



Removal of tetracycline by biocomposites synthesized with immobilization of *Rhizopus delamar* and *Candida* types

Feray Kip^{*} , Ünsal Açıkkel^{*}

Department of Chemical Engineering, Cumhuriyet University, Sivas, 58140, Turkey

Highlights:

- Immobilization method
- Adsorption in aqueous solutions
- Biocomposites

Keywords:

- Chitosan
- *Candida species*
- *R.delemar*
- Adsorption
- Tetracycline

Article Info:

Research Article
Received: 09.03.2018
Accepted: 11.05.2018

DOI:

10.17341/gazimmfd.460539

Graphical/Tabular Abstract

In this study, tetracycline adsorption using the biocomposites prepared by the immobilization of chitosan polymer and *Candida yeasts* (*Candida lipolytica*, *Candida membranaefaciens*, *Candida tropicalis*, *Candida utilis*) and *Rhizopus delamar* fungus as a microorganism on chitosan was examined. In the parameter ranges used, it was identified that the temperature was 25-55 °C, pH was 2-7, the concentration was 10-100 mg / L, the optimum pH value was 4.0, the temperature was 25 °C and the maximum capacity was 1.179 mg / g for the chitosan-*Candida utilis* biocomposite. The experimental equilibrium data were adjusted to the Freundlich isotherm model of chitosan and biocomposites and the kinetic data were adjusted to the pseudo-first-order kinetics model. It was determined that the adsorption process operating according to enthalpy, entropy, and Gibbs free energy exchange thermodynamic parameters was exothermic and voluntary. The FTIR, SEM analyses and characterization studies of the chitosan-*Candida utilis* biocomposite were carried out before and after adsorption. It is thought that with this study conducted, new chitosan-*Candida* biocomposites will become an alternative for the removal of tetracycline.

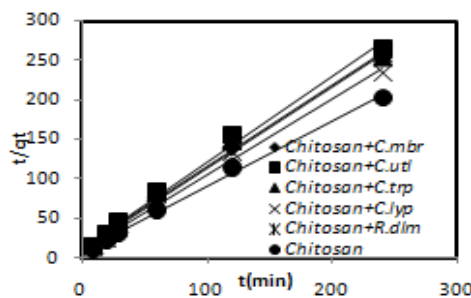


Figure A. Pseudo-second order kinetics for TC adsorption

q_e : the equilibrium adsorption capacity (mg/g)
 q_t : the certain instant Adsorption capacity (mg/g)
 k_2 : the second-order rate constant (g/mg min)
 t : time (min)

$$\frac{t}{qt} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e}$$

Correspondence:

Author: Feray Kip
e-mail:
feray.kip@gmail.com
phone: +90 533 652 1878

Purpose:

This study, which will become an alternative to the studies carried out on wastewater disposal in the literature, is thought to increase the diversity of biocomposite materials to be used for the treatment of water with high antibiotic pollution.

Theory and Methods:

Immobilization Experiments, Batch Reactor Experiments, Adsorption Isotherms, Adsorption Kinetics, Thermodynamic Parameters, FTIR and SEM Analyses

Results:

In this study, TC adsorption was investigated with the biocomposite materials prepared with chitosan, *Candida yeasts* and *Rhizopus delamar*. The adsorption ability of chitosan alone increased the adsorption capacity with the newly formed biocomposite. The suitability of the experimental data to the Freundlich isotherms at different concentrations was investigated, and the kinetic parameters were calculated using the pseudo-first and second-order kinetic model under optimum conditions. For thermodynamic parameters, the Gibbs free energy, enthalpy and entropy were calculated according to the change of equilibrium constant with temperature. Negative ΔG values show that biocomposites adsorbed TC spontaneously. In the studies, the TC adsorption of adsorbents prepared using only chitosan was found to be lower compared to biocomposites. With this study, it is thought that new biocomposite materials will become an alternative for the removal of drugs containing TC in wastewater.

Conclusion:

In this study, the adsorption of TC with biocomposite materials prepared with chitosan polymer and *Candida yeast*, *Rhizopus delamar* fungus as a microorganism was examined. It was proved as a result of the SEM and FTIR analysis that the biocomposite created with Chitosan-*Candida utilis* with the immobilization method was higher than chitosan in the removal of TC.



Rhizopus delemar ve Candida türlerinin immobilizasyonu ile sentezlenen biyokompozitlerle tetrasiklin giderimi

Feray Kip*¹, Ünsal Açık²

Cumhuriyet Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Bölümü, Sivas, 58140, Türkiye

Ö N E Ç İ K A N L A R

- İmmobilizasyon yöntemi
- Sulu çözeltilerde adsorpsiyon
- Biyokompozit

Makale Bilgileri

Araştırma Makalesi
Geliş: 09.03.2018
Kabul: 11.05.2018

DOI:

10.17341/gazimmfd.460539

Anahtar Kelimeler:

Kitosan,
candida türü,
rhizopus delemar,
adsorpsiyon,
tetrasiklin

ÖZET

Bu çalışmada mikroorganizma olarak Candida türü (Candida lipolytica, Candida membranaefaciens, Candida tropicalis, Candida utilis) mayaların ve Rhizopus delemar mantarının kitosana tutuklanması ile hazırlanan biyokompozitlerle tetrasiklin adsorpsiyonu incelenmiştir. Kullanılan parametre aralıklarında, sıcaklık 25-55°C, pH 2-7, derişimi 10-100 mg/L, optimum pH değeri 4,0 ve sıcaklık 25°C maksimum kapasite kitosan-Candida utilis biyokompoziti için 1,179 mg/g olarak belirlenmiştir. Deneysel denge verilerinin kitosan ve biyokompozitler için Freundlich izoterm modeline, kinetik veriler ise ikinci dereceden kinetik hız modeline uygunluğu görülmüştür. Entalpi, entropi ve Gibbs serbest enerji değişimi termodinamik parametrelere göre çalışan adsorpsiyon prosesinin ekzotermik ve istemli olduğu belirlenmiştir. Kitosan-Candida utilis biyokompozitinin adsorpsiyon öncesi ve sonrası FTIR, SEM analizleri ile karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Yapılan bu çalışma ile yeni kitosan-mikroorganizma biyokompozitlerinin tetrasiklin giderimi için alternatif olacağı düşünülmüştür.

Removal of tetracycline by biocomposites synthesized with immobilization of Rhizopus delamar and Candida types

H I G H L I G H T S

- Immobilization method
- Adsorption in aqueous solutions
- Biocomposites

Article Info

Research Article
Received: 09.03.2018
Accepted: 11.05.2018

DOI:

10.17341/gazimmfd.460539

Keywords:

Chitosan,
candida species,
r. delemar,
adsorption,
tetracycline

ABSTRACT

In this study, tetracycline adsorption using the biocomposites prepared by the immobilization of chitosan polymer and Candida yeasts (Candida lipolytica, Candida membranaefaciens, Candida tropicalis, Candida utilis) and Rhizopus delemar fungus as a microorganism on chitosan was examined. In the used parameter ranges, temperature was determined as 25-55°C, pH as 2-7, concentration as 10-100 mg / L, optimum pH value as 4.0 and optimum temperature as 25°C, maximum capacity chitosan-Candida utilis biocomposite 1.179 mg / g as determined. The experimental equilibrium data were adjusted to the Freundlich isotherm model of chitosan and biocomposites and the kinetic data were adjusted to the pseudo-first-order kinetics model. Enthalpy, entropy and Gibbs free energy change of adsorption processes operating according to the thermodynamic parameters were determined to be exothermic and spontaneous. Chitosan-Candida utilis biocomposite for before and after adsorption FTIR, SEM analysis and characterization studies was realized. This study proved that the new PAN-Candida utilis biocomposite might emerge as alternatives for the removal of tetracycline.

