* mayasının üremesi ve boyarmadde biyobirikimi üzerine etkisi boyarmadde içeren ortam için pH 4-7 aralığında incelenmiştir. pH 5'te *S. cerevisiae*'nin özgül üreme hızı ve boyarmadde biyobirikimi diğer pH'lara oranla daha yüksek çıkmıştır. Bu nedenle *S. cerevisiae* ile boyarmadde giderimi çalışmalarının devamında ortam başlangıç pH'ı 5 olarak ayarlanmıştır. pH 5'te boyarmadde gideriminde biyobirikim mekanizması gözlenmiştir.

Saccharomyces cerevisiae mayasının melaslı besin ortamında üreme hızına karıştırma hızının etkisi 100, 120, 140 ve 150 rpm hızlarında incelenmiştir. Artan

kariştırma hızına bağlı olarak *S. cerevisiae*'nin özėöl üreme hızı ve boyarmadde biyobirikiminde artış gözlenmiş ve çalışmaların devamında 140 rpm kariştırma hızında çalışılmıştır.

Saccharomyces cerevisiae ile boyarmadde biyobirikimine, başlangıç boyarmadde ve başlangıç indirgen şeker derişiminin birlikte etkisini incelemek için, indirgen şekerin derişimi yaklaşık 2,5, 5, 10, 20 ve 30 g/L olarak seçilmiş ve her bir indirgen şeker derişiminde boyarmadde derişimi yaklaşık 20, 40, 75, 100, 250, 400 mg/L olarak değiştirilmiştir. Belli bir boyarmadde derişiminde, indirgen şeker derişiminin artmasıyla, *S. cerevisiae*'nin özėöl üreme hızı ve ulaşılan en yüksek biyokütle derişiminde artış olmuştur. Ancak en yüksek boyarmadde biyobirikimi, 100 mg/L'den daha düşük boyarmadde derişimlerinde 5 g/L indirgen şeker derişimi, 250 ve daha yüksek boyarmadde derişimleri için 10 g/L indirgen şeker derişiminde gözlenmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* ile gerçekleştirilen deneylerde en yüksek boyarmadde biyobirikimi 5 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde, % 94,9 olarak elde edilmiştir. *S. cerevisiae* mayasının özėöl üreme hızı eğrilerinde bir miktar boyarmadde inhibisyonu görülürken, substrat inhibisyonu gözlenmemiştir. *S. cerevisiae* üreme hızı için Monod kinetiğinden yararlanılmıştır. Boyarmadde içermeyen kontrol ortamı için, Monod eşitliğinin lineerleştirilerek çözümünden en yüksek özėöl üreme sabiti, μ_m 0,473 saat⁻¹ ve Monod doyunluk sabiti $K_S=3,16$ g/L hesaplanmıştır. Boyarmaddenin üreme hızı üzerindeki inhibisyon etkisi için lineer karma tip inhibisyon modeli kullanılmış ve inhibisyon sabiti 1132 mg/L ve a sabiti 3,73 olarak bulunmuştur. Sabitlerin kinetik ifadelerde yerine konmasıyla, model ve deney sonuçları özėöl üreme hızları açısından karşılaştırılmıştır. Ayrıca substrat tüketim hızı ile biyokütle üretim hızı için yazılan diferansiyel denklemler MATLAB'da yazılan bir programda birlikte özdrlmştir. Çalışılan herbir farklı başlangıç indirgen şeker ve boyarmadde derişimleri için, kinetik model ile elde edilen biyokütle ve substrat derişimleri ile deneysel veriler karşılaştırılmıştır.

Candida tropicalis ile boyarmadde biyobirikimine, adaptasyon, pH etkisi, başlangıç boyarmadde ve indirgen şeker derişimi etkisi incelenmiştir. *S. cerevisiae* mayasında

olduğu gibi, *C. tropicalis*'in boyarmaddeye adaptasyonu ile daha yüksek boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir. AM, AOM ve AOMHY ile 46, 40 ve 39 mg/L başlangıç boyarmadde derişimleri için % 42,9 , 34,6 ve 27,2 boyarmadde biyobirikimi elde edilmiştir. Çalışmanın sonraki kısımlarında, boyarmaddeye adapte edilmiş *C. tropicalis* mayası kullanılmıştır.

C. tropicalis ile boyarmadde biyobirikimine pH'ın etkisi 3-5 aralığında incelenmiş ve pH 5'te hem özgül üreme hızlarının hemde boyarmadde biyobirikiminin daha yüksek olduğu görülmüştür. Çalışmanın ilerleyen bölümlerinde pH 5 olarak alınmıştır.

C. tropicalis ile boyarmadde biyobirikimine başlangıç indirgen şeker ve boyarmadde derişiminin birlikte etkisi incelenmiştir. Başlangıç indirgen şekerin derişimi, yaklaşık olarak 1, 3, 6, 11 ve 20 g/L olarak seçilmiş ve her bir indirgen şeker derişiminde başlangıç boyarmadde derişimi yaklaşık olarak 20, 40, 100, 250 ve 400 mg/L olarak değiştirilmiştir. Sabit başlangıç boyarmadde derişiminde, indirgen şeker derişimi arttırıldıkça ortamdaki biyokütle üremesi ve özgül üreme hızı artmaktadır. Boyarmadde biyobirikimi, indirgen şeker derişimi 10 g/L'ye kadar artmakta, şeker derişimi 20 g/L'ye arttırıldığında ise biyobirikim düşmektedir. Sabit başlangıç indirgen şeker derişiminde ise, başlangıç boyarmadde derişimi arttıkça özgül üreme hızında azalma olmaktadır. *C. tropicalis* ile gerçekleştirilen deneylerde, en yüksek boyarmadde biyobirikimi, 10,9 başlangıç indirgen şeker derişiminde, 106,4 mg/L başlangıç boyarmadde derişiminde % 44 olarak elde edilmiştir. *C. tropicalis* mayasının özgül üreme hızı için Monod kinetiğinden yararlanılmıştır. Boyarmadde içermeyen kontrol ortamı için, Monod eşitliğinin lineerleştirilmiş formundan en yüksek özgül üreme hızı sabiti, μ_m 0,253 saat⁻¹ ve Monod doygunluk sabiti $K_s=0,765$ g/L hesaplanmıştır. Boyarmaddenin, üreme hızı üzerindeki inhibisyon etkisi için lineer karma tip inhibisyon modeli kullanılmış ve inhibisyon sabiti 546 mg/L ve a sabiti 4,52 olarak bulunmuştur. Sabitlerin kinetik ifadelerde yerine konmasıyla, model ve deney sonuçları özgül üreme hızları açısından karşılaştırılmıştır. Ayrıca substrat tüketim hızı ile biyokütle üretim hızı için yazılan

diferansiyel denklemler MATLAB’da yazılan bir programda birlikte çözdürülmüştür. Çalışılan her bir farklı başlangıç indirgen şeker ve boyarmadde derişimleri için, kinetik model ile elde edilen biyokütle ve substrat derişimleri ile deneysel veriler karşılaştırılmıştır.

C. tropicalis’in ve *S. cerevisiae* mayasının boyarmadde giderim mekanizmasını belirlemek amacıyla maya hücrelerinin ışık mikroskopunda resimleri çekilmiştir. Resimlerde boyarmaddenin maya hücrelerinde biyobiriktilildiği, hücrelerinin boyarmadde ile dolduğu gözlemlenmiştir.

C. tropicalis’in ve *S. cerevisiae* mayaların boyarmadde biyobirikimleri karşılaştırılmış ve *S. cerevisiae* ile daha yüksek boyarmadde biyobirikimleri elde edilmiştir.

C. tropicalis’in ve *S. cerevisiae* mayaları ile krom (VI) giderimine başlangıç pH’ının etkisi incelenmiştir. Krom (VI) giderimi çalışmalarında, ortamdaki melas ve mayaların, krom(VI)’yı, tamamen krom (III) formuna çevirdikleri görülmüştür. *S. cerevisiae* ile pH 5’te % 4,5, *C. tropicalis* ile pH 5’te % 30 krom (III) giderimi elde edilmiştir. *S. cerevisiae* ile çok düşük krom giderimi elde edildiği için, bu maya ile krom gideriminde başlangıç indirgen şeker ve krom derişiminin etkisi incelenmemiştir.

