

TEKSTİL ATIK SULARINDA BOYALARIN BİYOBOZUNMA İLE GİDERİLMESİ



İstanbul Sanayi Odası - Yıldız Teknik Üniversitesi
Doktora / Yüksek Lisans Tezlerine Sanayi Desteği Projesi



"11. Grup Giyim Eşyası Dışındaki Tekstil Mamulleri ve
Endüstriyel Tekstiller Sanayii Meslek Komitesi" adına desteklenmiştir



İSTANBUL
SANAYİ ODASI

TEKSTİL ATIK SULARINDA BOYALARIN BİYOBOZUNMA İLE GİDERİLMESİ



İstanbul Sanayi Odası - Yıldız Teknik Üniversitesi
Doktora / Yüksek Lisans Tezlerine Sanayi Desteği Projesi

Kısaltılmış Doktora Tezi

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Zeynep Mustafaev AKDESTE

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü

Eş Danışman

Prof. Dr. Hüseyin YILDIRIM

Yıldız Teknik Üniversitesi, Yalova Üniversitesi

Hazırlayan

Mithat ÇELEBİ

Yıldız Teknik Üniversitesi, Biyomühendislik Bölümü

ISBN: 978-605-137-136-8 (BASILI)
ISBN: 978-605-137-137-5 (ELEKTRONİK)
İSO Yayın No: 2012/14
Sertifika No:19176

Tekstil Atık Sularında Boyaların Biyobozunma ile Giderilmesi
Kısaltılmış Doktora Tezi,
İstanbul Sanayi Odası, İstanbul

Grafik Tasarım ve Uygulama:
Mürettebat Reklamcılık ve İletişim Hizmetleri Ltd. Şti.
Badem11, Villa16, Bahçeşehir 34538 İstanbul
Tel: (212) 608 06 08
www.murettebat.com.tr

Tüm Hakları Saklıdır. Bu yayındaki bilgiler ancak kaynak gösterilmek suretiyle kullanılabilir.

Bu alışma; İstanbul Sanayi Odası ile Yıldız Teknik Üniversitesi arasında, sanayi-üniversite işbirliğinin geliştirilmesi ve akademik çalışmaların ekonomik kalkınmaya katkısının artırılması amacıyla başlatılan "ISO-YTÜ Doktora / Yüksek Lisans Tezlerine Sanayi Desteği" projesi kapsamında yayınlanmıştır.

Üniversitede doktora ve yüksek lisans tezlerini yürüten araştırmacıların desteklendiği proje ile üniversite ve sanayinin gündemini buluşturarak, ticari ürüne dönüştürülen bilimsel araştırma ve patent sayısının artmasına, küresel rekabet gücümüzün gelişmesine katkıda bulunulması hedeflenmektedir.

Proje kapsamında, üniversitede hali hazırda yürütölen doktora/yüksek lisans tez/tezleri arasından uygun bulunanlar ile Meslek Komitelerimizin sektörel ihtiyaçları doğrultusunda belirlediği konulardaki akademik çalışmalara destek verilmektedir.

İstanbul Sanayi Odası 11. Grup Giyim Eşyası Dışındaki Tekstil Mamulleri ve Endüstriyel Tekstillere Sanayii Meslek Komitesi adına desteklenen bu çalışmanın sanayinin ihtiyaçlarına yanıt verecek şekilde hayata geçirilmesine yönelik katkılarından dolayı Tez Değerlendirme Komitesi üyelerimiz olan;

Ali Zafer şışman (Telasis Tekstil Ürünleri)

Abdülkadir Kalaycıoğlu (Tasarım Tekstil)

Adil Tuğsal Solak (Gürünlüler Tekstil)

Kenan şışman (Hassan Tekstil)

Fikret Tanrıverdi'ye (İnci Tela-Elyaf) teşekkür ediyoruz.

Başta araştırmacı olmak üzere, araştırmacıya danışmanlık yapan öğretim üyesi ve Değerlendirme Komitesi'nin katkılarıyla oluşturulan ve sanayi-üniversite işbirliğinin işlevsel ve somut bir çıktısı olan bu çalışmanın sektöre fayda sağlamasını ümit ediyoruz.