*Sorumlu Yazar/Corresponding Author: feray.kip@gmail.com, uacikel@cumhuriyet.edu.tr / Tel: +90 346 219 1010
1418

1. GİRİŞ (INTRODUCTION)

Atıksu proseslerinde organik mikrokirleticiler olan antibiyotikler insan, hayvan ve bitki hastalıklarını tedavi etmek için kullanılmaktadır [1]. Tetrasiklinler (TC'ler) insan vücudunun sindirim sisteminde iyi absorbe edilmeyen, dışkı ve idrarla değişmeden atılabilen antibiyotiklerden biridir [2]. TC'nin düşük maliyet ve geniş kullanım alanı sonucunda oluşan alerji ve toksik kalıntıları ciddi endişelere sebep olmuştur [3]. TC'ler bitki ve hayvancılık için kritik önem taşıyan süreçleri kesintiye uğratabilir aynı zamanda bakteri üremesini veya bakımını yapabilir [4]. TC bir amfoterik molekül ($C_{22}H_{24}N_2O_8$) ve trikarbonilimid (C-1; C-2; C-3), Fenolik diketon (C-10; C-11; C-12), dimetilamin (C-4) grupları bağlayıcı karbon atomlarının iyonize olabilen çoklu fonksiyonel gruplardır (Şekil 1) [5]. TC'nin sulu çözeltilerde katyonik ($pH < 3,3$), melez iyonik ($3,3 < pH < 7,68$) ve anyonik ($pH > 7,68$) olmak üzere asit ortamında protonasyon-deprotonasyona uğrayabilir [6]. Atıksudaki ilaç kalıntılarının uzaklaştırılmasında biyolojik bozunma ve kimyasal parçalanmanın yanı sıra adsorpsiyon yöntemi de kullanılmaktadır [7]. Caroni vd. kitosan parçacıklarından TC'nin uzaklaştırılmasında adsorpsiyon yöntemiyle çalışmışlardır [8]. Bu yöntemle Brigante ve Schulz titanyum-silika içeren kompozit malzeme ile TC adsorpsiyon çalışmasında, elektrostatik konumları, amit, antibiyotik fenolik gruplar ve kompozitin fonksiyonel gruplarındaki H-bağ oluşumları ile yakından ilişkili olduğunu göstermişlerdir [9]. Tanis vd. demir oksit kaplı kuvarz malzeme üzerine farklı katyonların (Ca^{+2} , Pb^{+2}) eklenmesi sonucunda tetrasiklinin gideriminde azalma olması, katıların yüzey yükü ve iki değerli katyonların varlığını göz önüne alınması gerektiğini göstermişlerdir [10]. Godos vd. ise alg yosunu gibi adsorbanların atık su biyolojik arıtma sırasında antibiyotiklerin yan ürünlerini desteklemek için avantajlı olduğunu göstermişlerdir [11].

Mikroorganizma immobilizasyon metodu son yıllarda atık su arıtımında steroidlerin ilaç üretimi ve gıda uygulamalarında (bira ve şarap) başarıyla uygulanabilmektedir. Daha güvenilir ve tekrar kullanılabilen sistemler için bakteriler katı matrix üzerine tutuklanabilir

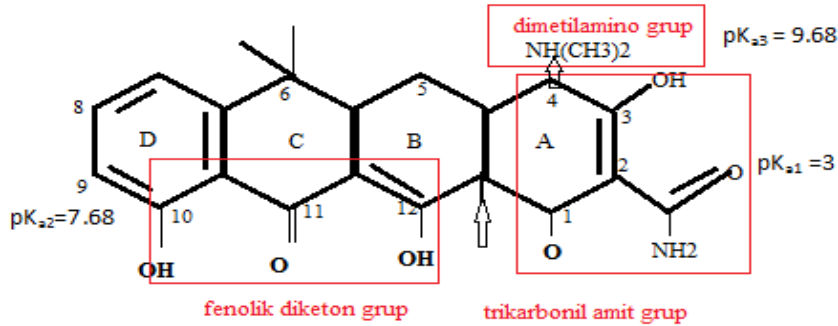
[12]. Mantar ve mayalar kolay üreyebilen biyokütlelerdir ve hücreler doğal ya da sentetik desteklere immobilizasyon yöntemi ile tutuklanabilirler [13]. Bu yöntemle Monvisade and Siriphannon çalışmasında kitosana kil (montmorillonite) ilave ederek hazırlanan kompozitin (Kitosan-MMT) katyonik boyalardaki adsorpsiyonunu incelemişlerdir [14]. Erşan polistiren ve Saccharomyces cerevisiae mayası ile hazırladığı sorbentleri kullanarak tetrasiklinin (TC) adsorpsiyonu çalışmasında en yüksek giderim 150 mg/L derişiminde $8,76 \text{ mg/g}$ iken yaptığımız çalışmada 100 mg/L derişimde kitosan-Candida utilis biyokompozitinin TC adsorpsiyon kapasitesi $pH 4'$ de $1,179 \text{ mg/g}$ olarak bulunmuştur [15]. Atık suların ve yüksek derişimli ilaç (antibiyotik) içeren çözeltilerden TC'nin uzaklaştırılmasında kullanılan alternatif bir yöntem olan immobilize edilmiş biyokompozit malzemelerdir. Bu çalışmada kitosan ve mikroorganizmalar ile hazırlanan biyokompozit malzemeler ile TC'nin adsorpsiyonu incelenmiştir. Immobilizasyon yöntemiyle oluşturulan kitosan-Candida utilis biyokompozitin SEM ve FTIR analizi sonucunda TC giderimi, sadece kitosandan daha yüksek olduğu görülmüştür.

Literatürde atık su giderimi için yapılmış çalışmalara alternatif olacak bu çalışmanın, antibiyotik kirliliğinin yüksek olduğu suların arıtımı için kullanılacak biyokompozit malzeme çeşitliliğini artıracakı düşünülmektedir.

2. DENEYSEL VE TEORİK METOD (EXPERİMENTAL AND THEORETICAL METHOD)

2.1. Kimyasallar (Reagents)

Deneylerde kullanılan kimyasallar Sigma-Aldrich markalı olup Candida türü maya şuşları ise Ankara Üniversitesi Biyoloji Bölümünden temin edilen ATCC® 201377™ Candida membranafiens, ATCC® 9950™ Candida utilis, ATCC® 13803™ Candida tropicalis, ATCC® 9733™ Candida lypolitica maya ve mantar Rhizopus delemar NRLL® 2872™ şuşlarıdır. TC hidroklorür, Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alındı ve hazırlanan 1000 mg / L TC stok solüsyonu $10-100 \text{ mg / L}$ konsantrasyonlara seyreltilti.