C. tropicalis ile krom giderimine, başlangıç indirgen şeker derişimi yaklaşık 5, 10 ve 15 g/L olarak seçilmiş ve her bir başlangıç indirgen şeker derişiminde krom (III) derişimi 25, 50, 75 ve 100 mg/L olarak değiştirilmiştir. Belli bir krom (III) derişiminde, başlangıç indirgen şeker derişimi arttırıldıkça *C. tropicalis*’in üremesi ve özgül üreme hızı artış göstermiştir. Deneylerde, en yüksek krom (III) giderimi, 25 mg/L başlangıç krom (III) derişimi ve 10,6 g/L başlangıç indirgen şeker derişiminde % 23 olarak elde edilmiştir. *C. tropicalis*’in özgül üreme hızı için Monod eşitliği kullanılmış ve Monod eşitliğinin doğrusallaştırılmış formundan μ_m sabiti 0,229 saat⁻¹ ve Monod doygunluk sabiti $K_s=0,676$ g/L olarak hesaplanmıştır. Krom(III)’un özgül

üreme hızı üzerindeki inhibisyon etkisi, lineer karma tip inhibisyon olarak tespit edilmiş ve K_I (inhibisyon sabiti, mg/L) 96,6 mg/L ve a faktörü 6,03 olarak hesaplanmıştır.

C. tropicalis mayası ile krom (III) biyobirikimi sırasında, mayanın kromdan etkilenip etkilenmediği ışık mikroskobunda çekilen resimlerle belirlenmiştir. Krom içeren ortamdaki maya hücrelerinin, kontrol ortamındaki hücelere oranla daha küçük oldukları ve şekillerinde bozulma olduğu gözlemlenmiştir.

C. tropicalis mayasıyla krom (III) ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda krom (III) ve boyarmadde giderimi incelenmiştir. Farklı başlangıç boyarmadde ve krom derişimlerinin belirlenmesi için Box Wilson deneysel tasarım yöntemi kullanılmıştır. Bağımsız değişkenlerin (boyarmadde ve krom derişimlerinin) cevap (% krom (III) giderimi ve % boyarmadde giderimi) üzerindeki etkileri Design Expert 7.0. programında, ANOVA analizi ile belirlenmiştir. % boyarmadde giderimine boyarmadde ve krom derişimleri, % krom (III) giderimine ise, krom (III) derişimi ve boyarmaddenin karesi terimleri etkili olmaktadır. Deneysel çalışmada krom ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, en yüksek boyarmadde giderimi, başlangıç boyarmadde derişimi 29,3 mg/L ve başlangıç krom derişimi 50 mg/L iken, % 28,6 olarak elde edilmiştir.

Krom ve boyarmaddeyi birlikte içeren ortamda, *C. tropicalis* mayasının ışık mikroskobunda çekilen resimlerine bakıldığında, mayanın boyarmadde ile dolu olduğu, maya hücre duvarının yıkıma uğradığı ve parçalandığı, bazı hücrelerin birbirine iyice yapıştığı görülmüştür.

Çalışmanın son bölümünde, *S. cerevisiae* mayası ile boyarmadde biyobirikimi sürekli reaktör sisteminde incelenmiştir. Başlangıçta steril besleme hızı değiştirilerek, boyarmadde biyobirikimine etkisi incelenmiş ve en yüksek boyarmadde biyobirikiminin (% 30) elde edildiği besleme hızı 0,87 mL/dak. ve bu besleme akış hızına karşılık gelen seyrelme hızı 0,104 saat⁻¹ dir. Biyoreaktörde *S. cerevisiae*

mayasının üremesi Monod eşitliği ile tanımlanmış ve maya için en yüksek özgül üreme hızı $0,46 \text{ saat}^{-1}$ ve Monod doygunluk sabiti K_S $0,521 \text{ g/L}$ olarak bulunmuştur. Ayrıca bakım katsayısı m $0,0151 \text{ g substrat / (g biyokütle*saat)}$, $Y_{X/S(m)}$ $0,37 \text{ g substrat / g biyokütle}$ ve k_d (hücre içi solunum katsayısı) $0,0056 \text{ saat}^{-1}$ olarak hesaplanmıştır. Diğer yandan, reaktörü optimum koşullarda çalıştırmak için gerekli seyrelme hızı (D_{opt}) $0,298 \text{ saat}^{-1}$ olarak bulunmuştur.

Yapılan çalışmada metal-kompleks boyarmaddelerin ve krom (III) ve (VI)'nın *C. tropicalis* ve *S. cerevisiae* mayaları ile giderim olanakları araştırılmıştır. Bu çalışmada elde edilen deneysel sonuçlar ile literatürde yapılan çalışmalar karşılaştırıldığında, kompleks yapılı metal kompleks boyarmaddelerin, mayalarla etkili bir şekilde giderilebileceği görülmüştür. *C. tropicalis* ve *S. cerevisiae* mayaları Violet 90 boyarmaddesini parçalamamış ve ortamda biyobirikim mekanizması gerçekleşmiştir. Biyobirikim mekanizmasında, boyarmadde parçalanıp, zararlı bileşikler oluşmasına katkı sağlamadığından, daha çevre dostu bir yöntem olduğu düşünülmektedir. Diğer yandan, krom (VI), melaslı besin ortamı ve mayalar ile çevreye daha az zararı olan ve zehirli olmayan krom (III) formuna dönüştürülmüştür.

Daha verimli bir şekilde, boyarmadde ve ağır metal giderimi için aşağıdakiler önerilebilir:

- İmmobilize hücre sistemleri geliştirilebilir.
- Boyarmadde ve ağır metale ilaveten, gerçek bir tekstil atıksuyunda bulunabilecek diğer bileşikler ortama eklenebilir.
- Metal kompleks boyarmaddelerin giderimi için farklı maya türleri kullanılabilir.
- Ortama farklı enzimler ilave edilerek biyobirikime etkileri incelenebilir.
- Mikrobiyal besin ortamı olarak farklı karbon kaynakları kullanılabilir.
- Reaktör sisteminde biyobirikim deneylerini gerçekleştirirken, karıştırma hızı, oksijen ilavesi, indirgen şeker derişimi etkisi gibi parametrelerin biyobirikime etkisi incelenebilir.

KAYNAKLAR

Açikel, Ü., “Melas katılan ve ağır metal kirliliği içeren atıksularda çeşitli türdeki maya hücrelerinin büyüme kinetiğinin ve hücrelerdeki metal biyobirikiminin incelenmesi”, Doktora tezi, **Hacettepe Üniv. Fen Bil. Enstitüsü**, 20-21 (2003).

Ahluwalia, S.S., Goyal, D., “Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater”, **Bioresource Technology**, 98: 2243- 2257 (2007).

Aksu, Z., Dönmez, G., “The use of molasses copper (II) containing wastewaters effects on growth and bioaccumulation properties of *Kluyveromyces marxianus*”, **Process Biochemistry**, 36:451-458 (2000).

Aksu, Z., “Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*”, **Process Biochemistry**, 38:1437-1444 (2003).

Aksu, Z., “Application of biosorption for the removal of organic pollutants : a review”, **Process Biochemistry**, 40: 997-1026 (2005).

Aksu, Z., Dönmez, G., “Combined effects of molasses sucrose and reactive dye on the growth and dye bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*”, **Process Biochemistry**, 40:2443-2454 (2005).

Aksu, Z., Koçberber-Kılıç, N., Ertuğrul, S., Dönmez, G., “Inhibitory effects of chromium (VI) and Remazol Black B on chromium (VI) and dyestuff removals by *Trametes versicolor*”, **Enzyme and Microbial Technology**, 40:1167-1174 (2007).

Apha-Awwa-WPOF, “Standard Methods for the examination of water and wastewater 14th ed”, 1.cilt, **Ankara Arş. Em. Müd. Kütüp.**, 191-195 (1976).

Arceivala, S.J., “Çevre Kirliliği Kontrolünde Atıksu Arıtımı, 1.baskı”, Balman, A.H., Balman,V., **Atılım Ofset**, Ankara, 11-28 (2002).

Arora, S., Saini, S.H., Singh, K., “Decolorisation of a mono azo disperse dye with *Candida tropicalis*”, **Coloration Technology**, 121: 298-303 (2005).

Arslan, Y., “Fındık kabuğunun etil alkol üretiminde kullanılabilirliği”, Doktora tezi, **Gazi Üniv. Fen Bil. Enstitüsü**, 47-52 (2007).