Saygılarımızla,
İstanbul Sanayi Odası

ÖNSÖZ	9
KISALTMA LİSTESİ	10
SİMGE LİSTESİ	10
ŞEKİL LİSTESİ	11
ÇİZELGE LİSTESİ	13
ÖZET	15
ABSTRACT	17
BÖLÜM 1	19
GİRİŞ	19
BÖLÜM 2	21
BOYAR MADDELER	21
2.1 Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması	21
2.2 Boyar Maddelerin Kullanım Amacına Göre Sınıflandırılması	23
2.2.1 Asidik Boyar Maddeler	23
2.2.2 Bazik (Katyonik) Boyar Maddeler	23
2.2.3 Reaktif Boyar Maddeler	24
2.2.4 Dispers Boyar Maddeler	25
2.2.5 Direkt Boyar Maddeler	25
2.2.6 Mordan Boyar Maddeler	25
2.2.7 Küpe Boyar Maddeler	25
2.2.8 Sülfür Boyar Maddeler	25
BÖLÜM 3	27
TEKSTİL ATIK SULARININ ÖZELLİKLERİ ve ATIK SULARDAKİ BOYALARIN ÇEVREYE ETKİLERİ	27
3.1 Boya Türlerinin Bağlanma Yüzdeleri	27
3.2 Atık Sulardaki Kimyasalların ve Boyaların Oluşturduğu Kimyasal Riskler	28
3.2.1 Toksikite	28
3.2.2 Atık Sulardaki Ağır Metaller	30
3.2.3 Yardımcı Kimyasallar	31
3.2.4 pH	31
3.2.5 Renk	31
BÖLÜM 4	33
TEKSTİL ATIK SULARININDA BOYALARIN GİDERİLME YÖNTEMLERİ	33
4.1 Fiziksel Arıtma	33
4.1.1 Adsorpsiyon	33
4.1.2 Sedimentasyon	33
4.1.3 Membran Filtrasyonu	33

4.2	Kimyasal Arıtma	34
4.3	Biyolojik Arıtma	34
4.3.1	Aerobik Arıtma	35
4.3.2	Anaerobik Arıtma	35
4.3.3	Biyosorpsiyon	35
BÖLÜM 5		39
	ATIK SULARDAKİ BOYALARIN RENGİNİN ENZİMLER İLE GİDERİLMESİ	39
5.1	Horseradish Peroksidaz Enzimi (HRP)	39
5.2	Lakkaz Enzimi	39
5.3	Lignin Peroksidaz Enzimi (LiP)	39
5.3.1	Redoks Mediatörleri	40
BÖLÜM 6		41
	ENZİM İMMOBİLİZASYONU	41
6.1	Enzim Stabilizasyonu	41
6.2	Enzim İmmobilizasyonu	41
6.2.1	Enzimlerin İmmobilizasyon Yöntemleri	42
BÖLÜM 7		43
	MİKROORGANİZMA İLE BOYA GİDERME	43
7.1	Beyaz Çürükçül Mantarlar	43
7.1.1	Mikroorganizma ile Renk Giderimini Etkileyen Faktörler	43
7.1.2	Besiyeri içeriği	43
7.1.2.1	Karbon Kaynağı	43
7.1.2.2	Nitrojen Kaynağı	43
7.1.2.3	Diğer Bileşenler	44
7.1.3	pH	44
7.1.4	Oksijen	44
7.1.5	Sıcaklık	44
7.1.6	Başlangıç Boya Konsantrasyonu	44
BÖLÜM 8		47
	DENEYSEL ÇALIŞMALAR ve DENEY SONUÇLARI	47
8.1	Horseradish Peroksidaz Enziminin Aktivite Tayini	47
8.1.1	Kullanılan Reaktifler	47
8.1.2	Horseradish Peroksidaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi	47
8.1.3	Aktivite Değerlerinin Hesaplaması (U/mg)	47
8.2	Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesi	48
8.2.1	HRP Enzimi ile Boya Gidermenin Şematiksel Gösterimi	48
8.2.2	RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine pH' ın Etkisinin İncelenmesi	48
8.2.3	RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Enzim Konsantrasyonunun Etkisi İncelenmesi	50
8.2.4	RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisinin İncelenmesi	51
8.2.5	RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Sıcaklığın Etkisinin İncelenmesi	52