Şekil 1. Tetrasiklinin (TC) molekül yapısı (Molecule structure of tetracycline (TC))

2.2. İmmobilizasyon Deneyleri

(Immobilisation of Candida Yeasts on chitosan)

3 g yaş mikroorganizma üzerine 1 g kitosan eklenerek oda koşullarında karıştırılmıştır. Örnekler 12 saat oda sıcaklığında bekletildikten sonra kesikli sistem deneylerine geçilmiştir.

2.3. Kesikli Reaktör Deneyleri (Batch Reactor Experiments)

Mikroorganizmaların optimum üreme koşulları 25°C ve pH 4 olarak belirlendi. Mikroorganizmalar 4 gün süre ile 95 rpm karıştırma hızında üremeye bırakıldı. Daha sonra her bir mikroorganizma santrifüjlenerek buzdolabında depolandı. Deneyde kullanılan adsorbanlar kitosan ve kitosana mayaların tutuklanması ile oluşan biyokompozit malzemelerdir. Deneysel çalışmalar kesikli sistemde incelendi. Daha sonra örneklerden belirli bir miktar alınarak santrifüjlendi ve adsorpsiyon değerleri 460 nm’de UV spektrometresi kullanılarak ölçüldü. 10-100 mg/L derişiminde hazırlanan TC çözeltilerinin adsorpsiyonu 10-240 dakika süre ile incelenmiştir. Termodinamik parametrelerin belirlenmesi için 100 mg/L derişimindeki TC çözeltilerinin 25-55°C arasındaki maksimum adsorpsiyon etkisi ölçülmüştür ve adsorpsiyon miktarı hesaplanmıştır (Eş. 1) [16].

$$q_e = \frac{(C_0 - C_e)V}{m} \quad (1)$$

2.4. Adsorpsiyon İzotermi (Adsorption Isotherms)

Sabit sıcaklıkta adsorban tarafından adsorplanan madde miktarı ile denge basıncı arasındaki bağıntı adsorpsiyon izotermidir. Adsorpsiyon proseslerinde sıvı-katı faz arasındaki metal iyonlarının dağılımını ise Langmuir izoterm modeli (Eş. 2) ve Freundlich izoterm modelleri (Eş. 3) ile açıklanabilir.

$$q_e = \frac{Q_{\max} b C_e}{1 + b C_e} \quad (2)$$

$$q_e = K_F C_e^n \quad (3)$$

Langmuir izoterm modeli tek tabakalı homojen, Freundlich izoterm modeli ise heterojen adsorpsiyonu açıklamak için kullanılmaktadır [17].

2.5. Adsorpsiyon Kinetiği (Adsorption Kinetics)

Adsorpsiyon kinetiğini belirlemek için kullanılan eşitlikler şunlardır: Yalancı birinci derece kinetik model (Eş. 4),

$$\log \frac{(q_e - q)}{q_e} = - \frac{k_{1,ad} t}{2,303} \quad (4)$$

Yalancı ikinci dereceden kinetik model Eş. 5 ile ifade edilir ve bağıntısıyla verilir [18].

$$\frac{t}{qt} = \frac{1}{k_2 q_e^2} + \frac{t}{q_e} \quad (5)$$

2.6. Adsorpsiyon Termodinamiği (Adsorption Thermodynamics)

Adsorpsiyon prosesi için entalpi, entropi ve serbest enerji değişimleri termodinamik parametreleri Eş. 6’da verilmiştir [19].

$$\Delta G^0 = \Delta H^0 - T \Delta S^0 \quad (6)$$

3. SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR (RESULTS AND DISCUSSIONS)

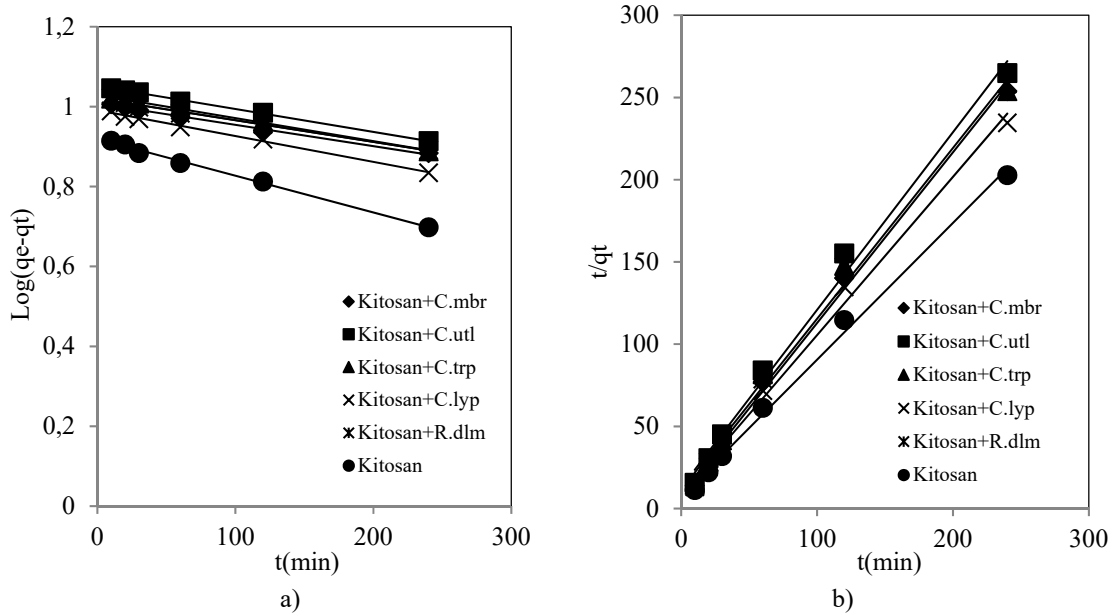
3.1. Adsorpsiyon Kinetiği (Adsorption Kinetics)

Tetrasiklin (TC) adsorpsiyonu için temas süresi kitosan ve kitosan-mikroorganizma biyokompozitleri için sabit başlangıç TC derişimde incelenmiştir. TC adsorpsiyonu başlangıçta hızlı olmasına rağmen zamanla azalmıştır. Bu azalma, yüzeydeki adsorpsiyonun tek tabakalı olduğunu göstermektedir. Log(qe-qt)’ye karşı t grafiğe geçirildiğinde Şekil 2a ve t/qt ‘ye karşı t grafiğe geçirildiğinde ise Şekil 2b doğrusu elde edilir. Adsorpsiyon süresinin, TC adsorpsiyonu üzerindeki etkisi, 10 ile 240 dakika arasında değiştirilmesiyle incelendi. TC’nin adsorpsiyon süresi ilk 120 dakika ile arttığı görüldü; Çok uzun bir adsorpsiyon süresi desorpsiyona neden olur. Xiao Mi vd. modifiye manyetik kompozitinin 298 K’deki kinetik çalışmalarında TC adsorpsiyonun ilk 120 dakika içinde olduğunu göstermişlerdir [20]. Aslan vd. nano ölçekli Cu/Fe metalik parçacıkları ile sulu çözeltilerden TC adsorsiyonu çalışmasında adsorpsiyon kinetiğinin ikinci dereceden kinetik modeline uygunluğunu bulmuşlardır [21]. Deneysel qe ve korelasyon değerlerine bakıldığında biyokompozitlerin yalancı ikinci dereceden kinetik modeline uygunluğu görülmüştür. Adsorpsiyon kinetik modeli için sabitler 100 mg/L TC derişimi için Tablo 1’de gösterilmiştir.