Başaran, B., İşcan, M., Bitlisli, B.O., “Deri üretiminde kullanılan zararlı kimyasallar ve insan sağlığı üzerine etkileri”, **I. Ulusal Deri Sempozyumu**, İzmir, 379-386 (2004).

Başer, İ., İnandırıcı, Y., “Boyarmadde Kimyası”, **Marmara Üniv., Teknik Eğitim Fak. Matbaası**, İstanbul, 7-8 (1990).

Batic, M., Raspor, P., “Effect of cultivation mode on a bioprocess for chromium yeast biomass enrichment”, **Eur. J. Physiol.**, 439:73-75 (2000).

Beyatlı, Y., “Biyoteknoloji ve Biyoprotein Üretimi ”, **Kükem Derneği Bilimsel Yayınları**, Ankara, 14-36 (1996).

Blackburn, R.S., Burkinshaw, S.M.,. “A greener approach to cotton dyeings. Part 2: Application of 1:2 metal complex acid dyes”, **Green Chemistry**, 4: 261-265 (2002).

Blanquez, P., Casas, N., Font, X., Gabarrell, X., Sara, M., Caminal, G., Vicent, T., “Mechanism of textile metal dye biotransformation by *Trametes versicolor*”, **Water Research**, 38:2166-2172 (2004).

Blanquez, P., Caminal, G., Sara, M., Vicent, T., “The effect of HRT on the decolourisation of the Grey Lanaset G textile dye by *Trametes versicolor*”, **Chemical Engineering Journal**, 126:163-169 (2007).

Blanquez, P., Sara, M., Vicent, T., Development of a continuous process to adapt the textile wastewater treatment by fungi to industrial conditions”, **Process Biochemistry**, 43:1-7 (2008).

Chojnacka, K., “Biosorption and bioaccumulation-the prospects for practical applications”, **Environment International**, 36:299-307 (2010).

Correia, V.M., Stephenson, T., Judd, S.J., “Characterisation of textile wastewaters-A Review”, **Environment Technology**, 15:917-929 (1994).

Çetin, D., Dönmez, G., “Decolorization of reactive dyes by mixed cultures isolated from textile effluent under anaerobic conditions”, **Enzyme and Microbial Technology**, 38:926-930 (2006).

İnternet : Çevre ve Orman Bakanlığı, “Su, Yerüstü Suları ve Kirliliği”, http://www.styd-cevreorman.gov.tr/su_kirliligi.htm (2010a).

İnternet : Çevre ve Orman Bakanlığı, "Atıksu Arıtımının Esasları " http://www.styd-cevreorman.gov.tr/aritma_tesisleri.htm (2010b).

Das, D., Charumathi, D., Das, N., “Combined effects of sugarcane bagasse extract and synthetic dyes on the growth and bioaccumulation properties of *Pichia fermentans* MTCC 189”, **Journal of Hazardous Materials**, 183: 497-505 (2010a).

Das, D., Charumathi, D., Das, N., “Bioaccumulation of the synthetic dye Basic Violet 3 and heavy metals in single and binary systems by *Candida tropicalis* grown in a sugarcane bagasse extract medium modelling optimal conditions using response surface methodology (RSM) and inhibition kinetics”, **Journal of Hazardous Materials**, (Baskıda), (2010b).

Doble, M., Kumar, A., “Biotreatment of Industrial Effluents”, *Elsevier*, 123-125 (2005).

Dönmez, G., “Bioaccumulation of the reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium”, *Enzyme and Microbial Technology*, 30: 363-366, (2002).

Dönmez, G., Aksu, Z., “Bioaccumulation of copper (II) and nickel (II) by the non-adapted and adapted growing *Candida Sp.*”, *Water Research*, 15(6):1425-1434 (2001).

Erbaş, S.O., Olmuş, H., “Deney Düzenleri”, *Gazi Kitabevi*, Ankara, 1-3 (2006).

Ertit Taştan, B., Ertuğrul, S., Dönmez, G., “Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by *Aspergillus versicolor*”, *Bioresource Technology*, 101:870-876 (2010).

Ertuğrul, S., San, N.O., Dönmez, G., “Treatment of dye (Remazol Blue) and heavy metals using yeast cells with the purpose of managing polluted textile wastewaters”, *Ecological Engineering*, 35:128-134 (2009).

Forgacs, E., Cserhati, T., Oros, G., “Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review”, *Environmental Engineering*, 30:953-971 (2004).

Fu, Y., Viraraghavan, T., “Fungal decolorization of dye wastewaters : a review”, *Bioresource Technology*, 79: 251-262 (2001).

Goodyear, K.L., Mc Neill, S., “Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: a review”, *The Science of the Total Environment*, 229 : 1-19 (1999).

Gökçay, C.F., Sağ, Y., “Endüstriyel uygulamalar”, Endüstriyel Atıksu Arıtımı 1.baskı, *Kimya Mühendisleri Odası*, Ankara Şubesi, 310-317 (1992).

Gönen, F., “Atıksulardaki tekstil boyarmaddeleri ve metal iyonlarının tekli ve ikili karışımlarının serbest ve tutuklanmış mikroorganizma sistemleri ile biyogideriminin kesikli ve sürekli sistemlerde incelenmesi, Doktora tezi, *Hacettepe Üniv. Fen Bil. Enstitüsü*, 34 (2006).

Gönen, F., Aksu, Z., “Use of response surface methodology (RSM) in the evaluation of growth and copper(II) bioaccumulation properties of *Candida utilis* in molasses medium”, *Journal of Hazardous Materials*, 154: 731-738 (2008).

Gönen, F., Aksu, Z., “Single and binary dye and heavy metal bioaccumulation properties of *Candida tropicalis*: Use of response surface methodology (RSM) for

the estimation of removal yields”, *Journal of Hazardous Materials*, 172:1512-1519 (2009a).

Gönen, F., Aksu, Z., “Predictive expressions of growth and Remazol Turquoise Blue-G reactive dye bioaccumulation properties of *Candida utilis*”, *Enzyme and Microbial Technology*, 45: 15-21 (2009b).

Haritonidis, S., Malea, P., “Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece”, *Environmental Pollution*, 104:365-372 (1999).

Hofman, M.(Editor), “Engineering and Manufacturing for Biotechnology”, *Kluwer Academic Publishers*, USA, 21-22 (2002).

Horning, R.H., Textile Dyeing Wastewaters: Characterization and Treatment. *U.S. Department of Commerce, National Technical Information Service*, PB-285 115, 39-40 (1978).

Hunger, K., “Industrial Dyes : Chemistry, properties, applications ”, *Wiley-VCH* Germany, 2-10 (2003).

Işık, M., Sponza, D.T., “A batch kinetic study on decolorization and inhibition of Reactive Black 5 and Direct Brown 2 in an anaerobic mixed culture”, *Chemosphere*, 55:119-128 (2004).

Jadhav J.P., Parshetti, G.K., Kalme, S.D., Govindwar, S.P., “Decolourization of azo dye methyl red by *Saccharomyces cerevisiae* MTCC 463”, *Chemosphere*, 68(2):394-400 (2007).

Juvera-Espinosa, J., Morales-Barrera, L., Cristiani-Urbina, E., “Isolation and characterization of a yeast strain capable of removing Cr(VI)”, *Enzyme and Microbial Technology*, 40: 114-121 (2006).

Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S., “Metallerin çevresel etkileri –I”, *Metalurji Dergisi*, 136: 47-53 (2003).

Karapınar Kapdan, İ., Kargı, F., “ Atıksulardan tekstil boyar maddelerinin adsorpsiyonlu biyolojik arıtım ile giderimi”, *Turk J. Engin. Environ. Sci.*, 24: 161-169 (2000).

Kargı, F., “Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler”, *D.E.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları*, No:234 (1993).

Kariminiaae-Hamedani, H.R., Shahrokhi, M., Roostaazad, R., “Experimental evaluation of batch and continuous production of baker’s yeast under computer controlled pH”, *Iran J.Chem&Chem.Eng.*, 24(2):43-49 (2005).

Kaszycki, P., Fedorovych, D., Ksheminska, H., Babyak, L., Wojcik, D., Koloczek, H., "Chromium accumulation by living yeast at various environmental conditions", ***Microbiological Research***, 159: 11-17 (2004).

