

Makalenin Geliş Tarihi : 04.08.2009  
Makalenin Kabul Tarihi : 01.09.2009

## **TRAMETES VERSICOLOR BİYOKÜTLESİ İLE REAKTİF RED 198 BOYARMADDESİNİN BİYOSORPSİYONU**

Gökhan GÜNGÖRMEDİ<sup>1</sup>, Samet ŞAŞMAZ<sup>1</sup>, Pınar AY TAR<sup>1</sup>, Serap GEDİKLİ<sup>1</sup>,  
Arzu ÜNAL<sup>2</sup>, Ahmet ÇABUK<sup>3</sup>, Nazif KOLANKAYA<sup>4</sup>

**ÖZET :** *Tekstil endüstrisinde kullanılan büyük miktarda boyarmadde üretim sonunda doğal yaşam ortamına deşarj edilmekte bu da çevre ve insan sağlığı ile ilgili tehlikeler meydana getirmektedir. Bu boyarmaddelerin sebep olduğu kirliliğin biyolojik yöntemlerle azaltılması mümkündür. Bu çalışmada, Reaktif Red 198 boyarmaddesinin Trametes versicolor ATCC 200801'in kuru biyokütlesi ile biyosorpsiyonu çalışılmış ve en uygun koşullar belirlenmiştir. Yapılan çalışma sonucunda pH 2,0, biyokütle miktarı 0,4 g, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/l, temas süresi 20 dk, çalkalama hızı 100 r.p.m., sıcaklık 35 °C olarak seçilmiştir. Optimum koşullarda en yüksek %92,57 verim elde edilmiştir. Ayrıca yapılan FTIR analizleri ile T. versicolor fungal biyokütlesinin sahip olduğu ve Reaktif Red 198 biyosorpsiyonunda etkili olabilecek fonksiyonel gruplar belirlenmiştir.*

**ANAHTAR KELİMELER:** *Reaktif Red 198, Trametes versicolor, boyarmadde, biyosorpsiyon*

## **BIOSORPTION OF DYESTUFF REACTIVE RED 198 WITH BIOMASS OF TRAMETES VERSICOLOR**

**ABSTRACT :** *Large quantities of dyes used in the textile industry are discharged to natural life at the end of manufacturing and processing operations which turn out much hazard related to environment and human health. Pollution causing these dyestuffs is possible to reduce with biological methods. In this work, biosorption of Reactive Red 198 dyestuff is studied with dry biomasses of Trametes versicolor ATCC 200801 and optimum conditions are determined. At result of study done, it is chosen pH 2,0, biomass amount 0,4 g, initial dye concentration 75 mg/l, contact time 20 minutes, agitation rate 100 r.p.m, temperature 35 °C. Maximum yield 92,57% is acquired at optimum conditions. Also, potential functional groups of T.versicolor biomass and efficient at biosorption of Reactive Red 198 were determined with FTIR analysis.*

**KEYWORDS :** *Reactive Red 198, Trametes versicolor, dyestuff, biosorption*

<sup>1</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, 26480 ESKİŞEHİR.

<sup>2</sup>Tarım ve Köy İşleri Bakanlığı, Tarımsal Araştırmalar Genel Müd., Tarla Bitkileri Araştırmaları Dai.,Yenimahalle 06171 ANKARA

<sup>3</sup>Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Meşelik Kampüsü, 26480 ESKİŞEHİR

<sup>4</sup>Hacettepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, 06532 ANKARA

## ***I. GİRİŞ***

Tekstil, kağıt ve matbaa gibi endüstrilerin atık suları sentetik boyarmaddeler içermeleri nedeni ile çevresel kirlilik oluşturmaktadır [1]. Dünyada her yıl tekstil endüstrisi kaynaklı çıkış suyunda yaklaşık 1000 ton boya ve boyarmadde yakın çevrede bulunan sulara atılarak işletmeden uzaklaştırılmaktadır [2]. Sulak alanlara karışan bu boyarmaddeler yayılmakta ve içerisinde yaşayan canlı popülasyona büyük zararlar vermektedir. İlk gözle görülebilir etkisi, suyun renginde meydana gelen değişme ve buna bağlı olarak su içerisindeki fotosentez olayının durması ya da çok azalmasıdır. Ayrıca bazı boyarmaddelerin mutajenik ve/veya kanserojenik etkileri de vardır [3,4]. Fotosentezin olmaması suyun içerisindeki çözülmüş oksijen miktarının çok azalmasına ve dolayısıyla aerobik mikroorganizmaların yerini anaerobik mikroorganizmaların almasına, sonuçta ortamda anaerobik mikroorganizmaların çoğalması da kötü kokulu bileşiklerin oluşmasına sebep olmaktadır. Ayrıca oksijen azlığı, oksijene gereksinimi olan diğer canlıların yaşamları için de önemli oranda tehlike oluşturabilmektedir [3, 4]. Reaktif boyarmaddeler yüksek oranda suda çözülebilen anyonik bileşiklerdir ve tekstil kumaşlarına kovalent olarak bağlanırlar. Işığa, ısıya, oksidasyona ve biyolojik parçalanmaya karşı dirençlidirler [5, 6].

Boyarmadde içeren atık sular genellikle, 5-1500 mg/l konsantrasyonda reaktif boyarmadde içermektedir. Bu nedenle boyarmadde ile kontamine olmuş endüstriyel çıkış sularının iyileştirilmesi, çevre sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır [7].

Adsorpsiyon, biyosorpsiyon, koagülasyon, çöktürme, membran filtrasyon, solvent ekstraksiyon ve kimyasal oksidasyon olarak bilinen çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler, boyarmadde içeren atık suların iyileştirilmesinde uzun bir süredir kullanılmaktadır [8-10]. Günümüzde su arıtımında biyolojik sistemlerin kullanımı giderek artmaktadır. Bu durumun en önemli etkenlerinden bir tanesi, kimyasal arıtım sırasında ya da sonrasında toksik maddeler oluşabilmesidir. Ayrıca, renkli atıkların arıtımında geleneksel işlemlere göre potansiyel bir seçenek olarak görülen biyolojik sistemler, kimyasal sistemlere nazaran daha ekonomiktir [4]. Birçok bakteri ve fungus biyokütlesi, tekstil endüstrisine ait atık suların iyileştirilmesi amacıyla geliştirilen biyolojik süreçlerde başarıyla kullanılmıştır [11].

Bu kapsamda son yıllarda biyosorpsiyon teknolojileri önem kazanmıştır [12]. Biyosorpsiyon; iyon değişimi, sorpsiyon, kompleksleştirme, şelatlama, mikro çökelme, gibi çeşitli fizikokimyasal mekanizmalar sayesinde kirleticilerin alınımı olarak tanımlanabilir [13]. Biyosorpsiyon teknolojileri geleneksel yöntemlere göre daha düşük maliyetli, işletmesi karlı, uygulanması pratik ve yüksek verimli süreçler olduğundan son yıllarda geleceğe yönelik umut verici bir yaklaşım olarak kabul edilmektedir [14].