3.2. Adsorpsiyon İzotermi (Adsorption Isotherms)

R² değerleri adsorpsiyon prosesinin seçiciliği için önemli bir parametredir ve bu değer R>1 ise adsorpsiyon için elverişsiz, 0 < R < 1 ise adsorpsiyon için elverişlilik durumunu sağladığına işaret eder [22]. Fakat deneyde kullanılan biyokompozitlerin her biri için durum incelendiğinde Freundlich izotermine (Şekil 3b) uygun olduğu görülmüştür. Bu durum biyokompozit yüzeyinin heterojen, adsorpsiyonun ise non-ideal olduğunu göstermektedir [23]. Genel olarak bakıldığında n_f değerlerinin 1’den büyük olması Freundlich izotermine TC iyonlarının giderimi için uygun olduğunu gösterir [24]. 25°C sıcaklıkta yapılan deneylerde kimyasal adsorpsiyona oranla fiziksel adsorpsiyon daha baskındır. TC iyonun biyokompozit malzemelere adsorpsiyonu adsorban yüzeyindeki sorpsiyon bölgelerine tutunmasıyla gerçekleşir [25].

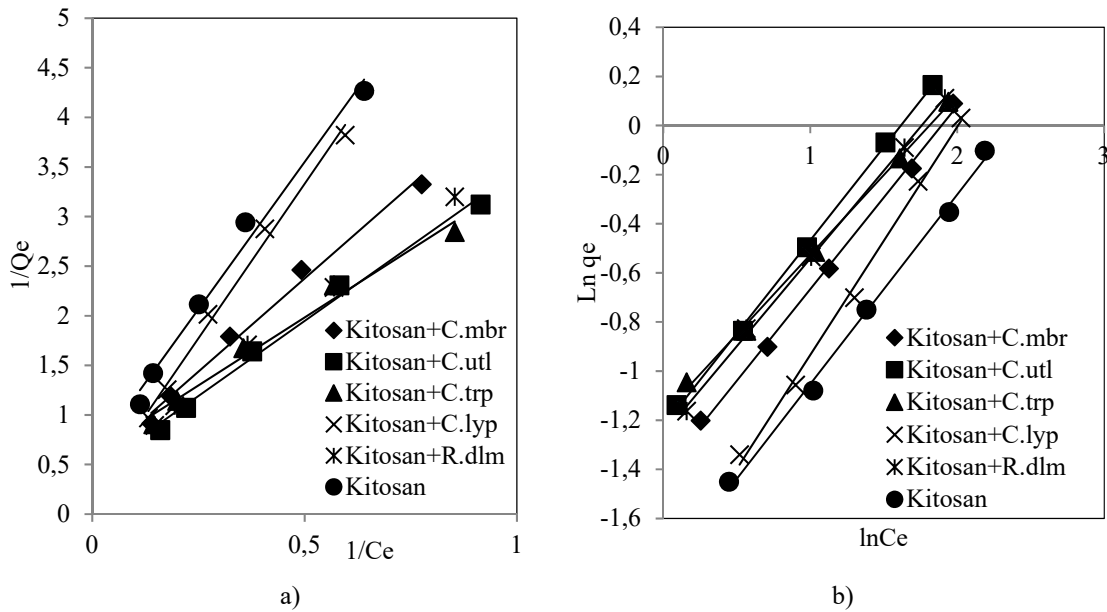
Freundlich izoterm modeli yüzeydeki enerjinin yüzeye heterojen dağıldığını ve biyokompozit yüzeyinde yer değişimi olduğunu gösterir. Adsorpsiyon biyokompozitlerin spesifik bölgelerince gerçekleşir ve tüm bölgeler birbirlerine benzer olup TC ile biyokompozit malzeme kimyasal olarak etkileşime girmez [26].



Şekil 2 a) TC adsorpsiyonu için yalnız birinci dereceden kinetik model b) yalnız ikinci dereceden kinetik model
 ((a) Pseudo-first order kinetics model (b) Pseudo-second order kinetics for TC adsorption)

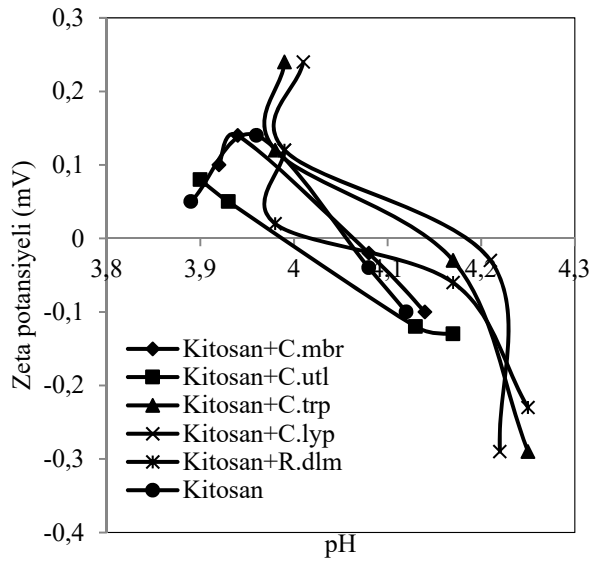
Tablo 1. TC için yalnız birinci ve ikinci dereceden kinetik model parametreleri
 (Pseudo first and second order kinetic model parameters for TC)

25°C	Deneysel veriler		Birinci dereceden kinetik model		İkinci dereceden kinetik model			
	Ce(mg/L)	qe(mg/g)	qe(mg/g)	k ₁ (1/min)	R ²	qe(mg/g)	k ₂ (g/mg min)	R ²
Kitosan+C,mbr	7,18	1,093	10,16	0,001252	0,982	1,091	0,0024	0,996
Kitosan+C,utl	6,41	1,179	11,24	0,001691	0,988	1,175	0,0030	0,999
Kitosan+C,trp	6,95	1,101	10,69	0,00123	0,996	1,092	0,0041	0,997
Kitosan+C,lyp	7,57	1,031	11,24	0,001461	0,984	1,029	0,0068	0,999
Kitosan+R,dlm	6,79	1,117	10,69	0,002921	0,982	1,106	0,0430	0,998
Kitosan	8,90	0,902	9,79	0,000921	0,985	0,989	0,0209	0,996



Şekil 3. a) Langmuir izotermi (1/Qe- 1/Ce) grafiği b) Freundlich izotermi LnQe- LnCe) grafiği
 ((a) Langmuir isotherms (1/Qe-1/Ce) graphic (b) Freundlich isotherms (LnQe –LnCe) graphic)