Khelifi, E., Gannoun, H., Touhami, Y., Baoullagui, H., Hamdi, M., "Aerobic decolourization of the indigo dye containing textile wastewater using continuous combined bioreactors", ***Journal of Hazardous Materials***, 152:683-689 (2008).

Kirk-Othmer, Encyclopedia of Chemical Technology, 3rd Edition, ***A Wiley Inter. Publication***, Newyork, 6: 82-95 (1980).

Kocaer, F.O., Alkan, U., "Boyarmadde içeren tekstil atık sularının arıtım alternatifleri", ***Uludağ Üniv. Müh.Mim.Fak.Dergisi***, 7(1): 47-55 (2002).

Koç, B., Kaymak-Ertekin, F., "Yanıt yüzey yöntemi ve gıda işleme uygulamaları", ***Gıda***, 35(1): 66-73 (2010).

Ksheminska, H., Jaglarz, A., Fedorovych, D., Babyak, L., Yanovych, D., Kaszycki, P., Koloczek, H., "Bioremediation of chromium by the yeast *Pichia guilliermondii*: toxicity and accumulation of Cr (III) and Cr (VI) and the influence of riboflavin on Cr tolerance", ***Microbiological Research***, 158:59-67 (2003).

Ksheminska, H., Fedorovych, D., Babyak, L., Yanovych, D., Kaszycki, P., Koloczek, H., "Chromium(III) and (VI) tolerance and bioaccumulation in yeast: a survey of cellular chromium content in selected strains of representative genera", ***Process Biochemistry***, 40:1565–1572 (2005).

Ksheminska, H., Fedorovych, D., Hohnchar, T., Ivash, M., Gonchar, M., "Yeast tolerance to chromium depends on extracellular chromate reduction and Cr(III) chelation", ***Food Technol. Biotechnol.***, 46:419-426 (2008).

Kristiansen, B., "Citric Acid Production", ***CRC Press***, Newyork, 150-155 (1998).

İnternet : Lenntech Water Treatment Solutions "Chromium"
<http://www.lenntech.com/Periodic-chart-elements/cr-en.htm> (10/06/2010).

Li, T., Guthrie, J.T., "Colour removal from aqueous solutions of metal-complex azo dyes using bacterial cells of *Shewanella* strain J18 143", ***Bioresource Technology***, 101:4291-4295 (2010).

Lucas, M.S., Amaral, C., Sampaio, A., Peres, J.A., Dias, A.A., "Biodegradation of the diazo dye Reactive Black 5 by a wild isolate of *Candida oleophila*", ***Enzyme and Microbial Technology***, 39: 51-55 (2006).

Macaskie, L.E., “Bioaccumulation of heavy metals and application to the remediation of acid mine drainage water containing uranium, Bacterial Interaction with heavy metals in the environment, **Workshop-Follow-up**, 528-530 (1997).

Macaskie, L.E., Dean, A.C.R., “Microbial metabolism, desolubilization and deposition of heavy metals, metal uptake by immobilized cell and application to the detoxification of liquid wastes”, Biological waste Treatment, **Alan R.Liss Inc.**, 159-210 (1989).

Martins, M.A.M., Cardoso, M.H., Queiroz, M.J., Ramalho, M.T., Campos, A.M.O., “Biodegradation of azo dyes by the yeast *Candida zeylanoides* in batch aerated cultures”, **Chemosphere**, 38:2455-2460 (1999).

Internet : Maryland Univ. Biochemical Engineering Laboratory, “Experiment no. 9D: Sucrose assay by the dinitro salicylic colorimetric method” <http://www.glue.umd.edu/~nsw/ench485/lab9d.htm> (2010).

Meehan, C., Banat, I.M., McMullan, G., Nigam, P., Smyth, F., Marchant, R., “Decolorization of Remazol Black-B using thermotolerant yeast, *Kluyveromyces marxianus* IMB3”, **Environment International**, 26: 75-79 (2000).

Miller, G.L., “Use of dinitrosalicylic acid reagent for reducing sugar”, **Anal. Chem.**, 31: 426-430 (1959).

Montgomery, D.C., “Design and Analysis of Experiments 4th ed.”, **John Wiley&Sons**, USA, 1-17, 575-604 (1997).

Muter, O., Patmalnieks, A., Rapoport, A., “Interrelations of the yeast *Candida utilis* and Cr(VI): metal reduction and its distribution in the cell and medium”, **Process Biochemistry**, 36:963-970 (2001).

Nakiboğlu, T., Sevindir, H.C., “Deri endüstrisi atıksularından kromun çeşitli alglerle biyosorpsiyonu”, **Süleyman Demirel Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi**, 10 (2):284-291 (2006).

Ohmomo, S., Itoh, N., Watanabe, Y., Kaneko, Y., Tozawa, Y., Ueda, K., “Continuous decolorization of molasses wastewater with mycelia of *Coriolus versicolor* Ps4a”, **Agric. Biol. Chem.**, 49-9:2551-2555 (1985).

Onat, T.A., Gümüşdere, H.T., Güvenç, A., Dönmez, G., Mehmetoğlu, Ü., “Decolorization of textile azo dyes by ultrasonication and microbial removal”, **Desalination**, 255:154-158 (2010).

Özbelge, T., “Atıksu özellikleri ve analizleri”, Endüstriyel Atıksu Arıtımı 1.baskı, **Kimya Mühendisleri Odası**, Ankara Şubesi, 1-3 (1992).

Özcan, Y., “Tekstil Elyaf ve Boyama Tekniği”, *İstanbul Üniv.Yayınları*, İstanbul, 198-202, 414-433 (1978).

Pajot, H.F., de Figueroa, L.I.C., Fariña, J.I., “Dye-decolorizing activity in isolated yeasts from the ecoregion of Las Yungas (Tucumán, Argentina), *Enzyme and Microbial Technology*, 40(6):1503-1511 (2007).

Park, C., Lee, M., Lee, B., Kim, S.W., Chase, H.A., Lee, J., Kim, S., “Biodegradation and biosorption for decolorization of synthetic dyes by *Funalia trogl*”, *Biochemical Engineering Journal*, 36 (1):59-65 (2007).

Pas, M., Milacic, R., Draslar, K., Raspor, P., “Uptake of chromium (III) and chromium (VI) compounds in the yeast cell structure”, *Biometals*, 17 : 25-33, (2004).

Pazouki, M., Najafpour, G., Hosseini, M.R., “Kinetic models of cell growth, substrate utilization and bio-decolorization of distillery wastewater by *Aspergillus fumigatus* U_{B2}60”, *African Journal of Biotechnology*, 7(9):1369-1376 (2008).

Pekin, B., “Biyokimya Mühendisliği”, *Ege Üniversitesi Matbaası*, İzmir, 417-430 (1979).

Rai, H.S., Bhattacharyya, M.S., Singh, J., Bansal, T.K., Vats, P., Banerjee, U.C., “Removal of dyes from the effluent of textile and dyestuff manufacturing industry: A review of emerging techniques with reference to biological treatment”, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 35: 219-238 (2005).

Ramalho, P.A., Scholze, H., Cardoso, M.H., Ramalho, M.T., Oliveira-Campos, A.M., “Improved conditions for the aerobic reductive decolourisation of azo dyes by *Candida zeylanoides*”, *Enzyme and Microbial Technology*, 31: 848-854(2002).

Resmi Gazete “Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği”, Sayı 25687, 31 Aralık Cuma (2004).

Robinson, T. McMullan, G. Marchant, R. and Nigam, P., “Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative”, *Bioresource Technology*, 77: 247-255 (2001).

Sadettin, S., Dönmez, G., “Simultaneous bioaccumulation of reactive dye and chromium (VI) by using thermophil Phormidium sp.”, *Enzyme and Microbial Technology*, 41: 175-180 (2007).

Sağlam, N., Cihangir, N., “Ağır metallerin biyolojik süreçlerle biyosorpsiyonu çalışmaları”, *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 11:157-161 (1995).

Saratale, R.G., Saratale, G.D., Chang, J.S., Govindwr,S.P., “Decolorization and biodegradation of tetile dye Navy blue HER by *T. beigellii* NCIM-3326” , **J. of Hazardous Materials**, 166:1421-1428 (2009).

Scragg, A.H., “Bioreactors in Biotechnology”, **Ellis Harwood Ltd.**, England, 45-52 (1991).