Pek çok biyolojik kökenli materyalin boyarmadde giderimi amacıyla kullanıldığı bilinmektedir. Örneğin; pirinç çeltiği, ağaç kabuğu ve portakal kabuğu gibi tarımsal yan ürünler [15-17] alg, fungus ve bakteri gibi mikrobiyolojik materyaller ile boyarmaddelerin uzaklaştırıldığı bildirilmiştir [18-20].

Ancak, boyarmadde atık sularının biyolojik iyileştirilmesinde bakterilerinin kullanımı ana bileşikten daha toksik olan aromatik aminlerin oluşturulması ile sonuçlanabilir [21, 22]. Bununla birlikte, bakteriler funguslara kıyasla daha zayıf adaptasyon özelliği göstermektedirler. Dolayısıyla boyarmadde biyosorpsiyonunda bakteriler sınırlı kullanım alanına sahiptir [21].

Biyokütle olarak kullanım potansiyeli olan makrofunguslar, kolay bulunabilir, ekonomik, asidik ve bazik koşullarda kimyasal stabiliteye sahip ve kurutulduğunda sert bir yapı gösterdiği için biyosorpsiyon çalışmalarında tercih sebebi olmaktadır [23, 24]. Sentetik boyarmadde içeren atık suların iyileştirilmesinde en etkili mikroorganizma gruplarından biri de beyaz çürükçül funguslardır. Bu funguslar basidiomisetlerin çok geniş bir ekofizyolojik grubunu oluşturmaktadır [25].

Bu çalışma kapsamında bir beyaz çürükçül fungus olan *Trametes versicolor* ATCC 200801 biyokütlesi kullanılarak, Reaktif Red 198 boyarmaddesinin biyosorpsiyonu, pH, biyokütle miktarı, çalkalama hızı, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu, inkübasyon süresi ve sıcaklık parametreleri açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca yapılan FTIR analizleri ile *T. versicolor* fungal biyokütlesinin sahip olduğu ve Reaktif Red 198 biyosorpsiyonunda etkili olabilecek fonksiyonel gruplar belirlenmiştir.

## II. MATERYAL ve YÖNTEM

### II.1. Besiyeri Ortamının Hazırlanması ve Mikroorganizmaların Kültürasyonu

#### II.1.1. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizma

Çalışmada *Basidiomycetes* sınıfına ait beyaz çürükçül funguslardan *Trametes versicolor* ATCC (200801) kullanılmıştır. Fungal kültürün korunması ve sürekliliğinin sağlanması için Malt-özütü-agar (Merck) katı besiyeri kullanılmış ve kültürler gerektiğinde kullanılmak üzere +4°C' de muhafaza edilmektedir.

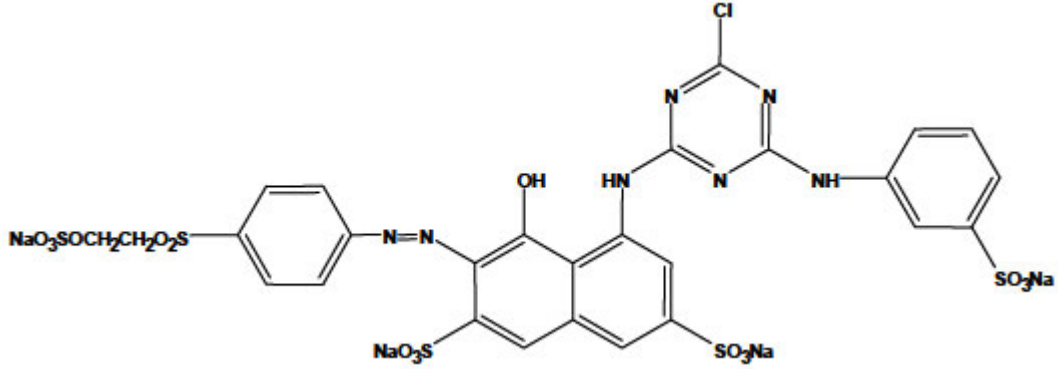
#### II.1.2. Mikroorganizmanın Üretimi

Çalışmada kullanılan fungusun aktivasyonu için Malt-özütü-agar kullanılmıştır. Deneylerde kullanılacak fungal biyokütlenin üretimi için Aktaş vd. 2001 tarafından karbon ve vitamin kaynakları modifiye edilmiş Vogel Minimal Sıvı Besiyeri ortamı kullanılmıştır [26].

Modifiye Vogel Minimal Sıvı besiyeri aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır. Ana stok çözeltisine (g/100 ml olarak; Na-sitrat: 15, Sitrik asid monohidrat: 2,5, ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 2,5, Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O: 0,5, CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O: 0,125, MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O: 0,025, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: 0,025, H<sub>3</sub>P[(Mo<sub>3</sub>O<sub>10</sub>)]H<sub>2</sub>O: 0,025) %1 (v/v) oranında eklenerek elde edilen karışıma daha sonra % 3 oranında glukoz (Merck) eklenip, 1 N HCl ile pH değeri 4,7' ye ayarlanmıştır. Bu şekilde hazırlanıp 250 ml'lik Erlenmeyer şişelerine 100 ml hacminde dağıtılan ve daha sonra 1,5 atm basınç altında 110 °C'de 25 dakika süreyle otoklavda sterilize edilen glukoz-mineral tuz çözeltilerine milipor filtrasyonu ile sterilize edilmiş, % 0,1 tiamin-HCl çözeltisinden %0,1 (v/v) oranında eklenmiştir. Önceden yatık malt özütü agarlı besiyerlerinde üretilen fungusların stok kültürlerinden, hazırlanan besiyeri ortamlarına ekim yapılmıştır. Yatık malt özütü agar stok kültürleri 5 ml steril distile su içerisinde süspanse edildikten sonra hazırlanan miselyum süspansiyonu steril koşullarda 100 ml besiyeri içeren 250 ml'lik Erlenmeyer şişelerine ekilmiştir. Kültürler 30 °C inkübasyon sıcaklığında 150 r.p.m. çalkalama hızında, 10 gün süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra oluşan pelletler kurutma kağıdı ile süzülmuş ve 45 °C' de 48 saat bekletilerek kurutulmuştur. Daha sonra öğütülerek 300 µm'lık eleklerden geçirilerek buzdolabında saklanmıştır.

## II.2.Çalışmada Kullanılan Boyarmadde ve Biyosorpsiyon için Uygun Koşulların Belirlenmesi

Reaktif Red 198 boyarmaddesinin kimyasal yapısı Şekil 1’de verilmektedir. Bu boyarmadde için öncelikle bir dalga boyu taraması yapılmış (Schimadzu UV-2550) ve en yüksek absorbans değeri 519 nm olarak bulunmuştur. Bundan sonraki çalışmalarda bu değer sabit tutularak ölçümler yapılmıştır.



Şekil 1. Reaktif Red 198'in kimyasal yapısı [27].

Reaktif Red 198 biyosorpsiyonu için optimum koşullarının belirlenmesi amacıyla; pH, biyokütle miktarı, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu, temas süresi, çalkalama hızı ve sıcaklık parametreleri çalışılmıştır.