Kitosan-mikroorganizma biyokompozitlerinin TC adsorpsiyonu, kitosana göre daha yüksek giderim göstermiştir (Tablo 2). Bu durum, kitosan-mikroorganizma biyokompozitlerinin yüzeyinin heterojen bir yapıda olup tek tabakalı adsorpsiyona olanak sağlayacak bağlanma bölgelerinin varlığı ile açıklanabilir [27]. Bu sayede biyokompozit mikroçevresindeki TC derişimi sabit kalmasına rağmen mayaların adsorpsiyon yetenekleri ile TC giderimi kitosana göre artmıştır. Bunun nedeni mikroorganizma ailesinin en çok bilinen örneklerinden olan mayaların, mikro çevresindeki TC karşı hücrese olarak direnç gösterip bu iyonları hücre içinde biriktirmelerinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 4. Kitosan-mikroorganizma pH'ı ve zeta potansiyeli arasındaki ilişki
(Relation between PH of chitosan and the microorganism and zeta potential)

Sulu çözeltilerde pH değeri adsorpsiyon süreçlerinde önemli rol oynar. TC'nin karakteristik yönünü, biyokompozitin yüzey özelliklerini ve reaksiyon esnasında biyokompozitin kimyasal özelliklerini etkiler [28]. Deneysel çalışmaların pH değişim aralığına bakıldığında şekil 4'deki 3,85 ile 4,3

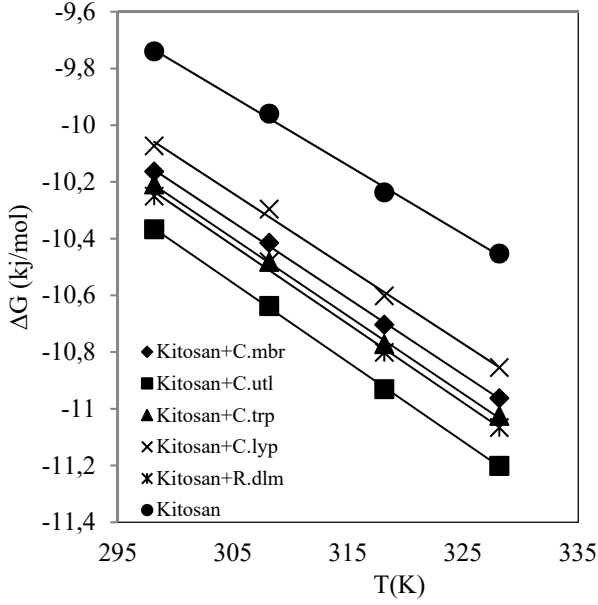
arasında değişimin pH arttıkça TC iyonlarının uzaklaştırılması azalmaktadır. Düşük pH'larda H^+ iyonunun hareketliliği TC'e oranla fazladır. Bu da TC'nin adsorpsiyonunu azaltır. Eğer çözelti pH'ı artarsa ortamda H^+ iyonun daha az olacağından TC katı yüzeye daha çok adsorplanacaktır. pH etkisi TC'nin uzaklaştırılmasında kitosanın doğal polimer yapısı ve mikroorganizmaların molekül yapısındaki adsorpsiyon performansları ile açıklanabilir [29]. TC çözeltilerinin pH'ı biyokompozit yüzeyindeki fonksiyonel grupların durumuyla ilgilidir ve her bir biyokompozit için farklı sonuçlar vermektedir. TC'nin sulu çözeltilerde pH aralığı katyonik $pH < 3,3$, melez iyonik $3,3 < pH < 7,68$ ve anyonik çözeltilerde ise $pH > 7,68$ 'dir [30]. Güler ve Sarioğlu (2014) S. cerevisiae ile Cu (II) ve Ni (II) iyonlarının adsorpsiyonu çalışmasında pH 4'de mikroorganizmanın yüksek giderim göstermiştir [31]. Deneysel optimum pH değeri 4 olarak belirlenmiştir ve TC molekülleri pH 4'de negatif ve pozitif yüke sahiptir. Elektrostatik çekim TC'nin pozitif yükleri ile $-N(CH_2)$ amin grubu ve $-OH$ grubu arasındaki hidrojen bağlanması ile gerçekleşmiştir [32].

3.2. Termodinamik Parametreler (Thermodynamic Parameters)

Gibbs serbest enerjisi, entalpi ve entropi denge sabitinin sıcaklıkla değişimine göre hesaplanmıştır. $\Delta G < 0$ olması biyokompozit çevresindeki derişimin biyokompozit içindeki derişime göre daha büyük olmasından kaynaklanır. Denge durumu gereği kendiliğinden gerçekleşen bu olayda $\Delta H > 0$ dir ve entropi sıcaklık arttıkça artmaktadır (Tablo 3). Negatif ΔG değerleri, kendiliğinden gelişerek TC'nin kitosan ve kitosan-mikroorganizma biyokompozitlerini adsorplandığını gösterir. Pozitif ΔS değeri adsorpsiyon süresince katı-sıvı ara yüzeyinde rastlantısalığın ve afinitenin artmasından kaynaklanmaktadır [33]. Çalışmalarda sadece kitosanın, hazırlanan biyokompozitlere göre adsorpsiyonu daha düşüktür (Tablo 3). ΔH değerinin negatif olması yüzeydeki etkileşimin ekzotermik olduğunu gösterir. Entalpi ve entropi değişimleri Şekil 5'de görüldüğü gibi ΔG 'ye karşı T grafiğe geçirilerek hesaplanmıştır. ΔH ve ΔS sıfırdan büyük olduğu için kitosan-mikroorganizma biyokompozitleri adsorpsiyona elverişlidir. ΔG 'nin negatif olması adsorpsiyonun artan sıcaklıklarda kendiliğinden geliştiğini; entropi etkisinin de yürütücü kuvvet olarak yer aldığını göstermiştir [34].

Tablo 2. TC için Langmuir ve Freundlich izoterm parametrelerinin karşılaştırılması
(The comparison of Langmuir and Freundlich isotherm parameters for TC)

	Langmuir			Freundlich		
	Q_c (mg/g)	b	R^2	K_f	n_f	R^2
Kitosan+C,mbr	2,008	0,132	0,989	0,243	1,340	0,998
Kitosan+C,utl	2,309	0,143	0,991	0,293	1,321	0,999
Kitosan+C,trp	1,630	0,223	0,986	0,309	1,562	0,998
Kitosan+C,lyp	2,046	0,034	0,989	1,155	1,076	0,997
Kitosan+R,dlm	2,155	0,144	0,984	0,285	1,401	0,996
Kitosan	1,718	0,098	0,987	0,161	1,297	0,997



Şekil 5. Gibbs serbest enerjisinin sıcaklıkla değişimi
(The changes in Gibbs free energy with temperature)

Ziyang vd. çalışmasında silikanın adsorpsiyon miktarını artırmak için, Fe (II)' ün silika SBA 15 (Fe-N, N-SBA15) üzerine aşılmasıyla hazırlanan adsorbanın FTIR sonuçlarında yüksek adsorpsiyon görülmüştür [35]. Bu çalışmada sadece kitosan ve kitosan-mikroorganizma ile hazırlanan biyokompozit malzemelerin sulu çözeltiden TC adsorpsiyonu incelenmiştir. Mikroorganizmaların sadece kendi başlarına olan adsorpsiyon yetenekleri yeni oluşturulmuş biyokompozit malzemenin adsorpsiyon kapasitesini artırmıştır. Mikroorganizmalar ve kitosan karışımından hazırlanan biyokompozitlerle TC adsorpsiyonunun kitosandan daha yüksek olduğu görülmüştür.