Segel, I., “Enzyme Kinetics”, 1. Baskı, **John Wiley & Sons**, Canada, 100-176 (1975).

Shuler, M.L., Kargı, F., “Bioprocess Engineering”, 2. Baskı, **Prentice Hall**, Amerika, 173-196 (2002).

Slokar, Y. M., Marechal, M. L., “Methods of decoloration of textile wastewaters”, **Dyes and Pigments**, 37(4): 335-356 (1998).

Tanyolaç, A., “Biyolojik arıtım yöntemleri”, Endüstriyel Atıksu Arıtımı 1.baskı, **Kimya Mühendisleri Odası**, Ankara Şubesi, 88-89 (1992).

Ting, Y.P., Lawson, F., Prince, J.G., “Uptake of cadmium and zinc by the alga *Chlorella vulgaris*; Part 1 Individual ion species”, **Biotechnology and Bioengineering**, 34 : 990-999 (1989).

Tondee, T., Sirianuntapiboon, S., Ohmomo, S., “Decolorization of molasses wastewater by yeast strain, *Issatchenkia orientalis* No.SF9-246”, **Bioresource Technology**, 99: 5511-5519 (2008).

Türker, M., “Biyoreaksiyon Mühendisliği”, **Su Vakfı Yayınları**, Kocaeli, 31-40 (2005).

İnternet: Türkiye Şeker Fabrikaları A.Ş. “Melas”
<http://www.turkseker.gov.tr/Urunler.aspx?KOD=01.02> (2010).

Varma, R. J., Gaikwad, B. G., “Rapid and high biodegradation of phenols catalyzed by *Candida tropicalis* NCIM 3556 cells” **Enzyme and Microbial Technology**, 43: 431-435 (2008).

Vijaykumar, M.H., Veeranagouda, Y., Neelakanteshwar, K., Karegoudar,T.B., “ decolorization of 1:2 metal complex dye Acid blue 193 by a newly isolated fungus, *Cladosporium cladosporioides*”, **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, 22: 157-162 (2006).

Wase, D.A., “Biosorbents for metal ions”, **CRC Pres**, 69 (1997).

Walker, G., “Yeast Physiology and Biotechnology”, **John Wiley & Sons**, England, 266 (1999).

Xin,B., Chen,G., Zheng,W., “Bioaccumulation of Cu-complex reactive dye by growing pellets of *Penicillium oxalicum* and its mechanism”, **Water Research**, 1-8 (2010).

Yalçın, H., Gürü, M., “Su Teknolojisi”, **Palme Yayıncılık**, Ankara, 3-10 (2002).

Yang, Q., Yang, M., Pritsch, K., Yediler, A., Schlöter, M., Kettrup, A., “Decolorization of synthetic dyes and production of manganese-dependent peroxidase by new fungal isolates”, **Biotechnology Letters**, 25: 709-713 (2003).

Yang, Q., Yediler, A., Yang, M., Kettrup, A., “Decolorization of an azo dye, Reactive Black 5 and MnP production by yeast isolate: *Debaryomyces polymorphus*”, **Biochemical Engineering Journal**, 24: 249-253 (2005).

Yang, Q., Tao, L., Yang, M., Zhang, H., “Effects of glucose on the decolorization of Reactive Black 5 by yeast isolates”, **J.of Environmental Sciences**, 20: 105-108 (2008).

Yılmaz, P., Saraçoğlu, N., “Bioaccumulation and biosorption of copper(II) and chromium(III) from aqueous solutions by *Pichia stipitis* yeast”, **J.Chem.Technol.Biotechnol.**, 84: 604-610 (2009).

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

Zetic, V.G., Stehlik-Tomas, V., Grba, S., Lutilsky, L., Kozlek, D., “Chromium uptake by *Saccharomyces cerevisiae* and isolation of glucose tolerance factor from yeast biomass”, **J.Bioscience**, 26(2): 217-223 (2001).

EKLER

EK-1. Mikroorganizma kuru ağırlık tayini

Mikroorganizmanın kuru ağırlığı ile absorbansı arasındaki ilişkiyi belirlemek için, büyüme ortamından belli zaman aralıklarında alınan 5 ml'lik örneklerin 600 nm dalga boyunda UV spektrofotometrede absorbansları ölçülür ve aşağıda belirtilen işlem basamakları takip edilir:

- Örnekler tartımı bilinen tüplere konarak 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek üstteki sulu kısım atılır.
- Üzerine % 0,9'luk NaCl çözeltisinden 5 mL ilave edilerek tekrar 2000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilir.
- Üstteki sulu kısım pipetle çekilip alınır. Tüpler 90 °C'de 20 saat süre ile kurutulur.
- Tüpler soğuması için içinde CaCl₂ olan bir desikatöre konur. Daha sonra tüplerin ağırlıkları tartılır ve tüp ağırlıkları arasındaki farktan mikroorganizmanın kuru ağırlığı elde edilir.

EK-2. Melasta indirgen şeker analizi

İndirgen şeker analizinde kullanılan çözeltiler ve analiz metodu aşağıda verilmiştir.

Analiz Çözeltileri:

DNS çözeltisi : %1 3,5-dinitrosalisilik asit

%1 Sodyum hidroksit (NaOH)

%2 fenol

% 0,005 sodyum sülfid

Rochelle tuzu çözeltisi :% 40 sodyum potasyum tartarat (Rochelle tuzu)

% 1 3,5-dinitrosalisilik asit, % 1 sodyum hidroksit, % 2 fenol, % 0,005 sodyum sülfid içerecek şekilde DNS belirteci ve % 40 sodyum potasyum tartarat çözeltisi ayrı ayrı hazırlanır. DNS belirteci, içerdiği sülfidin atmosferik oksijen tarafından oksitlenmesi ile bozulur, bu nedenle DNS belirteci sülfidsiz hazırlanıp, kullanılacağı zaman gerekli miktarda tartılıp eklenir.

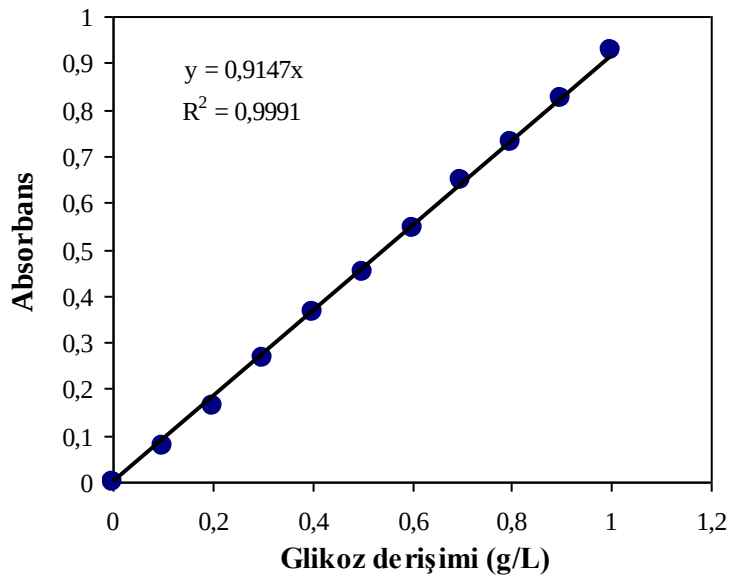
İndirgen şeker analizi için 0-0,5 g/L aralığında indirgen şeker içeren 1 mL numune 20 mL'lik deney tüpüne konarak üzerine 2 mL DNS belirteci eklenir ve tüpün ağzı kapatılarak kaynamakta olan su banyosunda 15 dakika bekletilir, oluşan renk değişimini sabitlemek için 1 ml Na-K-tartarat çözeltisi eklenir ve tüpler oda sıcaklığına soğutulur. Daha sonra tüpteki çözeltinin üzerine 10 mL saf su eklenerek 550 nm'de UV spektrofotometrede indirgen şeker içermeyen referans çözeltiye karşı absorbansı okunur. Referans çözelti olarak, 1 mL örnek yerine 1 ml saf su konulan ve aynı işlemlerden geçirilen çözelti kullanılır.