Biyosorpsiyon çalışmasında toplam hacim 50 ml olacak şekilde 250 ml'lik Erlenmeyerlerde çalışılmıştır. Biyosorpsiyon çalışması sonunda 6000 r.p.m'de 5 dk santrifüj yapılarak süpernatant ve hücre ayrılmıştır ve renk gideriminin takibi için 519 nm dalga boyundaki absorbans değişimi spektrofotometre (Schimadzu UV-2550) kullanılarak belirlenmiştir. Tüm deneylerde kontrol grubu olarak biyokütle ilave edilmeyen boyarmadde çözeltileri kullanılmıştır.

Ortam pH değerinin biyokütle ile biyosorpsiyon üzerine etkisini belirlemek amacı ile geniş bir pH aralığında çalışılmıştır. Bu amaçla, 1-10 pH aralığında 50 mg/l boyarmadde içeren çözeltiler hazırlanmıştır. pH 1-2 için KCl-HCl tamponu, pH 3-5 için 0,2 M asetat tamponu, pH 6-10 için 0,2 M fosfat tamponu kullanılmıştır. Bu çözeltilerin içine 0,2 g kuru biyokütle ilave edilerek 30 dakika süreyle, 30°C sıcaklıkta ve 150 r.p.m.' de çalkalanmıştır.

Biyokütle miktarının biyosorpsiyon üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, 0,01-1,0 g aralığında değişen biyokütle miktarları ile çalışılmıştır. pH optimizasyonu sonucu belirlenen optimum değer olan pH 2,0 sabit tutulmuştur. Çalkalama hızı, inkübasyon sıcaklığı ve temas süresi sırasıyla 150 r.p.m, 30 °C ve 30 dk olacak şekilde çalışılmıştır.

Temas süresinin boyarmadde biyosorpsiyona etkisini belirlemek amacıyla, 3 dakikadan 90 dakikaya kadar geniş bir zaman aralığında çalışılmıştır. Önceden belirlenen pH (2,0) ve biyokütle miktarları (0,4 g) sabit tutularak 30 °C’de, 150 r.p.m. çalkalama hızında ve değişen sürelerde örnekler alınmıştır. Her bir süre değeri için birbirinden bağımsız deney grupları oluşturulmuştur.

Başlangıç boyarmadde konsantrasyonunun *T. versicolor* biyokütlelerinin Reaktif Red 198 giderim kapasiteleri üzerine etkisini araştırmak amacıyla, Reaktif Red 198’in başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 10-300 mg/l aralığında değiştirilmiş ve daha önceden belirlenen tüm koşullar sabit tutulmak kaydı ile pH 2,0, 0,4 g biyokütle miktarı ve 20 dakika süre ile 30 °C’de 150 r.p.m.’de çalışılmıştır.

Çalkalama hızının Reaktif Red 198 boyarmadesinin biyosorpsiyonunda daha önceden belirlenen tüm koşullar sabit tutulmak şartı ile pH 2,0, biyokütle miktarı 0,4 g, temas süresi 20 dakika ve başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/l’de çalışılmıştır. Çalkalama hızının etkisini belirleyebilmek için durgun ve 200 r.p.m.’e kadar artırılan farklı çalkalama hızlarında çalışılmıştır.

Ortam sıcaklığının biyosorpsiyon üzerine etkisini belirlemek için 20-60 °C aralığında değişen sıcaklıklar denenmiştir. Daha önceden yapılan optimizasyon çalışmaları sonucu elde edilen koşullar pH 2,0, biyokütle miktarı 0,4 g, 20 dakika, 75 mg/l, 100 r.p.m. sabit tutularak çalışılmıştır.

Tüm denemeler 3 tekrarlı ve birbirinden bağımsız olarak oluşturulan deney grupları ile yapılmıştır.

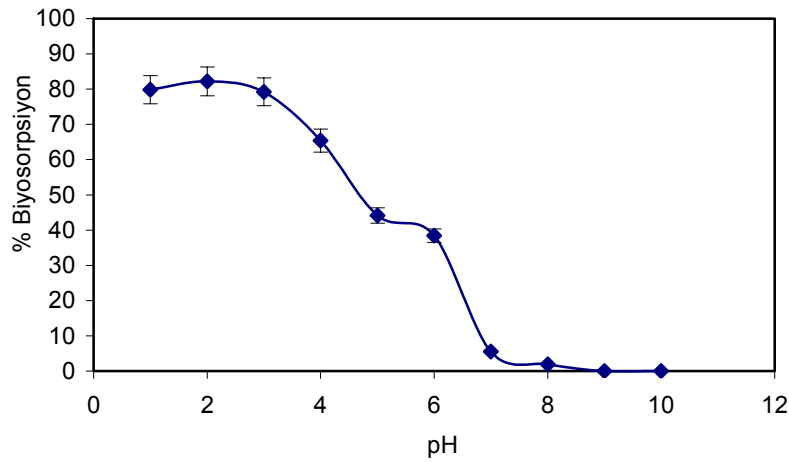
### ***II.3. Biyosorpsiyon için etkin grupların belirlenmesi***

Bu çalışmada biyosorbent olarak kullanılan *T. versicolor* fungal biyokütlesinin yüzeyinde bulunan ve Reaktif Red 198 ile etkileşime girebilecek olası grupların belirlenmesi için fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) analizleri yapılmıştır. FTIR analizleri için kuru fungal

biyokütle ile hazırlanan KBr diskleri kullanılmıştır. Analizler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü Moleküler Sentezleme ve FTIR Spektroskopi Araştırma Laboratuvarında, Perkin Emler 100 FT-IR cihazında yapılmıştır.

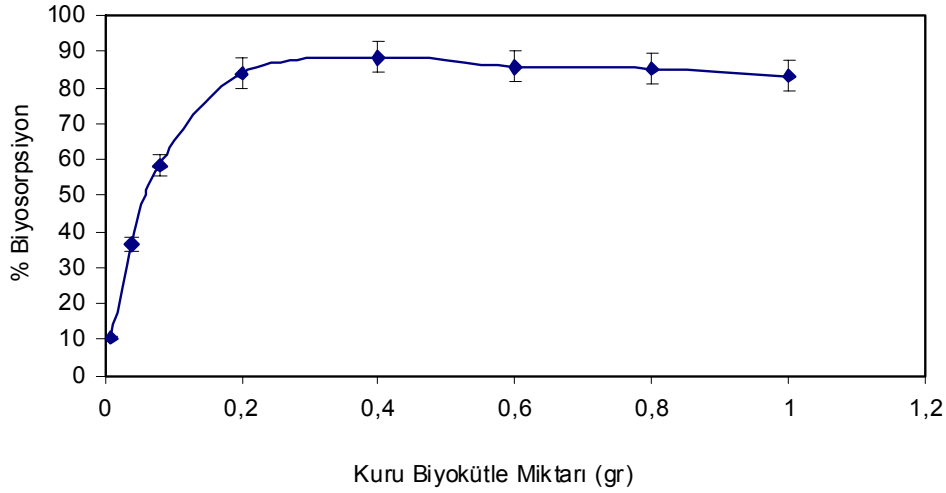
### III. SONUÇLAR

Reaktif Red 198 boyarmaddesinin biyosorpsiyonunda ortam pH değerinin etkisini araştırmak amacıyla pH değerleri 1,0-10,0 arasında değişen boyarmadde çözeltileri ile çalışılmış ve en uygun pH değeri 2,0 olarak seçilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 2’de gösterilmiştir.