3.3. FTIR ve SEM Analizleri (FTIR ve SEM Analyses)

3.3.1. FTIR (FTIR)

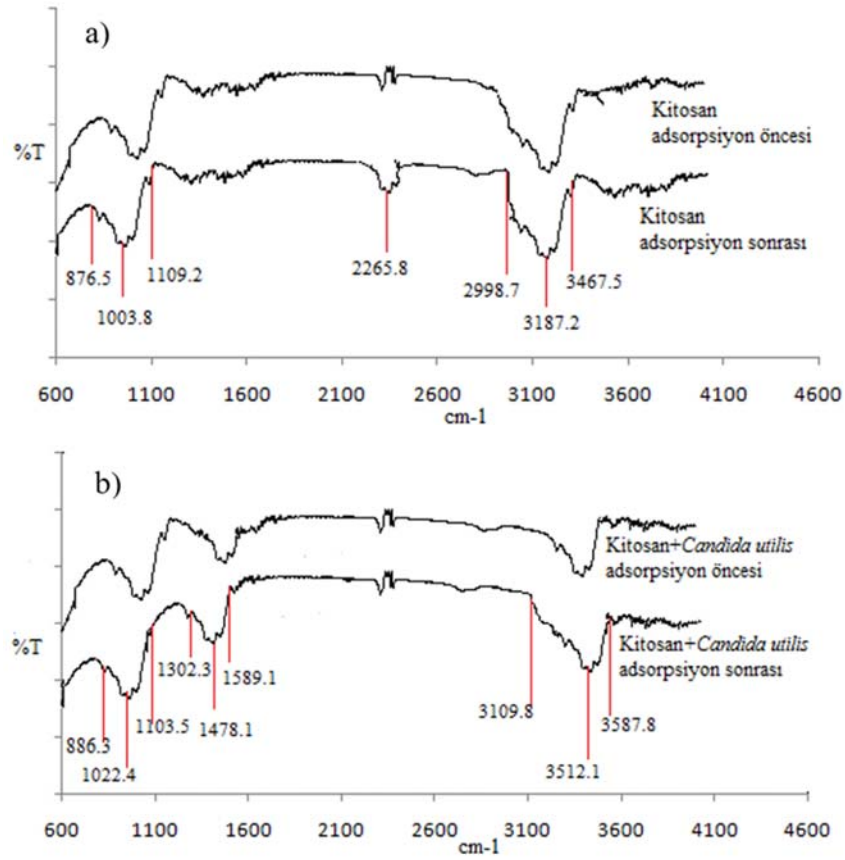
FTIR spektrumunu kitosan ve kitosan-Candida utilis biyokompozitinin adsorpsiyon öncesi ve sonrası için şekil 6a ve şekil 6b'de gösterilmektedir. Kitosanın FTIR spektrumunda, OH, N-H, CH₂ bağlarını gösteren pikler mevcuttur. Kitosanın (şekil 6a) absorpsiyon piki 2998,7-3467,5 cm⁻¹ aralığında kitosanın karakteristik piki olan hidroksil (-OH) bağı, 2265,8 cm⁻¹ dalga boyundaki amit (N-H) eğilmesi pikine ve 876,5-1109,2 cm⁻¹ pik aralığı ise CH₂'nin asimetric pikine ait olduğu düşünülmüştür. Adsorpsiyondan sonra kitosanın 2265,8 cm⁻¹ pik şiddetindeki düşüş N-H moleküllerindeki nitrojen atomu ile TC arasında yeni bir bağ oluşturmasından kaynaklandığı düşünülmüştür [36]. FTIR spektruma bakıldığında kitosan için (Şekil 6a) ve kitosan-Candida utilis biyokompoziti için (Şekil 6b) adsorpsiyon sonrası görülen pik şiddetinin adsorpsiyon öncesi görülen pik şiddetine göre arttığı ve daha yüksek pikler verdiği görülmüştür. Adsorpsiyon öncesi (Şekil 6b) kitosan-Candida utilis biyokompoziti için 3512,1 cm⁻¹ pikinin hidroksil (-OH) bağı, 1302,3-1589,1 cm⁻¹ dalga boyundaki pik amit N-H eğilmesi pikine, 886,3-1103,5 cm⁻¹ dalga boyundaki pik ise yine kitosanın CH₂'nin asimetric eğilme pikine ait olduğu görülmüştür [37]. Kitosan-Candida utilis biyokompozitinin sadece kitosana göre adsorpsiyon sonrası pik şiddetinin arttığı ve daha geniş aralıklarda pikler verdiği görülmüştür. Bu durum ise adsorpsiyon prosesi ile çoğul fonksiyonel grubun TC ile etkileşime geçmesinden ve Candida utilis'in yapısındaki fonksiyonel grupların TC 'nin karşı afinitesinin yüksek olmasıyla ilgili olduğu düşünülmüştür [38].

3.3.2. SEM (SEM)

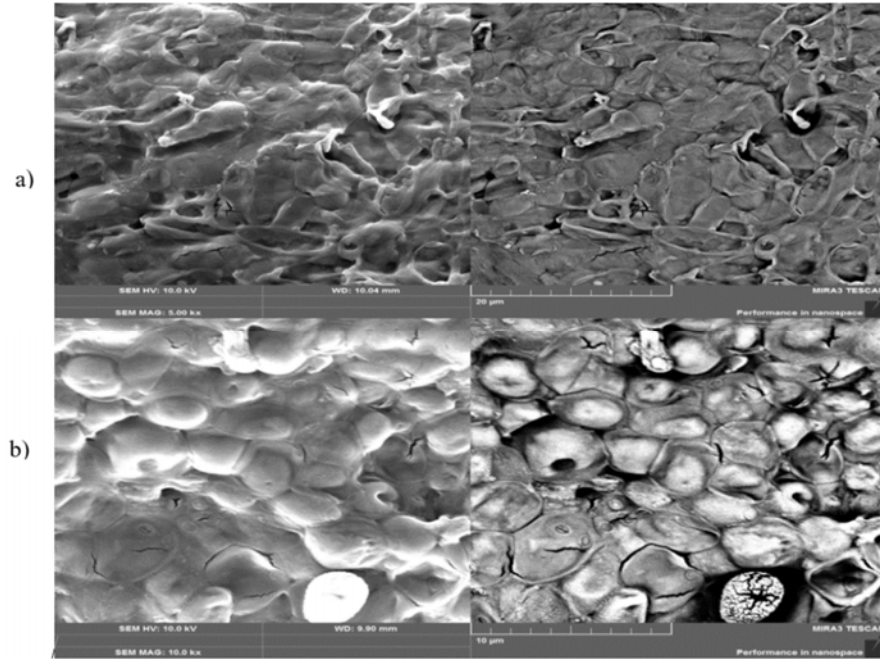
Kitosan-Candida utilis biyokompozitleri için şekil 7'de adsorpsiyon öncesi ve sonrası SEM görüntüleri verilmiştir.