Absorbanstan derişim birimine geçebilmek amacıyla 0-1 g/L aralığında derişime sahip glukoz çözeltileri hazırlanarak yukarıdaki işlemlerden geçirilir ve absorbansı

EK-2. (Devam) Melasta indirgen şeker analizi

okunur. Daha sonra derişime karşı absorbans grafiğı çizilerek derişim ile absorbans arasında aşğıdaki gibi bir bağıntı elde edilir.

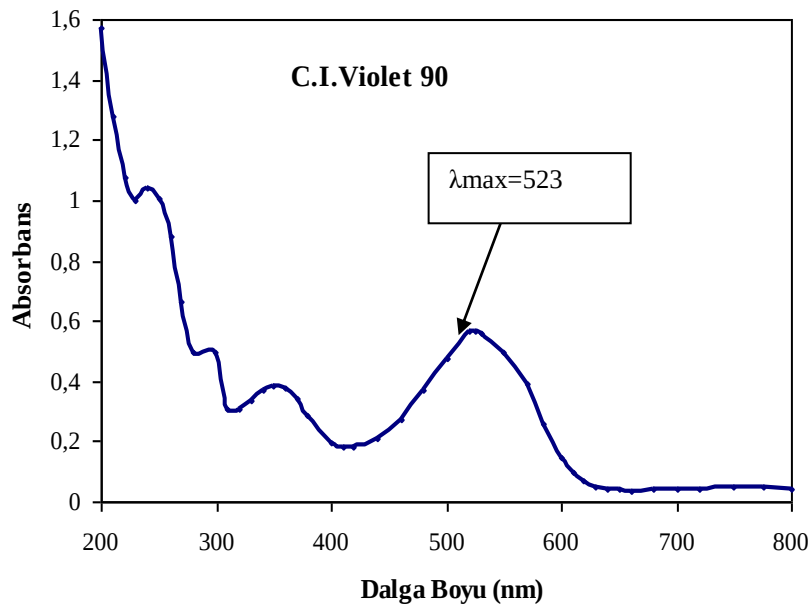
$$\text{Absorbans} = 0,9147 \times \text{İndirgen Şeker Derişimi (g/L)}$$



Şekil 2.1 İndirgen şeker tayini için kullanılan çalışma doğrusu

EK-3. Boyarmadde derişiminin belirlenmesi

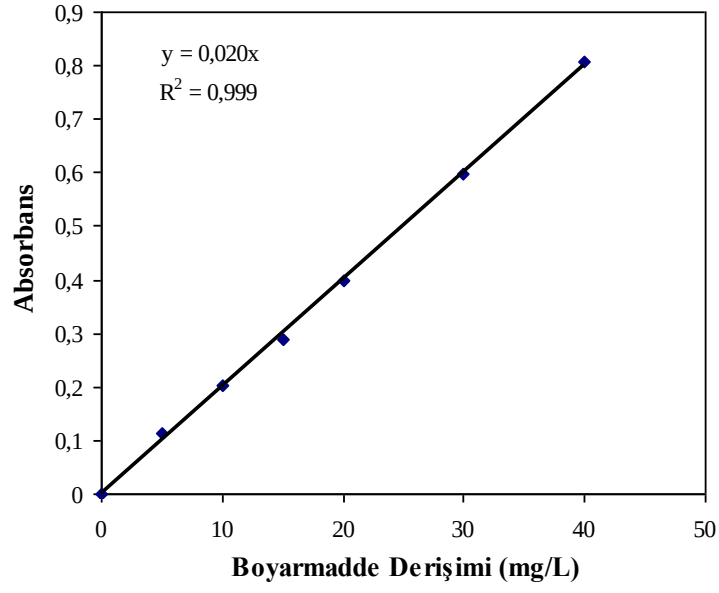
Boyarmadde derişimini belirlemek için öncelikle boyarmadde içeren örnek, UV spektrofotometrede 200-800 nm dalga boyu aralığında taratılmıştır (Şekil 5.3). Boyarmadde için, görünür bölgedeki (400 - 700 nm) en yüksek pik 523 nm’de görülmüştür.



Şekil 3.1. C.I. Violet 90 boyarmaddesinin dalga boyuna karşı absorbens grafiği

Besin ortamı olarak melas kullanılan deneylerde, boyarmadde derişimi UV spektrometrede, 523 nm’de, deney ortamıyla aynı derişimde melas içeren referansa karşı absorbens okunarak belirlenmiştir. Absorbanstan derişim birimine geçebilmek amacıyla çalışma doğrusu oluşturulmuştur. Bu amaçla 0-40 mg/L aralığında derişime sahip boyarmadde çözeltileri hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin absorbensları UV spektrometrede okunarak derişime karşı absorbens grafiği (Şekil 3.2) çizilmiş ve derişim ile absorbens arasında bir bağıntı elde edilmiştir.

EK-3. (Devam) Boyarmadde derişiminin belirlenmesi



Şekil 3.2. C.I Violet 90 boyarmaddesi tayini için kullanılan çalışma doğrusu

EK-4. Krom derişiminin belirlenmesi

Deney süresince alınan numullerdeki krom, Cr (VI)'nın asidik ortamda difenilkarbazid ile reaksiyonu sonucu renk oluşumuna göre spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda absorbansı ölçülerek belirlenmiştir.

Analiz için kullanılan çözeltiler:

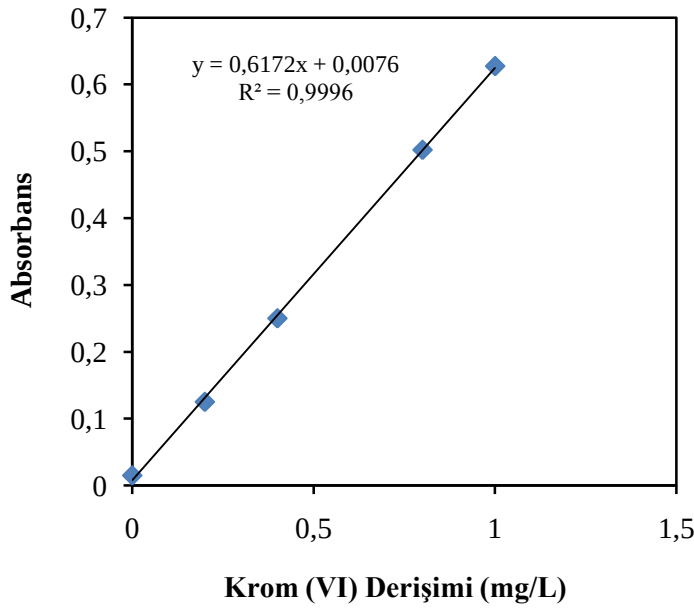
- Nitrik asit, HNO₃ (% 65)
- Sülfürik Asit, H₂SO₄ (1+1)
- Amonyum Hidroksit, NH₄OH (% 32)
- Potasyum permanganat çözeltisi, KMnO₄ (4 gram KMnO₄ 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır)
- Sodyum Azid çözeltisi, NaN₃ (0,5 g NaN₃ 100 mL saf suda çözülerek hazırlanmıştır)
- 1,5 Difenil Karbazit çözeltisi, C₁₃H₁₄N₄O (0,25 g 1,5 Difenil Karbazit 50 mL asetonda çözülerek hazırlanmıştır)
- Krom sülfat, Cr₂(SO₄)₃·16 H₂O

Çalışma Doğrusunun Çizilmesi

Öncelikle 5 g/L stok standart bazik krom sülfat çözeltisi hazırlanır. Bu çözeltden 1 mL alınarak 100 mL'ye seyreltilerek 50 mg/L derişimde krom içeren çözelti hazırlanır. Hazırlanan bu çözeltden 0,4, 0,8, 1,2, 1,6 ve 2 mL'lik hacimler 100 mL'lik balon jöjelere alınır. Burada hacim yaklaşık 40 mL olacak şekilde ayarlanır ve potasyum permanganat ile Cr (III) 'ün Cr(VI)'ya yükseltgenme işlemi gerçekleştirilir (Cr(III)'ün Cr(VI)'ya yükseltgenmesi bölümüne bakın). Soğutulan örneklerin üzerine 2 mL (1+1)'lik H₂SO₄ eklenir ve son hacim 100 mL olacak şekilde seyreltilir. Bu şekilde sırasıyla 0,2, 0,4, 0,6, 0,8 ve 1 mg/L derişimde çözeltiler elde edilir. Bu çözeltilerin üzerine 2 mL 1,5 difenil karbazit çözeltisi eklenerek en az 5 dakika renk oluşması için beklenir.