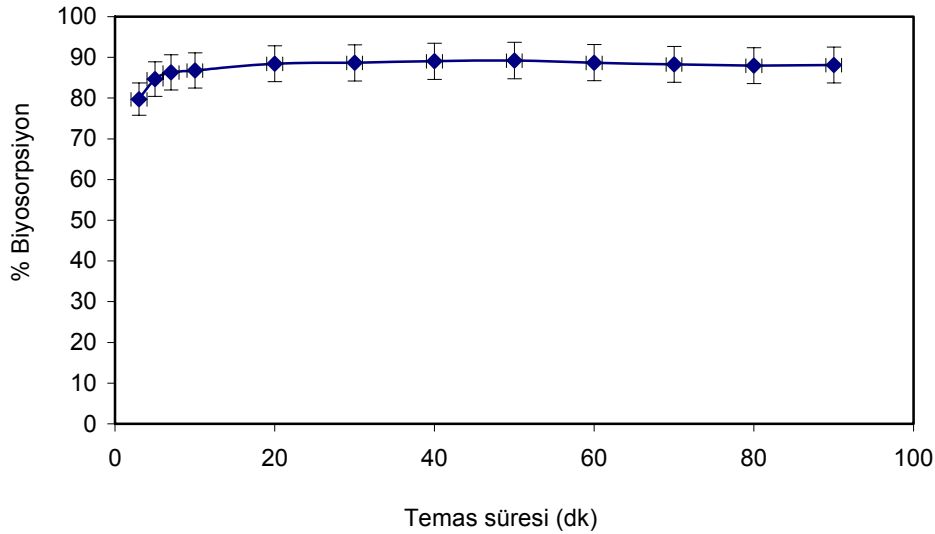
**Şekil 2.** Reaktif Red 198 boyarmaddesi biyosorpsiyonuna ortam pH değerinin etkisi. (Çalışma koşulları: toplam hacim 50 ml, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 50 mg/l, çalkalama hızı 150 r.p.m., biyokütle 0,2 g, inkübasyon sıcaklığı 30 ° C, temas süresi 30 dk).

Biyokütle miktarının biyosorpsiyona etkisini araştırmak amacı ile 0,01 – 1,0 g arasında değerler çalışılmış ve en uygun biyokütle miktarı 0,4 g (kuru biyokütle) olarak belirlenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 3’de gösterilmiştir.



**Şekil 3.** Reaktif Red 198 boyarmaddesi biyosorpsiyonuna biyokütle miktarının etkisi (Çalışma koşulları: toplam hacim 50 ml, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 50 mg/l, pH 2,0, çalkalama hızı 150 r.p.m., inkübasyon sıcaklığı 30 °C, temas süresi 30 dk).

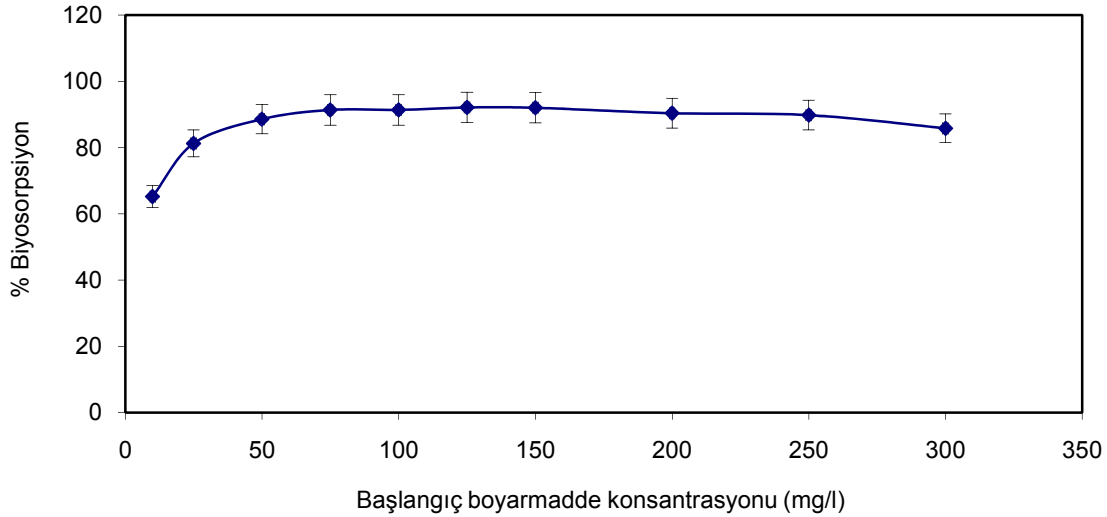
Temas süresinin biyosorpsiyon üzerine yaptığı etkiyi araştırmak için 3 – 90. dakikalar arasında değişen zaman aralıklarında çalışılmış ve en uygun temas süresi 20 dakika olarak belirlenmiştir. Çalışma sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 4’de verilmiştir.



**Şekil 4.** Reaktif Red 198 boyarmaddesi biyosorpsiyonuna temas süresinin etkisi. (Çalışma koşulları: toplam hacim 50 ml, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 50 mg/l, pH 2,0, çalkalama hızı 150 r.p.m., biyokütle 0,4 g, inkübasyon sıcaklığı 30 °C).



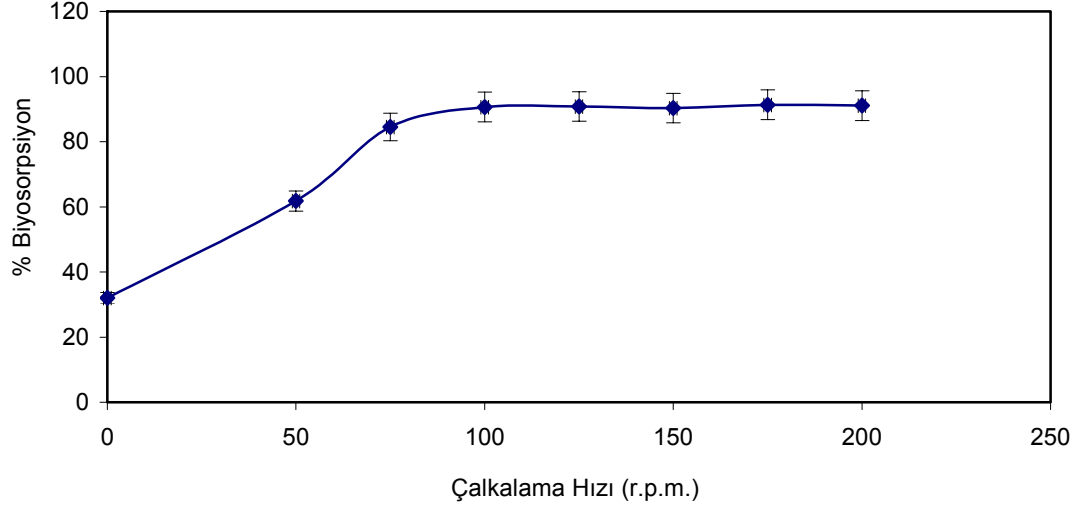
Başlangıç boyarmadde konsantrasyonunun biyosorpsiyon üzerine etkisini belirlemek amacıyla 10-300 mg/l boyarmadde konsantrasyonlarında çalışılmıştır. En uygun başlangıç boyarmadde konsantrasyonu % 91,37 biyosorpsiyon ile 75 mg/l olarak seçilmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 5’de verilmiştir.