8.2.6	RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Başlatıcı (H ₂ O ₂) Konsantrasyonunun Etkisinin İncelenmesi	53
8.2.7	RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Üre Konsantrasyonunun Etkisinin İncelenmesi	54
8.2.8	NaCl Konsantrasyonunun RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Etkisi	55
8.3	İmmobilize Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Boya Giderme	56
8.3.1	Polisülfon Polimerinin Modifikasyonu	56
8.3.2	Modifiye Polimerlerin İşlenmemiş Kumaşın Üzerine Tutturulması	57
8.3.3	Polimer Üzerine Enzim İmmobilizasyonu	58
8.3.4	RB 19 ve AB 1 Boyalarının İmmobilize Horseradish Peroksidaz Enzimi (kumaş-modifiye-PSU-HRP) İle Giderilmesi	59
8.3.5	İmmobilize Enzimin Farklı Koşullarda Aktivite Tayini	60
8.4	Trametes Versicolor Mikroorganizması ile Boyaların Giderilmesi	63
8.4.1	Mikroorganizmanın Katı Besiyerine Ekimi (% 3' lük malt agar katı besi yeri)	63
8.4.2	Mikroorganizmanın Sıvı Besiyerinde Üretimi	64
8.4.3	Boya Giderme Besi Yerinin Hazırlanması	64
8.4.4	Trametes Versicolor ile Farklı Boya Sınıflarına Ait Boyaların Giderilmesi	65
8.4.4.1	Asid Black 1 (AB 1) Boyasının (Asidik Boya) Trametes Versicolor ile Giderilmesi	65
8.4.5	Reaktif Blue 19 (RB 19) Boyasının (Reaktif Boya) Trametes Versicolor ile Giderilmesi	68
8.4.6	Dianix (Dispers) Boyaların Trametes Versicolor ile Giderilmesi	69
8.4.6.1	Dianix Yellow CC (DYCC)	69
8.4.6.2	Dianix Reaktif Blue R (DRBR)	69
8.4.6.3	Dianix Navy CC (DNCC)	69
8.4.7	Gerçek Tekstil Boya Atık Suyunun Trametes Versicolor ile Giderilmesi	71
GENEL SONUÇLAR VE ÖNERİLER		75
DENEY ÇALIŞMALARIN ÖZETİ VE SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ		79
KAYNAKLAR		83
ÖZ GEÇMİŞ		87

Değerli katkı ve yönlendirmelerinden dolayı değerli danışmanım Yrd. Doç. Dr. Zeynep Mustafaev Akdeste ve değerli eş danışmanım Prof.Dr. Hüseyin Yıldırım'a,

Çalışmamızda her türlü bilimsel katkı ve desteklerinden dolayı Doç. Dr. Melda Altıkatoğlu'na ve mikroorganizma ile kısmında tecrübelerine başvurduğumuz Doç. Dr. Ayşegül Peksel'e, çalışmanın polimerler ile ilgili kısmında yardımlarını aldığım Yrd. Doç. Dr. Mehmet Arif Kaya'ya,

Başta İstanbul Sanayi Odası olmak üzere, Tez Değerlendirme Komitesi olarak geribildirimlerini esirgemeyen "ISO 11. Grup Giyim Eşyası Dışındaki Tekstil Mamulleri ve Endüstriyel Tekstiller Sanayii Meslek Komitesi"ne ve Tez Değerlendirme Komitesi ile araştırmacı arasında arasındaki iletişimi sağlayan Hakan Çoban'a

Lisans, yüksek lisans ve doktora eğitimim ilk yılları süresince, çok değerli katkı ve yardımlarını aldığım Y.T.Ü. Biyomühendislik Bölümünün kurulmasında emeği geçen rahmetli Prof. Dr. Huriye KUZU'ya ve Biyomühendislik Bölümü' nün kurucusu olan rahmetli Prof. Dr. Mehmet Mustafaev AKDESTE'ye,

Y.T.Ü. Biyomühendislik Bölüm Başkanı Prof.Dr. İbrahim Işıldak'a, Prof. Dr. Mustafa Cemek'e, Prof. Dr. Adil Allahverdiyev' e, Doç. Dr. Sevil Yücel'e, ve diğer Biyomühendislik Bölümü hocalarıma laboratuvarlarını bizlere açtıkları için teşekkür ederim.