EK-4. (Devam) Krom derişiminin belirlenmesi

Daha sonra UV spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda absorbansları okunarak absorbans ile derişim arasında bir bağıntı elde edilir.



Şekil 4.1. Krom (VI) tayininde kullanılan çalışma grafiğı

Toplam krom ve krom (III) tayini

Sudaki toplam krom tayini, ortamdaki Cr(III)'ün potasyum permanganat ile Cr(VI)'ya yükseltgenmesi ile belirlenmektedir. Başlangıçta ortamda sadece krom (III) olduğundan toplam krom, krom (III)'e eşit alınmıştır. Ancak numune ortamında melas ve dolayısıyla organik madde varken potasyum permanganat ile yükseltgenme işlemi gerçekleştirilememektedir. Bu nedenle potasyum permanganat ile yükseltgeme işleminden önce ortamdaki organik maddenin $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$ ile parçalanması gerekmektedir. UV spektrofotometre cihazında okuma yapılırken referans olarak, krom içermeyen ve örnekle aynı derişimde melas içeren çözelti kullanılmıştır ve örnekle aynı işlemler uygulanmıştır. Krom tayini Şekil 5.8'de şematik olarak gösterilmiştir.

EK-4. (Devam) Krom derişiminin belirlenmesi

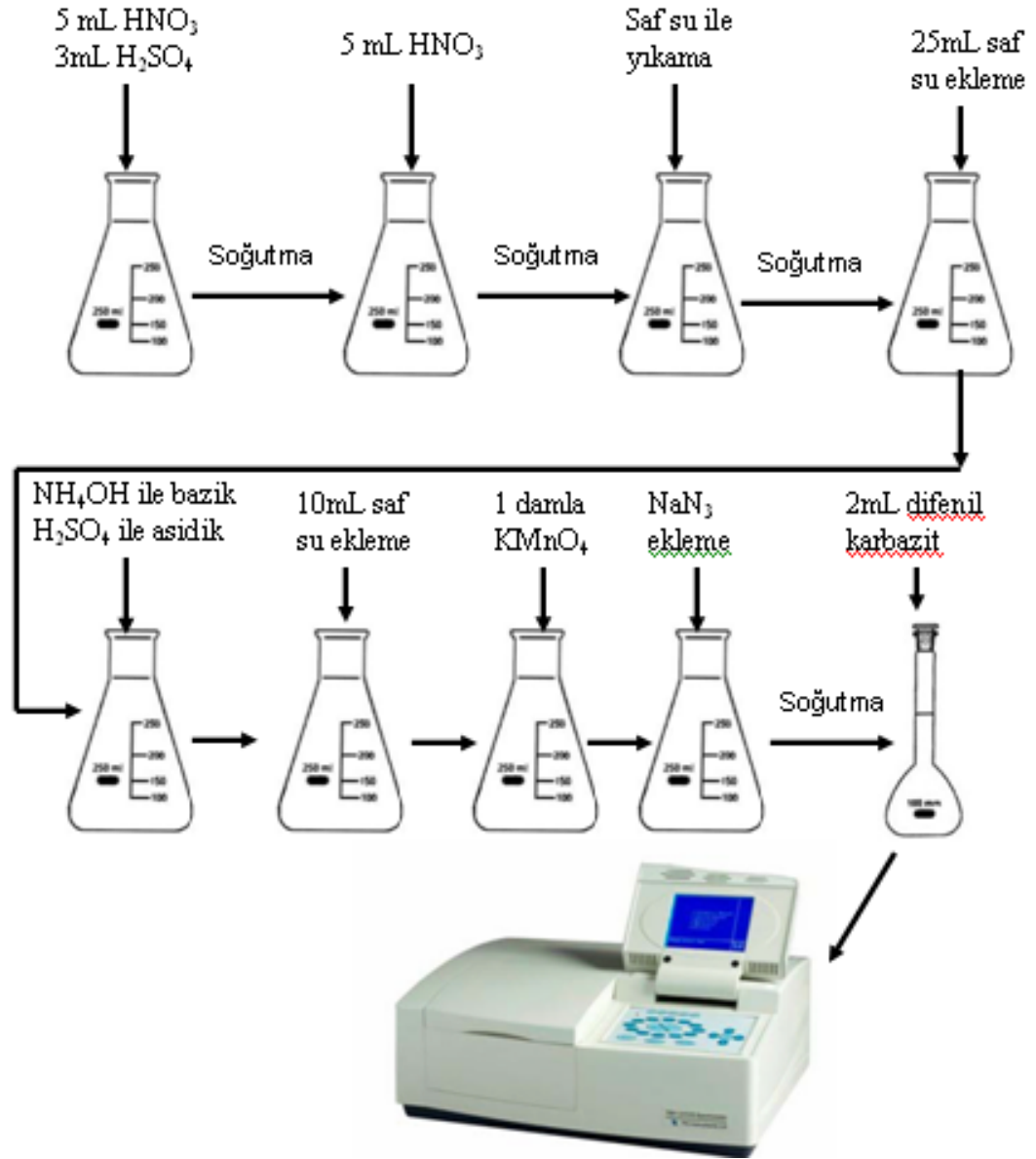
Organik maddenin parçalanması :

Organik maddenin parçalanması işlemi için deney numunesinden alınan 1 mL'lik örnek 250 mL'lik erlene konarak üzerine 5 mL HNO_3 ve 3 mL H_2SO_4 eklenerek beyaz buharlar çıkıncaya kadar ısıtılır. Yavaşça soğutulur ve üzerine tekrar 5 mL HNO_3 eklenerek beyaz buharlar çıkıncaya kadar tekrar kaynatılır. Yavaşça soğutulur ve erlenin iç kenarları saf su ile yıkanarak tekrar kaynatılır. Numune yavaşça soğutulur ve üzerine yaklaşık 25 mL saf su eklenir.

Cr(III)'ün Cr(VI)'ya yükseltgenmesi :

Organik madde parçalama işlemi bittikten sonra çözeltinin üzerine bazik olana kadar NH_4OH eklenir ve asidik olana kadar H_2SO_4 eklenir. Asitin 1 mL fazlası eklenir. Çözelti hacmi 40 mL'ye ayarlanarak içine 1 damla potasyum permanganat çözeltisi eklenir ve erlenin üzeri saat camı ile kapatılarak kaynatılır. Eğer pembe renk hemen kaybolursa 1 damla daha potasyum permanganat çözeltisi eklenir ve 2 dakika kaynatıldıktan sonra üzerine 1 mL sodyum azid çözeltisi eklenerek rengin kaybolması beklenir. Eğer renk kaybolmamışsa 1 mL daha sodyum azid çözeltisi konur ve çözelti 1 dakika daha kaynatılır. Renk kaybolunca çözelti soğutulur. Soğutulan çözelti 100 mL'lik balon jojeye konur ve 100 mL'ye seyreltilir. Üzerine 2 mL 1,5 difenil karbazit çözeltisi eklenerek en az 5 dakika renk oluşması için beklenir. Daha sonra UV spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda absorbanları okunarak, çalışma grafiği yardımıyla krom derişimi hesaplanır.