**Şekil 5.** Reaktif Red 198 boyarmaddesi biyosorpsiyonuna başlangıç boyarmadde konsantrasyonunun etkisi.

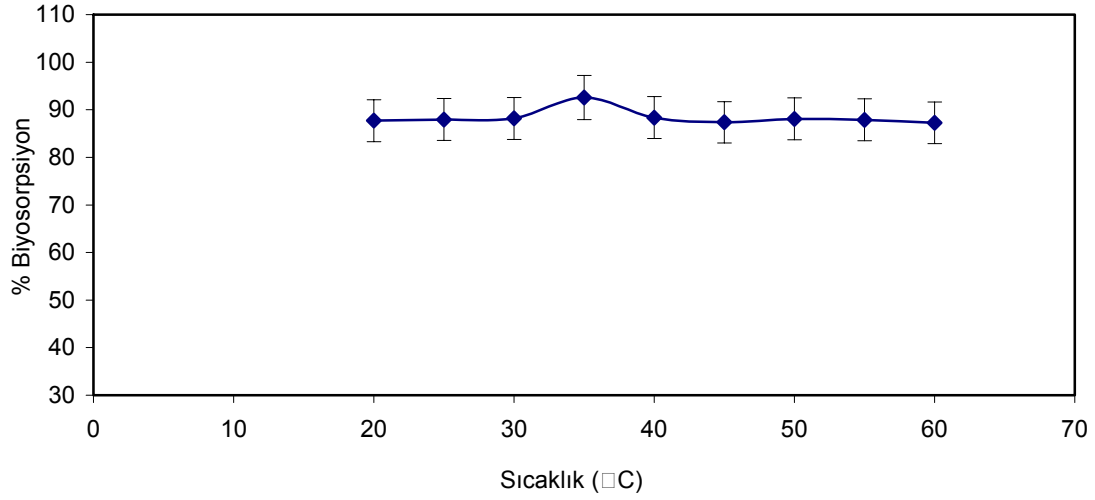
(Çalışma koşulları: toplam hacim 50 ml, pH 2,0, biyokütle 0,4 g, çalkalama hızı 150 r.p.m., inkübasyon sıcaklığı 30 ° C, temas süresi 20 dk).

Çalkalama hızının (r.p.m.) boyarmaddelerin biyosorpsiyonuna etkisini belirlemek için yapılan çalışmalarda elde edilen sonuçlar Şekil 6’da verilmiştir. Durgun koşullarda biyosorpsiyonun gerçekleştiği ancak çalkalama hızı arttıkça yüzde biyosorpsiyonun da arttığı ve 100 r.p.m.’de en yüksek seviyeye ulaştığı görülmüştür. Çalkalama hızı 100 r.p.m.’in üzerine çıktığında dengeye ulaştığı görülmüştür. Bu nedenle en uygun çalkalama hızı olarak 100 r.p.m. seçilmiştir.



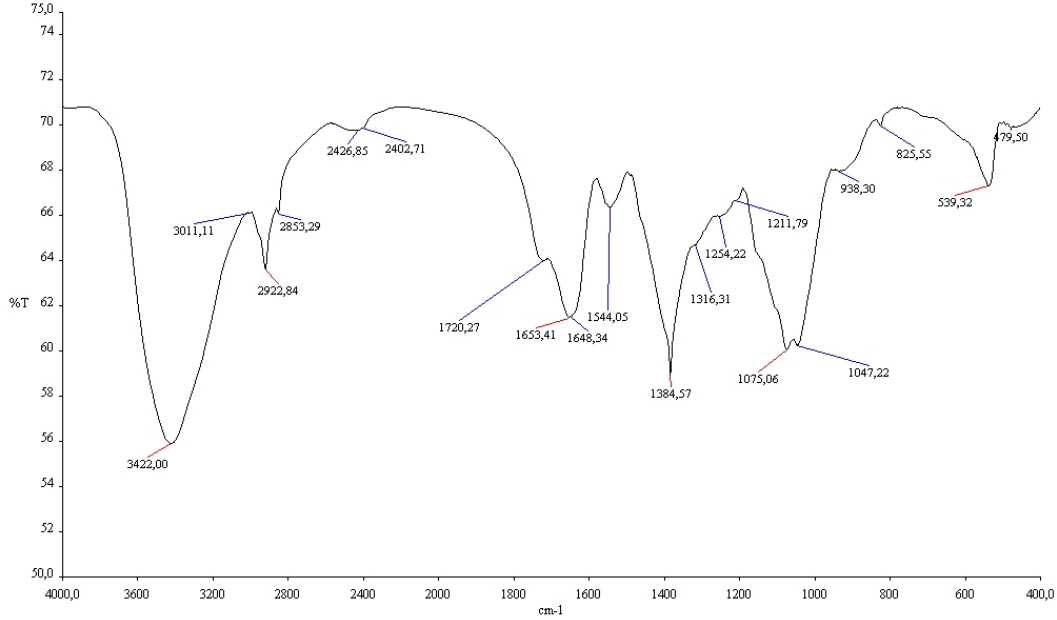
**Şekil 6.** Reaktif Red 198 boyarmaddesi biyosorpsiyonuna çalkalama hızının etkisi.  
(Çalışma koşulları: toplam hacim 50 ml, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/l, pH 2,0, biyokütle 0,4 g, inkübasyon sıcaklığı 30 °C, temas süresi 20 dk).

Ortam sıcaklığının biyosorpsiyon üzerine etkisini belirlemek için 20-60 °C arası sıcaklık değerleri denenmiş ve 35 °C optimum sıcaklık olarak belirlenmiştir (Şekil 7).



**Şekil 7.** Reaktif Red 198 boyarmaddesi biyosorpsiyonuna inkübasyon sıcaklığının etkisi.  
(Çalışma koşulları: toplam hacim 50 ml, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/l, pH 2,0, biyokütle 0,4 g, çalkalama hızı 100 r.p.m., temas süresi 20 dk).

*Trametes versicolor* fungal biyokütlesinin sahip olduğu ve Reaktif Red 198 biyosorpsiyonu için etkili olabilecek grupları belirlemek için yapılan FTIR analiz sonuçları Şekil 8’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre –OH/–NH<sub>2</sub>, –CH<sub>2</sub>, –C=O, amid, karboksil ve aromatik CH gibi grupların biyosorpsiyonda etkili olabilecekleri anlaşılmaktadır.