Hayatımın her döneminde daima bana maddi ve manevi destek olan ve hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan öncelikle sevgili Anneme, Babama, Kardeşlerime, Kimyager Mehmet Toraman'a ve diğer arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Destekleri, ilgisiyle ve sabrı ile hep yanımda olan sevgili eşime ve manevi desteğini hissettiğim iki oğluma içten teşekkürlerimi sunarım.

Mart, 2013

Mithat ÇELEBİ

KISALTMA LİSTESİ

RB 19	Reaktif Blue 19
AB 1	Asid Black 1
HRP	Horseradish Peroksidaz
UV-Vis.	Ultraviole Visible (Ultraviole Görünür Bölge spektrofotometre)
LC-MS	Sıvı kromatografisi ve Kütle Spektrofotometresi
KOİ	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
BOİ	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
AKM	Askıda katı madde
LiP	Lignin Peroksidaz
MnP	Mangan Peroksidaz

SİMGE LİSTESİ

°C	Santigrat derece
g	gram
mg	miligram
L	litre
ml	mililitre
μ	mikro
μl	mikrolitre
M	Molar
nm	nanometre
U	Ünite

Şekil 2.1	Asid Black 1 boyası [6].	23
Şekil 2.2	Bazik Blue 41	23
Şekil 2.3	Reaktif Blue 19 boyası	24
Şekil 2.4	C.I: Dispers Blue 3 (DB3)	25
Şekil 8.1	30 °C' de Farklı pH'larda HRP enzimi etkisi ile % RB 19 boya giderme	49
Şekil 8.2	RB 19 boyasının (110 mg L ⁻¹) pH: 5,0 ve 30 °C' de farklı enzim konsantrasyonlarında % boya giderme	50
Şekil 8.3	RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı RB 19 boya konsantrasyonlarında 10 dak. süresince pH: 5 ve 40 °C' de 594 nm deki % giderme değerleri.	51
Şekil 8.4	pH: 5,0 ve farklı sıcaklıklarda (25-50 °C) HRP enzimi ile RB 19 boyasının (110 mgL ⁻¹) % giderilmesi	52
Şekil 8.5	RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı H ₂ O ₂ (% 1' lik) başlatıcısı konsantrasyonlarında 15 dk. süresince pH: 5 ve 30 °C' de 594 nm % giderme	53
Şekil 8.6	RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı üre konsantrasyonlarında 30 dak. süresince pH: 5 ve 30 °C' de % giderme	54
Şekil 8.7	Farklı NaCl konsantrasyonlarında pH: 5, 30 °C, RB 19 boyasının HRP enzimi ile % giderilmesi	56
Şekil 8.8	Bisfenol A polisülfon polimerinin metakrillenmesi	57
Şekil 8.9	Bisfenol AF bazlı polisülfon polimerinin metakrillenmesi	57
Şekil 8.10	Enzimin modifiye PSU polimere immobilizasyonu	58
Şekil 8.11	Enzimin modifiye AF-PSU polimere immobilizasyonu.	58
Şekil 8.12	A-PSU desteği üzerine immobilize enzimin tekrar kullanılması ile iki boyanın farklı günlerde giderilmesi (k: enzim polimer sisteminin tekrar kullanımı)	59
Şekil 8.13	AF-PSU desteği üzerine immobilize enzimin tekrar kullanılması ile iki boyanın farklı günlerde giderilmesi (k: enzim polimer sisteminin tekrar kullanımı)	60
Şekil 8.14	HRP ve immobilize enzimlerin 4 °C farklı sürelerde bekledikten sonra pH:5.0 ve 25 °C' de hesaplanan aktiviteleri	61
Şekil 8.15	HRP ve immobilize enzimlerin farklı pH ve 25 °C' de hesaplanan aktiviteleri	61
Şekil 8.16	HRP ve immobilize enzimlerin pH: 5.0' te farklı sıcaklıklarda hesaplanan aktiviteleri	62
Şekil 8.17	HRP ve immobilize enzimlerin pH: 5.0 ve 50 °C' de farklı bekleme sürelerinde hesaplanan aktiviteleri	62
Şekil 8. 18	Katı besiyerinde Trametes Versicolor' ın üretilmesi	63
Şekil 8.19	Sıvı besiyerinde üretilen misellerin üstten ve yandan görünüşü	64
Şekil 8.20	Boya Çözeltilerine Sıvı Besiyerinin ilavesinden sonraki görünüşleri	64
Şekil 8.21	Asid Black 1 boyasının farklı konsantrasyonlarında boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de % giderilmesi	65
Şekil 8.22	Çalkalamalı su banyosunda 4. gün sonunda 3 farklı konsantrasyonda AB 1 boyasının giderilmesi (mavi renk-kontrol)	66
Şekil 8.23	Çalkalamasız su banyosunda 4. gün sonunda 3 farklı konsantrasyonda AB 1 boyasının giderilmesi (mavi renk-kontrol)	66
Şekil 8. 24	Çalkalamalı su banyosunda yapılan AB 1 boyasının giderilme örneklerinin santrifüjünden sonraki görünümü (mavi renk-kontrol)	66