EK-4. (Devam) Krom derişiminin belirlenmesi



Şekil 4.2 Krom analiz yöntemi

EK-5. ANOVA analiz sonuçları

Use your mouse to right click on individual cells for definitions

Response 2% BM giderimi**ANOVA for Response Surface Quadratic Model****Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]**

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	262.75	5	52.55	20.70	0.0005 significant
<i>A-BM Derisimi (mg/L)</i>	<i>218.91</i>	<i>1</i>	<i>218.91</i>	<i>86.25</i>	<i>< 0.0001</i>
<i>B-Krom Derisimi (mg/L)</i>	<i>27.76</i>	<i>1</i>	<i>27.76</i>	<i>10.94</i>	<i>0.0130</i>
<i>AB</i>	<i>3.06</i>	<i>1</i>	<i>3.06</i>	<i>1.21</i>	<i>0.3083</i>
<i>A²</i>	<i>7.96</i>	<i>1</i>	<i>7.96</i>	<i>3.14</i>	<i>0.1198</i>
<i>B²</i>	<i>3.46</i>	<i>1</i>	<i>3.46</i>	<i>1.36</i>	<i>0.2814</i>
Residual	17.77	7	2.54		
<i>Lack of Fit</i>	<i>8.58</i>	<i>3</i>	<i>2.86</i>	<i>1.24</i>	<i>0.4045 not significant</i>
<i>Pure Error</i>	<i>9.19</i>	<i>4</i>	<i>2.30</i>		
Cor Total	280.52	12			

The Model F-value of 20.70 implies the model is significant. There is only a 0.05% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise. Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case A, B are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model. The "Lack of Fit F-value" of 1.24 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 40.45% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	1.59	R-Squared	0.9367
Mean	18.28	Adj R-Squared	0.8914
C.V. %	8.71	Pred R-Squared	0.7314
PRESS	75.34	Adeq Precision	14.221

The "Pred R-Squared" of 0.7314 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.8914. "Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 14.221 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

EK-5. (Devam) ANOVA analiz sonuçları

Coefficient Factor	Estimate	df	Standard Error	95% Low	CI	95% High	CI	VIF
Intercept	18.06	1	0.71	16.38		19.74		
A-BM Derisimi (mg/L)	-5.23	1	0.56	-6.56		-3.90		1.00
B-Krom Derisimi (mg/L)	-1.86	1	0.56	-3.19		-0.53		1.00
AB	0.88	1	0.80	-1.01		2.76		1.00
A ²	1.07	1	0.60	-0.36		2.50		1.02
B ²	-0.70	1	0.60	-2.13		0.72		1.02

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\% \text{ BM giderimi} = +18.06 - 5.23 * A - 1.86 * B + 0.88 * A * B + 1.07 * A^2 - 0.70 * B^2$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned} \% \text{ BM giderimi} = & +37.20779 - 0.22522 * \text{BM Derisimi (mg/L)} \\ & - 0.031712 * \text{Krom Derisimi (mg/L)} \\ & + 7.00000\text{E-}004 * \text{BM Derisimi (mg/L)} * \text{Krom Derisimi (mg/L)} \\ & + 4.28000\text{E-}004 * \text{BM Derisimi (mg/L)}^2 \\ & - 1.12800\text{E-}003 * \text{Krom Derisimi (mg/L)}^2 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node. In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.

- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

EK-5. (Devam) ANOVA analiz sonuçları

Use your mouse to right click on individual cells for definitions.

Response 3 % Krom giderimi

ANOVA for Response Surface Quadratic Model
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source		Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model		36.96	5	7.39	5.10	0.0273 significant
A-BM (mg/L)	Derisimi	0.21	1	0.21	0.14	0.7176
B-Krom (mg/L)	Derisimi	23.46	1	23.46	16.20	0.0050
AB		4.67	1	4.67	3.23	0.1156
A ²		8.44	1	8.44	5.83	0.0465
B ²		1.256E-003	1	1.256E-003	8.671E-004	0.9773
Residual		10.14	7	1.45		
Lack of Fit		3.47	3	1.16	0.69	0.6025 not significant
Pure Error		6.67	4	1.67		
Cor Total		47.10	12			

The Model F-value of 5.10 implies the model is significant. There is only a 2.73% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise. Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case B, A² are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model. The "Lack of Fit F-value" of 0.69 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 60.25% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	1.20	-Squared	0.7847
Mean	5.91	Adj R-Squared	0.6309
C.V. %	20.38	Pred R-Squared	0.2550
PRESS	35.09	Adeq Precision	7.546

The "Pred R-Squared" of 0.2550 is not as close to the "Adj R-Squared" of 0.6309 as one might normally expect. This may indicate a large block effect or a possible problem with Ek-5. (Devam) ANOVA analiz sonuçları

your model and/or data. Things to consider are model reduction, response tranformation, outliers, etc."Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 7.546 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

EK-5. (Devam) ANOVA analiz sonuçları

Factor		Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept		6.58	1	0.54	5.30	7.85	
A-BM (mg/L)	Derisimi	0.16	1	0.43	-0.85	1.17	1.00
B-Krom (mg/L)	Derisimi	-1.71	1	0.43	-2.72	-0.71	1.00
AB		-1.08	1	0.60	-2.50	0.34	1.00
A ²		-1.10	1	0.46	-2.18	-0.023	1.02
B ²		0.013	1	0.46	-1.07	1.09	1.02

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\% \text{ Krom giderimi} = +6.58 + 0.16 * A - 1.71 * B - 1.08 * A * B - 1.10 * A^2 + 0.013 * B^2$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned} \% \text{ Krom giderimi} = & +1.00517 + 0.13456 * \text{BM Derisimi (mg/L)} \\ & +0.015807 * \text{Krom Derisimi (mg/L)} \\ & -8.64600\text{E-}004 * \text{BM Derisimi (mg/L)} * \text{Krom Derisimi (mg/L)} \\ & -4.40625\text{E-}004 * \text{BM Derisimi (mg/L)}^2 \\ & +2.15000\text{E-}005 * \text{Krom Derisimi (mg/L)}^2 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node. In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.

- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, Adı: OKUR, Müjgan

Uyruğu: T.C.

Telefon: 0 (312) 582 35 14

Fax: 0 (312) 230 84 34

Email: mtelli@gazi.edu.tr

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek Lisans	Gazi Üniv./ Kimya Müh. Böl.	2004
Lisans	Eskişehir Osmangazi Üniv./ Kimya Müh. Böl.	2000

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2001-	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

A.Uluslararası Hakemli Dergilerde Yayımlanan Makaleler

1)Telli Okur, M., Eken-Saraçoğlu, N., "Ethanol production from sunflower seed hulls hydrolysate by *Pichia stipitis* under uncontrolled pH conditions in bioreactor", **Turkish J. of Engineering & Environ. Sci.**, 30, 317-322 (2006).

2)Telli Okur, M., "Ayçiçeği kabuğu hemiselülozik hidrolizatına adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile alkol üretimine zehir giderme ön işlemlerinin etkisi", **Gazi Ü. Müh. Mim. Fak. Dergisi**, 22, 385-391 (2007).

3)Telli Okur, M., Eken-Saraçoğlu, N., "Fermentation of sunflower seed hull hydrolysate to ethanol by *Pichia stipitis*", **Bioresource Technology**, 99(7), 2162-2169 (2008).

B.Kongre ve Sempozyum Bildirileri

B1 Tam Metni Basılan Bildiriler

1)Telli Okur, M., Eken Saraçoğlu,N., "Ayçiçeği Kabuğu hemiselülozik hidrolizatından *Pichia stipitis* mayası ile etanol üretimine, farklı zehir giderme ön işlemlerinin ve proses koşullarının etkisi", **7. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi**, 5-8 Eylül, Eskişehir, (2006).

2)Telli Okur, M., Eken Saraçoğlu, N., Aksu, Z., "C.I. Violet 90 Boyarmaddesinin *Saccharomyces cerevisiae* ile Kesikli Sistemde Giderimi", **9. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi**, 22-25 Haziran, Ankara, (2010).

B2 Özeti Basılan Bildiriler

1)Telli Okur, M., Eken Saraçoğlu,N., Gürler,S., Kılar,S., Kaya,T., "Fındık kabuğunun HCl ile hidrolizinin deneysel tasarım metodu ile incelenmesi", **7. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi**, 5-8 Eylül, Eskişehir, (2006).

2) Kayacan, İ., Telli Okur, M., "Tekstil Atıksularındaki Boyarmaddelerin At Kestanesi Ve Ayçiçeği Kabukları Kullanılarak Gideriminin Araştırılması", **9. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi**, 22-25 Haziran, Ankara, (2010).

C) PROJELER

1) N. Saraçoğlu, M. Telli, O. Jargalsaikhan, Ayçiçeği Kabuğu Hemiselüloz Hidrolizatından Mayalar Yardımıyla Etanol Eldesi, TÜBİTAK destekli proje (MİSAG-152), (2002).

2)N. Saraçoğlu, M. Telli Okur, " Tekstil Endüstrisi Atıksularındaki Boyarmaddelerinin *Saccharomyces cerevisiae* ve *Pichia stipitis* Mayalarıyla Gideriminin Araştırılması", Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi, (06/2007-56), (2007).

3)N. Saraçoğlu, M. Telli Okur, "Tekstil endüstrisi atıksularındaki boyarmaddelerin *Candida tropicalis* mayasıyla gideriminin kesikli sistemde araştırılması", Gazi Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projesi, (06/2009-35), (2010).