Şekil 8. *Trametes versicolor* fungal biyokütlesinin FTIR spektrumu

#### IV. TARTIŞMA

Endüstrileşmenin doğal sonuçlarından birisi olan çevresel kirleticilerin ortamda bulunmaları ne yazık ki çeşitli sorunlarla karşımıza çıkmaktadır. Bu süreçte gerekli tedbirlerin alınmaması ve/veya geç kalınması durumlarında, daha ciddi sorunlar canlıların geleceğini tehdit eder boyutlara da ulaşabilmektedir. Çevresel kirleticiler arasında önemli bir grubu oluşturan ve tekstil endüstrisinin atığı olan tekstil boyarmaddelerinin kullanımı ve alıcı ortamlardaki konsantrasyonları her geçen gün artmaktadır. Bu nedenle çeşitli tekstil boyarmaddelerinin arıtımı üzerine pek çok araştırmacı çalışmalar yapmaktadır. Bu çalışma kapsamında, Reaktif Red 198 boyarmaddesinin biyosorpsiyonu hedeflenmiştir.

Boyarmaddelerle kirletilmiş atık sular pH değerlerine göre farklılık gösterir. Boyarmadde biyosorbent etkileşimi, boyarmadde ve biyosorbent yapısına bağlıdır. Boyarmaddeler, doymamış bağlar ve farklı fonksiyonel gruplara sahip kompleks aromatik organik bileşiklerdir. Bu nedenle farklı pH değerlerinde farklı iyonizasyon değerlerine sahiptir ve bu da boyarmadde molekülleri üzerindeki net yükü değiştirmektedir. Biyosorbent yüzey, farklı fonksiyonel grupları olan biyopolimerlere sahip olduğu için biyosorbent üzerindeki net yük de ortamın pH değerine bağlıdır. Dolayısıyla ortamın pH değeri sucul ortamlardan boyarmaddenin uzaklaştırılmasında önemli bir parametredir [24].

*Trametes versicolor* ATCC (200801) kuru biyokütlesi kullanılarak yapılan Reaktif Red 198 boyarmaddesinin biyosorpsiyonu çalışmasında pH 1-10 aralığında çalışılmış ve en yüksek boyarmadde giderimi % 82,21 ile pH 2,0 değerinde elde edilmiştir. Tunalı ve ark., Reaktif Red 198 ile *Aspergillus parasiticus* fungal biyokütlesi ile yaptıkları benzer bir çalışmada optimum pH değeri olarak pH 2,0 değerini bildirmişlerdir [27]. Akar ve arkadaşları (2009a) *Agaricus bisporus* makrofungusu ve *Thuja orientalis* kozalağının karışık biyosorbentini kullanarak kesikli ve sürekli sistemde Reactive Blue 49 boyarmaddesinin biyosorpsiyonunu çalışmışlar ve optimum pH 1,0 olarak bulmuşlardır [28]. Çolak ve arkadaşları (2009) *Paenibacillus macerans* ile yaptığı asidik boyarmadde biyosorpsiyonunda optimum pH'ı 1,0 olarak belirlemişlerdir [29]. Düşük pH değerlerinde biyosorbent yüzeyi protonca zengin olduğu için negatif yüklü boyarmadde anyonları pozitif yüklü biyosorbent bölgeleri arasındaki elektrostatik etkileşimi artırmakta ve bu da boyarmadde biyosorpsiyonunun da artışa neden olmaktadır [30]. Bu nedenle, benzer çalışmalarda elde edilen yüksek giderim değerleri asidik pH değerlerinde olmaktadır. Genellikle boyarmaddeye de bağlı olarak bulunan pH değerleri 1,0-3,0 arasında değişmektedir [18, 20, 27, 31]. *T. versicolor* kuru biyokütlesi ile Reaktif Red 198'in biyosorpsiyonuna çözeltinin artan pH değerinin olumsuz etki yaptığı görülmüş ve pH 3,0 değerinden itibaren pH değeri artıkça biyosorpsiyon miktarında önemli bir azalma kaydedilmiştir. Bu durum alkali koşullarda da devam ederek pH 9,0 ve pH 10,0 da biyosorpsiyon gözlenmemesi ile sonuçlanmıştır. Bu durum, çözeltinin pH değerinin artmasıyla birlikte artan hidroksil iyon konsantrasyonu ile fungal biyokütle üzerindeki aktif bölgelerin negatif yükü yüklenmesi ve dolayısıyla boyarmadde molekülleri ile elektrostatik etkileşimin olumsuz etkilenmesi ile açıklanabilir.

Reaktif Red 198'in *T. versicolor* kuru biyokütlesi ile biyosorpsiyonu üzerine ortama ilave edilen biyokütle konsantrasyonunun etkisini incelemek için ortama 0,01- 1,0 g arasında değişen oranlarda *T. versicolor* kuru biyokütlesi ilave edilmiştir. Elde edilen veriler Şekil 3'de verilmiştir. Ortama ilave edilen biyokütle miktarının artırılması ile 0,4 g biyokütle miktarına kadar % biyosorpsiyon da bir artış kaydedilmiştir. Ancak bu değerden sonra artan biyokütle miktarı ile boyarmadde gideriminin kayda değer bir miktarda artış göstermediği görülmüştür. En yüksek yüzde biyosorpsiyon değerine %88,48 ile 0,4 g kuru biyokütle ile ulaşılmıştır. Literatürde de artan biyokütle miktarı ile belirli bir değere kadar boyarmadde gideriminin arttığı bildirilmiştir [4, 27, 31, 32]. Kumar ve ark., 2006'ya göre bu durum, çözeltide yüksek miktarda biyosorbent bulunması durumunda hızlı bir yüzeysel biyosorpsiyonu gerçekleşmesi ve bu nedenle boyarmaddenin tutulabileceği etkin yüzeylerin hızla dolması ile açıklanabilir [4].

Biyosorpsiyon çalışmalarında önemli bir parametredir temas süresidir. Kısa sürede yüksek giderimin elde edildiği biyokütlelerin endüstriye uygulanabilirlik açısından önemli üstünlükleri vardır. *T. versicolor* kuru biyokütlesi ile Reaktif Red 198'in biyosorpsiyonu üzerine sürenin etkisinin incelenmesi sonucunda elde edilen veriler Şekil 4'de verilmiştir. Şekil 4'den de görülebileceği gibi, 90 dakika boyunca belli aralıklarla örnekler alınarak yapılan ölçümler sonucunda 20. dakikadan sonra önemli bir değişim olmamıştır. Deneysel sürecin ilk 20 dakikasında *T. versicolor* kuru biyokütlesinde bulunan ve Reaktif Red 198 için aktif bağlanma bölgeleri olarak görev yapabilecek bölgeler tamamen kaplanmaktadır. Bu nedenle 20. dakikadan sonra boyarmadde ile temasa devam edilse bile aktif bölgelerde bağlanabilecek bir bölge olmadığından sonuç değişmemektedir. Literatürde farklı boya ve boyarmaddelerin biyosorpsiyonu için farklı biyosorbentlerin kullanımları sonucunda farklı sürelerde dengeye ulaşıldığı görülmektedir [27, 29, 33, 34]. Burada kısa sürede oluşan denge koşulları uygulanabilirlik açısından önemli avantaj sunmaktadır. Bu nedenle bu çalışmada elde edilen 20 dakika nispeten kısa bir süre olarak değerlendirilebilir.