Şekil 8.25	Asid Black 1 (AB 1- NBB) boyasının (700 mg/L) Trametes Versicolor ile 4. gün sonunda çalkalamalı (% 93,5 boya giderme) ve çalkalamasız (% 91 boya giderme) koşullarda giderilmesinden sonra alınan UV-Vis. spektrumları.	67
Şekil 8.26	RB 19 boyasının boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de %' de giderilmesi	68
Şekil 8.27	UV-Vis. Spektrofotometre ile Dianix Navy CC boyasının Trametes Versicolor ile farklı sürelerde renk gideriminin incelenmesi	70
Şekil 8.28	Dianix Reaktif Blue R (DBRB) ve Dianix Navy CC (DNCC) boyalarının iki farklı konsantrasyonda Trametes versicolor ile % giderilmesi	70
Şekil 8.29	Bir tekstil fabrikasından alınan atık suyun UV-vis. Spektrofotometrede incelenmesi sonucu elde edilen spektrumlar	71
Şekil 8.30	Tekstil fabrikası atık suyunun farklı pH' larda Trametes versicolor mikroorganizması ile %' de giderilmesi	72
Şekil 8.31	Farklı koşullarda çalkalamalı olarak 30 °C' de 50 mL atık suyun % giderilmesi	73
Şekil 8.32	250 mL atık suyun farklı besi yeri konsantrasyonlarında 1,6 mM HBT' li ortamda pH: 3,6' da 30 °C' de 10 mL m.o sıvısı ile giderilmesi	73
Şekil 9.1	Reaktif Blue 19 boyasının Horseradish Peroksidaz enzimi ile renksizleştirilmesi işlemi	75
Şekil 9.2	Horseradish Peroksidaz Enziminin modifiye (aktifleştirilmiş) polisülfon polimerine immobilizasyonu	76
Şekil 9.3	İmmobilize Horseradish Peroksidaz enzimi ile Reaktif Blue 19 ve Asid Black 1 boylarının renksizleştirilme işlemi	76
Şekil 9.4	Trametes Versicolor ile boya giderme işleminin aşamaları	77
Şekil 9.5	Trametes Versicolor ile renk giderimi işlemi için ön görülen sistem	78