Tablo 3. TC için termodinamik parametreler (Thermodynamic parameters for TC)

ΔG(kJ/mol)						
T (K)	Kitosan +C,mbr	Kitosan +C,utl	Kitosan +C,trp	Kitosan +C,lyp	Kitosan+R,dlm	Kitosan
298,15	-10,16	-10,36	-10,21	-10,07	-10,25	-9,73
308,15	-10,41	-10,63	-10,48	-10,29	-10,48	-9,95
318,15	-10,70	-10,93	-10,77	-10,60	-10,81	-10,23
328,15	-10,93	-11,20	-11,02	-10,85	-11,06	-10,45
ΔH(kJ/mol)						
Kitosan +C,mbr	Kitosan +C,utl	Kitosan +C,trp	Kitosan +C,lyp	Kitosan+R,dlm	Kitosan	
-2,02	-1,93	-2,04	-2,15	-1,98	-2,44	
TΔS(kJ/mol)						
Kitosan +C,mbr	Kitosan+C,utl	Kitosan +C,trp	Kitosan +C,lyp	Kitosan+R,dlm	Kitosan	
298,15	8,12	8,41	8,16	7,91	8,24	7,27
308,15	8,41	8,69	8,44	8,16	8,52	7,51
318,15	8,67	8,98	8,71	8,43	8,81	7,76
328,15	8,94	9,26	8,98	8,69	9,07	8,01



Şekil 6. a) Adsorpsiyon öncesi ve sonrası Kitosan b) Adsorpsiyon öncesi ve sonrası Kitosan-Candida utilis biyokompoziti
(a) Chitosan before and after adsorption (b) Chitosan-Candida utilis biocomposite before and after adsorption)



Şekil 7. a) Adsorpsiyon öncesi kitosan-Candida utilis biyokompoziti b) Adsorpsiyon sonrası kitosan-Candida utilis biyokompoziti
(a) Chitosan-Candida utilis biocomposite before adsorption (b) Chitosan-Candida utilis- biocomposite after adsorption)

Adsorpsiyon sonrasında kitosan-Candida utilis biyokompozitinin gözenekli yapıda olduğu görülmektedir. Gözenek büyüklüğü ile artan yüzey alanı sayesinde deneysel sonuçlardan da anlaşılacağı gibi kitosan-Candida utilis biyokompoziti için TC adsorpsiyon değerleri daha yüksek çıkmıştır. Kitosan-Candida utilis biyokompoziti adsorpsiyon sonrasında gözeneklerinin tamamen dolduğu ve bu da TC adsorpsiyonunun olduğunu göstermektedir. Adsorpsiyon öncesi kitosan-Candida utilis biyokompoziti için candida utilis ile kitosan arasındaki bağların koparak bu bölgelere TC adsorpsiyonunun olduğu düşünülmektedir [39].

4. SİMGELER (SYMBOLS)

C_e	: Adsorpsiyon sonrası çözültide kalan maddenin konsantrasyonu (mg/dm^3)
C_a	: Adsorbanın birim kütleinde tutulan madde miktarı (mg/g)
q_e	: Birim adsorban üzerine adsorplanan madde miktarı (mg/g)
K_F	: Deneysel olarak hesaplanan adsorpsiyon kapasitesi
b	: Adsorbanın adsorptivitesine bağlı olan sabit
$k_{1,ad}$: Birinci derece hız sabiti (dk^{-1})
k_2	: İkinci derece hız sabiti ($\text{g mg}^{-1}\text{dk}^{-1}$)
n	: Adsorpsiyon derecesi
a_L	: Adsorpsiyon enerjisine bağlı olan sabit (dm^3/mg)
ΔG^0	: Serbest enerji değişimi (kJ/mol)
ΔH^0	: Entalpi değişimi (kJ/mol)
ΔS^0	: Entropi değişimi ($\text{kJ}/\text{mol K}$)
T	: Mutlak sıcaklık (Kelvin)
R	: Gaz sabiti ($8,314 \text{ J}/\text{mol K}$)

5. SONUÇLAR (CONCLUSION)

Bu çalışmada kitosan, Candida türü maya ve R.delemar mantarı ile hazırlanan biyokompozit malzemeler ile TC adsorpsiyonu incelenmiştir. Mikroorganizmaların sadece kendi başlarına olan adsorpsiyon yetenekleri yeni oluşturulmuş biyokompozit malzemenin adsorpsiyon kapasitesini artırmıştır. Deneysel verilerin farklı derişimlerde Langmuir ve Freundlich izotermine uygunluğu araştırılmış, kinetik parametreler optimum koşullarda yalancı birinci ve ikinci dereceden kinetik modeli kullanılarak hesaplanmıştır. Freundlich adsorpsiyon izoterminin deneysel verilere uyduğu görülmüştür. Termodinamik parametreler için Gibbs serbest enerjisi, entalpi ve entropi denge sabitinin sıcaklıkla değişimine göre hesaplanmıştır. Negatif ΔG değerleri kendiliğinden geliştiğini ve TC'nin kitosan, kitosan-mikroorganizma biyokompozitlerini adsorplandığını gösterir.

Kitosan-mikroorganizma biyokompozitleri için TC giderimi sadece kitosana göre daha yüksektir. Yapılan bu çalışma ile yeni biyokompozit malzemelerin TC giderimi için alternatif olacağı, literatürde benzer çalışmaların az olması nedeniyle de bu çalışmanın yeni biyokompozit malzemelerin üretimi için örnek bir çalışma olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

1. Drewes J.E., Removal of pharmaceutical residues during wastewater treatment, in: Petrovic M., Barcelo D., (Eds.), Analysis, Fate and Removal of Pharmaceuticals in the Water Cycle, Wilson & Wilson's, Elsevier, Amsterdam, 50, 427–447, 2007.
2. Bağda E., Ersan M., Bağda E., Investigation of adsorptive removal of tetracycline with sponge like, Rosa canina gall extract modified, polyacrylamide cryogels, J. Environ. Chem. Eng., 1, 1079–1084, 2013.
3. Sarmah, A.K., Meyer, M.T., Boxall, A.B.A., A global perspective on the use, sales, exposure pathways, occurrence, fate and effects of veterinary antibiotics (VAs) in the environment, Chemosphere, 65, 725–759, 2006.
4. Watkinson, A.J., Murby, E.J., Costanzo, S.D., Removal of antibiotics in conventional and advanced wastewater treatment: Implications for environmental discharge and wastewater recycling, Water Res., 41, 4164–4176, 2007.
5. Chang, P., Li, Z., Yu, T., Munkhbayer, S., Kuo, T., Hung, Y., Jean, Lin, J. K., Sorptive removal of tetracycline from water by palygorskite, J. Hazard. Mater., 165, 148-155, 2009.
6. Zhao, Y. Tan, Y. Guo, Y. Gu, X, Wang, X., Y. Zhang, Y., Interactions of tetracycline with Cd(II), Cu(II) and Pb(II) and their cosorption behavior in soils, Environ. Pollut., 180, 206–213, 2013.
7. Chen, W.R., Huang, C.H., Adsorption and transformation of tetracycline antibiotics with aluminum oxide, Chemosphere, 79, 779–785, 2010.
8. Caroni, A.L.P.F., Lima, C.R.M., Pereira, M.R., Fonseca, J.L.C., The kinetics of adsorption of tetracycline on chitosan particles, J. Colloid and Interface Sci., 340, 182-191, 2009.
9. Brigante, M., Schulz, P.C., Remotion of the antibiotic tetracycline by titania and titania silica composed materials, J. Hazard. Mater., 192, 1597–1608, 2011.
10. Tanis, E., Hanna, K., Emmanuel, Experimental and modelling studies of sorption of tetracycline onto iron oxides-coated quartz, Colloids Surf., A327, 57-63, 2008.
11. Godos, I., Munoz, R., Guieysse, B., Tetracycline removal during wastewater treatment in high rate algal ponds, J. Hazard. Mater., 12, 229–449, 2012.
12. Yu X., Tong S., Ge M., Wu L., Zou J., Cao C., Song W., Adsorption of heavy metal ions from aqueous solution by carboxylated cellulose nanocrystals', Journal of Environmental Sciences, 25 (5), 933–943, 2013.
13. Chatterjee, S.K., Bhattacharjee, I., Chandra, G., Biosorption of heavy metals from industrial waste water by Geobacillus thermodenitrificans, Journal of Hazardous Materials, 175, 117–125, 2010.
14. Monvisade, P., Siriphannon, P., Chitosan intercalated montmorillonite: Preparation, characterization and cationic dye adsorption, Applied calay Science, 42, 427-431, 2009.
15. Erşan, M., Removal of tetracycline using new biocomposites from aqueous solutions, Desalination and Water Treatment, 57, 1-11, 2015.