Başlangıç boyarmadde konsantrasyonu, sulu ve katı faz arasındaki bütün moleküllerin kütle transfer dirençlerini yenmek için etkinleştirici bir güçtür [35-37]. Başlangıç boyarmadde konsantrasyonunun artması ile biyosorpsiyon miktarında da bir artış kaydedilmiştir. Başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 250 mg/l ye ulaşana kadar boyarmadde konsantrasyonu artıkaçca biyosorpsiyon miktarı da neredeyse doğrusal olarak artmakta iken, 250 mg/l'den itibaren 300

mg/l'ye kadar boyarmadde konsantrasyonu arttıkça biyosorpsiyon miktarındaki artış daha az oranda gerçekleşmiştir. Zhang ve arkadaşlarının (2009) *Proteus mirabilis* TJ-1 hücre dışı polimerik maddesi ile yaptıkları boyarmadde biyosorpsiyon çalışmasında da benzer bir durum söz konusudur [34].

Biyosorpsiyonu etkileyen diğer bir faktörde boyarmadde ile biyokütlenin temasını etkileyen çalkalama hızıdır. Bu çalışmada durgun inkübasyon koşullarından 200 r.p.m. çalkalama hızına kadar değişen hızlarda inkübasyonlar yapılarak çalkalama hızının *T. versicolor* biyokütlesi ile Reaktif Red 198'in biyosorpsiyonu üzerine olan etkisi araştırılmıştır. Durgun koşullarda yapılan biyosorpsiyon denemelerinde %32,08 oranında bir biyosorpsiyon yüzdesi elde edilirken çalkalama hızı 100 r.p.m.'ye kadar artırıldığında yüzde biyosorpsiyon değerinde de neredeyse doğrusal bir artış görülmüştür. Ancak, çalkalama hızının 200 r.p.m.'ye kadar artırılması durumunda ise önemli bir artış kaydedilmemiştir. Şekil 6'da da görülebileceği gibi, en yüksek biyosorpsiyon yüzdesine (%90,66) 100 r.p.m. çalkalama hızında ulaşılmıştır.

*Trametes versicolor* fungal biyokütlesi ile Reaktif Red 198'in biyosorpsiyonuna sıcaklığın etkisini belirlemek amacı ile 20-60 °C aralığında çalışılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 7'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde 20 °C'de %87,70 biyosorpsiyon yüzdesi elde edilirken 60 °C'de %87,24 elde edilmiştir. Buradan da anlaşıldığı gibi sıcaklıktaki artışın biyosorpsiyon miktarını etkilemediği görülmüştür. Düşük sıcaklıkta elde edilen bu yüksek biyosorpsiyon yüzdesi çevresel uygulamalar için umut verici olarak değerlendirilmektedir. Yüksek sıcaklıklarda elde edilen yüksek biyosorpsiyon değerlerinin uygulanabilirliği maliyet açısından bir sınırlama ile karşı karşıyadır. Bu nedenle çevresel uygulamalarda endüstrinin koşulları da göz önünde bulundurularak, ilave bir ısıtma-soğutma sürecine bağımlı olamayan arıtım teknolojileri öne çıkmaktadır. Bu nedenle optimizasyon çalışmalarında geniş bir sıcaklık aralığı denenmesi ve bu değerlerdeki değişimin biyosorpsiyon miktarını olumsuz yönde etkilememesi ve birbirine yakın değerlerin elde edilmesi, sıcaklık açısından geniş bir tolerans sunmaktadır. Bununla birlikte en yüksek yüzde biyosorpsiyon değerine 35°C de ulaşılmıştır.

*Trametes versicolor* fungal biyokütlesinin sahip olduğu ve Reaktif Red 198 biyosorpsiyonu için etkili olabilecek grupları belirlemek için FTIR analizi yapılmıştır. *Trametes versicolor* fungal biyokütlesi ile Reaktif Red 198 boyarmaddesinin etkileşebileceği fonksiyonel bölgeler belirlenmiştir. Şekil 8 incelendiğinde, 3422 cm<sup>-1</sup>, -OH/-NH<sub>2</sub> bandında bir gerilme; 2922 cm<sup>-1</sup>,

-CH<sub>2</sub>'de simetrik gerilme; 1720 cm<sup>-1</sup>, -C=O'de gerilme; 1653 cm<sup>-1</sup>, amid I; 1544 cm<sup>-1</sup>, amid II; 1390 cm<sup>-1</sup>, -CH<sub>2</sub> eğilme; 1075 cm<sup>-1</sup>, -COOH gruplarında C-O gerilmeleri ve hidroksil gruplarında eğilme; 539 cm<sup>-1</sup>, aromatik CH gruplarında eğilme görüldüğü anlaşılmaktadır. Elde edilen sonuçlara göre biyosorpsiyonda etkili olabilecek yapısal gruplar olarak yukarıda sıralanan gruplardan bir ya da birkaçının etkili olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlara göre *T. versicolor* ATCC 200801 kuru biyokütlesi ile Reaktif Red 198 boyarmaddesinin ortamdan uzaklaştırılabileceği görülmüştür. En iyi biyosorpsiyon koşulları olarak pH 2,0, biyokütle miktarı 0,4 g, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/l, temas süresi 20 dk, çalkalama hızı 100 r.p.m, sıcaklık 35°C olarak seçilmiştir. Optimum koşullarda en yüksek yüzde biyosorpsiyon değeri olarak %92,57 elde edilmiştir.

#### **V. TEŞEKKÜR**

Çalışma sürecinde yapılan FTIR analizleri için Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Güneş KÜRKÇÜOĞLU'na teşekkür ederiz.

#### **VI. KAYNAKLAR**

- [1] P.C. Vandevivere, R. Bianchi, W. Verstraete, "Treatment and reuse of wastewater from the textile wet-processing industry:review of emerging technologies", *J.Chem. Technol. Biotechnol.*,72, pp.9-302, 1998.
- [2] E.Y. Özmen, S. Erdemir, M. Yılmaz, et. al., "Removal of carcinogenic direct azo dyes from aqueous solutions using calix[n]arene derivatives", *Clean.*, 35, pp. 612-616, 2007.
- [3] Z. Aksu, Ş.Ş. Çağatay, "Investigation of biosorption of Gemazol Turquoise Blue-G reactive dye by dried *Rhizopus arrhizus* in batch and continuous systems", *Sep. Purif. Technol.*, 48, 1, pp. 24-35, 2006.
- [4] K.V. Kumar, V. Ramamurthi and S. Sivanesan, "Biosorption of malachite green, a cationic dye onto *Pithophora sp.* a fresh water algae", *Dyes Pigments*, pp. 69:74-79, 2006.