Çizelge 1.1	Boyar maddelerin sınıfları, kimyasal tipleri ve uygulamaları [5],[10].	22
Çizelge 2.1	Reaktif Blue 19 Boyasının karakteristikleri	24
Çizelge 3.1	Tekstil Endüstrisi Atık Sularının Özellikleri	27
Çizelge 3.2	Farklı boya türlerinin için uygulamaları ve bağlanmayan boya yüzdesi (%) [10].	28
Çizelge 3.3	Boyaların toksisite dereceleri [14].	28
Çizelge 3.4	Tekstil endüstrisi kaynaklı çevre ve su kirleticisi sınıfları [16].	29
Çizelge 3.5	1994' te Alman Hükümeti Tarafından Yasaklanan Kanserojen Aromatik Aminlerin Listesi [14].	29
Çizelge 3.6	Atık sulardaki ağır metal kaynakları [16].	30
Çizelge 3.7	Boyaların ağır metal içeriği [14], [16].	30
Çizelge 4.1	Atık su arıtma yöntemleri [20].	33
Çizelge 4.2	Boya gidermede fiziksel ve kimyasal yöntemler ve onların spesifik dezavantajları [5].	34
Çizelge 4.3	Tekstil Atık su Arıtma Yöntemlerinin Avantajları ve Dezavantajları [14], [29].	36
Çizelge 6.1	Boya gidermede immobilize oksidoredüktazların uygulamaları [5].	42
Çizelge 7.1	Tekstil boyar maddelerinin gideriminde farklı anaerobik proseslerin performansı [44].	45
Çizelge 8.1	30 °C' de farklı pH' larda HRP enzimi etkisi ile % RB 19 boyasının giderilme değerleri	49
Çizelge 8.2	RB 19 boyasının (110 mg L ⁻¹) pH: 5,0 ve 30 °C' de farklı enzim konsantrasyonlarında % boya giderme değerleri	50
Çizelge 8.3	RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı RB 19 boya konsantrasyonlarında 10 dak. süresince pH: 5 ve 30 °C' de 594 nm deki % giderme değerleri	51
Çizelge 8.4	pH: 5,0 ve farklı sıcaklıklarda (25-50 °C) HRP enzimi ile RB 19 boyasının (110 mg L ⁻¹) % giderilme değerleri	52
Çizelge 8.5	RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı H ₂ O ₂ başlatıcısı konsantrasyonlarında 15 dk. süresince pH: 5 ve 30 °C' de 594 nm % giderme sonuçları	53
Çizelge 8.6	RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı üre konsantrasyonlarında 30 dak. süresince pH: 5 ve 30 °C' de % giderme	54
Çizelge 8.7	Farklı NaCl konsantrasyonlarında pH: 5, 30 °C., RB 19 boyasının HRP enzimi ile % giderilmesi	55
Çizelge 8.8	Reaktif Blue 19 ve Asid Black 1 Boyalarının iki farklı immobilize enzim (met-PSU immobilize enzim ve AF-PSU immobilize enzim) ile farklı günlerde tekrar kullanılması ile % giderilmesi	59
Çizelge 8.9	AFM' den elde edilen polimerlerin ve immobilize enzimlerin yüzey pürüzlülük değerleri	63
Çizelge 8.10	AB 1 boyasının boya giderme besiyerinde pH: 3,6' da 30 °C' de Trametes Versicolor ile giderilmesi	65
Çizelge 8.11	Reaktif Blue 19 boyasının boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de giderilmesi	68
Çizelge 8.12	Dianix Yellow CC boyasının boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de %' de giderilmesi	69

Çizelge 8.13	Dianix Reaktif Blue R (DRBR) ve Dianix Navy CC (DNCC) boya larının iki farklı konsantrasyonlarda (DRBR 1: 16 mg L ⁻¹ , DRBR 2: 32 mg L ⁻¹ , DNCC 1: 60 mg L ⁻¹ , DNCC 2: 120 mg L ⁻¹) Trametes versicolor ile giderilmesinde elde edilen Absorbans değerleri	69
Çizelge 8.14	Dianix Reaktif Blue R ve Dianix Navy CC boya larının farklı iki konsantrasyonda (DRBR 1: 16 mg L ⁻¹ , DRBR 2: 32 mg L ⁻¹ , DNCC 1: 60 mg L ⁻¹ , DNCC 2: 120 mg L ⁻¹) Trametes versicolor ile % giderilmesi	69
Çizelge 8.15	Bir tekstil fabrikasından alınan atık suyun farklı pH' larda çalkalamalı su banyosunda 30 °C' de boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile % giderilmesi	72
Çizelge 8.16	pH 3,6' da farklı mikroorganizma hacimlerinde ve HBT' li ve HBT' siz koşullarda çalkamalı olarak 30 °C' de 50 mL atık suyun giderilmesi	72
Çizelge 8.17	250 mL atık suyun farklı besi yeri konsantrasyonlarında 1,6 mM HBT' li ortamda pH: 3,6' da 30 °C' de 10 mL sıvı besiyeri (Trametes Versicolor) ile giderilmesi (Otoklavlanmadı)	73