16. Cheung, W.H., Ng, J.C.Y., McKay, G., Equilibrium studies for the sorption of lead from effluents using chitosan, *Chemosphere*, 52 (6), 1021-1030, 2003.
17. Suhong, C., Qinyan, Y., Baoyu, G., Qian, L., Xing, X., Removal of Cr(VI) from aqueous solution using modified corn stalks: Characteristic, equilibrium, kinetic and thermodynamic study, *Chemical Engineering Journal*, 168, 909–917, 2011.
18. Schmuhl, R., Krieg, H.M., Keizer, K., Adsorption of Cu (II) and Cr (VI) ions by chitosan, *Kinetics and equilibrium studies*, 23 (3), 123-133, 2001.
19. Hung, T.C., Fu, C.C., Su, C.H., Immobilization of cellulase onto electrospun polyacrylonitrile (PAN) nanofibrous membranes and its application to the reducing sugar production from microalgae, *Enzyme and Microbial Technology*, 49, 30–37, 2011.
20. Xiao Mi, Mingju, W., Fengyi, Z., Xiaqi, C., Weiqiang, Wang, Feifei, Z., Shanru, M., Yaqing, S., Weigao, Z., 'Preparation of La- modified magnetic composite for enhanced adsorptive removal of tetracycline, *Environmental Science and Pollution Research*, 24 (20), 17127-17135, 2017
21. Aslan, S., Yalçın, K., Hanay, Ö., Yıldız, B., Removal of tetracyclines from aqueous solution by nanoscale Cu/Fe bimetallic particle, *Desalin. Water Treat.* 57, 31, 2016.
22. Bamgbose, J.T., Adewuyi, S., Bamgbose, Q., Adetoye a.a., Adsorption kinetics of cadmium and lead by chitosan, *African Journal of Biotechnology*, 17, 2560-2565, 2010.
23. Aksu Z., Yener J., A comparative adsorption/biosorption study of mono-chlorinated phenols onto various sorbents, *Waste Management*, 21, 695-702, 2001.
24. Bayat, B., Comparative study of adsorption properties of Turkish fly ashes, The case of nickel (II), copper (II) and zinc (II), *Journal of Hazardous Materials*, 95 (3), 251-273, 2002.
25. Tünay, O., Kabdaşlı, I. *Fiziksel Kimya*, 1. Baskı, İ.T.Ü. Yayınları, İstanbul, 168, 1996.
26. Santiago, A.F., Calijuri, M.L., Asemay, P.P., Calijuri, Mdo., dos Reis A.J., Algal biomass production and wastewater treatment in high rate algal ponds receiving disinfected effluent, *Environ. Technol.*, 34 (13), 1877-1885, 2013.
27. Martinez, J.L., Environmental pollution by antibiotics and by antibiotic resistance determinants, *Environ. Pollut.*, 157, 2893–2902, 2009.
28. Chen, W.R., Huang, C.H., Adsorption and transformation of tetracycline antibiotics with aluminum oxide, *Chemosphere*, 79, 779–785, 2010.
29. Parolo, M.E. Savini, M.C. Valle's, J.M. Baschini, M.T. Avena, M.J., Tetracycline adsorption on montmorillonite: pH and ionic strength effects, *Appl. Clay Sci.*, 40, 179–186, 2008.
30. Wan Y., Bao Y., Zhou Q., Simultaneous adsorption and desorption of cadmium and tetracycline on cinnamon soil, *Chemosphere*, 80, 807-812, 2010.
31. Guler, U.A., Sarioglu, M., Mono and binary component biosorption of Cu (II), Ni (II) and Methylene Blue onto raw and pretreated, *S. cerevisiae*: Equilibrium and kinetics, *Desalin. Water Treat.* 52, 1–18, 2004.
32. Lin., Y., Xu, S., Li, J., Fast and highly efficient tetracyclines removal from environmental waters by graphene oxide functionalized magnetic particles, *Chem. Eng.*, 225, 679-685, 2013.
33. Xiaoli, L., Yanfeng, L., Zhengfang, Y., Preparation and characterization of new foam adsorbents of poly(vinyl alcohol)/chitosan composites and their removal for dye and heavy metal from aqueous solution', *Chemical Engineering Journal*, 178, 60–68, 2011.
34. Gupta, N., Kushwaha, A.K., Chattopadhyaya, M.C., Adsorptive removal of Pb⁺², Co⁺² and Ni⁺² by hidroxyapatite/chitosan composite from aqueous solution, *J. Taiwan Inst. Chem.*, E43, 125-131, 2012.
35. Ziyang Z., Huachun L., Huihuan L., Jiahui Q., Removal of Tetracycline antibiotics from aqueous solution by amino-Fe /II9 functionalized SBA 15', *Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 471, 133-138, 2015.
36. Başbüyük, M., Forster, C.F., 'An Examination of Adsorption Characteristics of a Basic Dye (Maxilon Red BL-N) And Live Activated Sludge System', *Process Biochem.*, 38, 1311-1316, 2003.
37. Çiftçi, Ş., Özek, S., Aksoy, S.A., Aksoy, K., Göde, F., 'Nanokil PVA/Kitosan Nanolif Sentezi ve Karakterizasyonu', *SDU Journal of Science (E-Journal)*, 10, 118-128, 2015.
38. Ahmad, M.F., Haydar, S., Qurayshi, T.A., Enhancement of biosorption of zinc ions from aqueous solution by immobilized *Candida utilis* and *Candida tropicalis* cells', *International Biodeterioration & Biodegradation*, 83, 119-128, 2003.
39. Pagnanelli, F., Petrangeli Papini, M., Trifoni, M., Veglio, F., Toro, L., Biosorption of metal ions on *Arthrobacter* sp.; Biomass characterization and biosorption modeling, *Environ. Sci. Technol.*, 34, 2773-2778, 2000.