- [5] O.J. Hao, H. Kim, P.C. Chiang, “Decolorization of wastewater”, *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 30, pp. 449-505, 2000.
- [6] Z. Aksu, Ş.Ç. Çağatay, F. Gönen, “Continuous fixed bed biosorption of reactive dyes by dried *Rhizopus arrhizus*: determination of column capacity”, *J. Hazard. Mater.*, 143, pp. 362-371, 2007.
- [7] H. Lata, V.K. Garg, R.K. Gupta, “Removal of a basic dye from aqueous solution by adsorption using *Parthenium hysterophorus*: an agricultural waste”, *Dyes Pigments*, 74, pp. 653-658, 2007.
- [8] I. Kiran, T. Akar, A. Safa Ozcan, et. al., “Biosorption kinetics and isotherm studies of Acid Red 57 by dried *Cephalosporium aphidicola* cells from aqueous solutions”, *Biochem.Eng.J.*, 31, pp. 197-203, 2006.
- [9] R. Gong, Y. Ding, M. Li, et. al., “Utilization of powdered peanut hull as biosorbent for removal of anionic dyes from aqueous solution”, *Dyes Pigments*, 64, pp. 187-192, 2005.
- [10] T. Robinson, B. Chandran, P. Nigam, “Removal of dyes from a synthetic textile dye effluent by biosorption on apple pomace and wheat straw”, *Water Res.*, 36, pp. 2824-2830, 2002.
- [11] Q. Husain, “Potential applications of the oxidoreductive enzymes in the decolorization and detoxification of textile and other synthetic dyes”, *Critical Reviews in Biotechnology*, 26, pp. 201-221, 2006.
- [12] T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, et. al., “Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment Technologies with a proposed alternative”, *Bioresour. Technol.*, 77, pp. 247-255, 2001.
- [13] B. Volesky, S. Schiewer, “Biosorption of metals, in: M. Flickinger, S.W.Drew(Eds.), *Encyclopedia of Bioprocess Technology*”, Wiley, New York, 433-453, 1999.
- [14] S. Tunalı, A. Özcan, Z. Kaynak, et. al., “Utilization of the *Phaseolus vulgaris* L. waste biomass for decolorization of the textile dye Acid Red 57: determination of equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters”, *J. Environ.Sci.Health A*, 42, pp. 591-600, 2007.
- [15] C. Namasivayam, N. Muniasamy, K. Gayatri, et. al., “Removal of dyes from aqueous solutions by cellulosic waste orange peel”, *Bioresour. Technol.*, 57, pp. 37-43, 1996.



- [16] G. McKay, J.F. Porter, G.R. Prasad, "The removal of dye colours from aqueous solutions by sorption on low-cost materials", *Water Air Soil Pollut.*, 114, pp. 423–438, 1999.
- [17] B.S. Inbaraj, N. Sulochana, "Basic dye sorption on a low cost carbonaceous sorbent: kinetic and equilibrium studies", *Indian J. Chem. Technol.*, 9, pp. 201–208, 2002.
- [18] T.L. Hu, "Removal of reactive dyes from aqueous solution by different bacterial genera", *Water Sci. Technol.*, 34, pp. 89–95, 1996.
- [19] Z. Aksu, S. Tezer, "Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*", *Process Biochem.*, 40, pp. 1347–1361, 2005.
- [20] T.O. O'Mahony, E. Guibal, J.M. Tobin, "Reactive dye biosorption by *Rhizopus arrhizus* biomass", *Enzyme Microb. Technol.*, 31, pp. 456-463, 2002.
- [21] H.G. Kulla, F. Klausener, U. Meyer, et. al., "Interference of aromatic sulfo groups in the microbial degradation of azo dyes Orange I and Orange II", *Arch. Microbial.*, 135, pp. 1-7, 1983.
- [22] I.M. Banat, P. Nigam, R.M. Singh, "Microbial decolourization of textile dyes containing effluents: a review", *Bioresour Technol.*, 58, pp. 217-27, 1996.
- [23] N.S. Maurya, A.K. Mittal, P. Cornel, et. al., "Biosorption of dyes using dead macro-fungi: effect of dye structure, ionic strength and pH", *Bioresour. Technol.*, 97, pp. 512-521, 2006.
- [24] J.T. Matheickal, Q. Yu, "Biosorption of lead (II) from aqueous solutions by *Phellinus badius*", *Miner. Eng.*, 10, pp. 947-957, 1997.
- [25] D. Wesenberg, I. Kyriakides, SN. Agathos, "White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents", *Biotechnol. Adv.*, 22, pp. 161-187, 2003.
- [26] N. Aktaş, , H. Çiçek, , A. Ünal, , et. al., "Reaction kinetics for laccase-catalyzed polymerization of 1-naphthol", *Bioresource Technol.*, 80, 1, pp. 29-36, 2001.
- [27] S. Tunalı, T. Akar, A. Cabuk, "Decolorization of a textile dye, Reactive Red 198 (RR198), by *Aspergillus parasiticus* fungal biosorbent", *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 26, 2, pp. 399-405, 2009.
- [28] S.T. Akar, A. Görgülü, Z. Kaynak, et. al., "Biosorption Reactive Blue 49 dye under batch and continuous mode using a mixed biosorbent of macro-fungus *Agaricus bioporus* and *Thuja orientalis* cones", *Chemical Engineering Journal*, 148, pp. 26-34, 2009a.

- [29] F. Çolak, N. Atar, A. Olgun, "Biosorption of acidic dyes from aqueous solution by *Paenibacillus macerans*: Kinetic, thermodynamic and equilibrium studies", *Chemical Engineering Journal*, 150, pp. 122-130, 2009.
- [30] M.S. Chiou, G.S. Chuang, "Competitive adsorption of dye metanil yellow and RB15 in acidic solutions on chemically cross-linked chitosan beads", *Chemosphere*, 62, pp. 731-740, 2006.
- [31] Z. Aksu, "Reactive dye bioaccumulation by *Saccharomyces cerevisiae*", *Process Biochem.*, 38, pp. 1437 – 1444, 2003.
- [32] D.K. Bakshi, K.G. Gupta, P. Sharma, "Enhanced biodecolorization of synthetic textile dye effluent by *Phanerochaete chrysosporium* under improved culture conditions", *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 15, pp. 507-509, 1999.
- [33] T. Akar, B. Anılan, A. Görgülü, S.T. Akar, "Assessment of cationic dye biosorption characteristics of untreated and non-conventional biomass: *Pyracantha coccinea* berries", *Journal of Hazardous Materials*, 168, pp. 1302-1309, 2009b.
- [34] Z. Zhang, S. Xia, X. Wang, et. al., "A novel biosorbent for dye removal: Extracellular polymeric substance (EPS) of *Proteus mirabilis* TJ-1", *Journal of Hazardous Materials*, 163, pp. 279–284, 2009.
- [35] A. Özer, D. Özer, H.I. Ekiz, "Application of Freundlich and Langmuir models to multistage purification process to remove heavy metal ions by using *Schizomeris leibleinii*", *Process Biochem.*, 34, pp. 919–927, 1999.
- [36] G. Dönmez, Z. Aksu, "Removal of chromium (VI) from saline wastewaters by *Dunaliella* species", *Process Biochem.*, 38, pp. 751–762, 2002.
- [37] A. Shukla, Y. Zhang, P. Dubey, et. al., "The role of sawdust in the removal of unwanted materials from water", *J. Hazard. Mater.*, 95, pp. 137–152, 2002.