TEKSTİL ATIK SULARINDA BOYALARIN BİYOBOZUNMA İLE GİDERİLMESİ**Mithat ÇELEBİ**

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Kısaltılmış Doktora Tezi

Tez Danışmanı:

Yrd. Doç. Dr. Zeynep Mustafaev AKDESTE

Eş Danışman:

Prof. Dr. Hüseyin YILDIRIM

Tekstil endüstrisi, Türkiye' nin gelişmesinde ve istihdamın artmasında önemli rol üstlenen sektörlerin başında gelmektedir. Bu hızlı gelişim, boyama ve baskı işlemlerinden gelen kirlilik taşıyan atık suların içerdiği boyar maddelerin ve kimyasal maddelerin arıtma gerekliliğini de beraberinde getirmektedir.

Çevre kirliliği ve su kirliliği canlıların yaşam alanlarını ve kalitesini olumsuz etkileyen konulardan birisidir. Su kirliliğini oluşturan endüstriyel atık sular içerisinde tekstil atık suları içerdikleri çok çeşitli kimyasallar ve boyar maddeler nedeniyle dikkat çekmektedirler. Organik kirlilikler ve renkli boya atıkları tekstil sektöründe temel kirlenici sorunlardandır. Bu sebeplerden dolayı, boyahane atık sularının arıtılması hayati önem taşımaktadır.

Bu doktora tezi çalışmasında sırası ile aşağıdaki konular çalışılmıştır;

Horseradish Peroksidaz enzimi ile Reaktif Blue 19 (reaktif boya) boyasının farklı ortam koşullarında (sıcaklık, pH, konsantrasyon, üre, tuz vb.) renksizleştirme çalışmaları yapılarak Reaktif Blue 19 boyası için optimum boya giderme koşulları belirlendi.

Horseradish Peroksidaz enzimi boya gideriminde tekrar kullanılması amacıyla katı bir destek üzerine immobilize edildi. Destek materyali olarak iki farklı polisülfon polimeri kullanıldı. Polisülfon polimerleri immobilizasyon öncesi modifiye edilerek aktif hale getirildi ve Horseradish Peroksidaz enzimine immobilize edildi. Bu immobilize enzim ile Reaktif Blue 19 ve Asit Black 1 boyları farklı günlerde tekrar giderildi. İmmobilize enzimin farklı koşullardaki (pH, sıcaklık, bekleme süresi) aktivite değerleri hesaplandı. İmmobilize enzimin serbest enzime göre stabilitesi ve sıcaklığa karşı direnci arttı ve raf ömrü uzadı. Ayrıca immobilize enzim Reaktif Blue 19 ve Asit Black 1 boylarının giderilmesinde 7 kez tekrar kullanıldı.

Trametes Versicolor ile Reaktif Blue 19, Asit Black 1, Dispers Boyalar ve Bazik Blue 41 boyları farklı koşullarda hazırlanan boya çözeltilerinin boya giderme besisi yerinde renk giderme çalışmaları yapıldı. Ayrıca, bu mikroorganizma ile gerçek tekstil atık suyunda çeşitli koşullarda (süre, atık su hacmi, pH, boya giderme besisi yeri konsantrasyonu) rengi giderildi. Tekstil atık suyunu renksizleştirmede asidik pH' ların daha etkili olduğu sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: atık su, boya giderme, enzim, mikroorganizma, immobilizasyon, polimer

**YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DECOLORIZATION OF TEXTILE WASTEWATER DYES BY BIODEGRADATION**Mithat ÇELEBİ**Bioengineering Department
Abbreviated PhD. Thesis

Advisor:

Assist. Prof. Dr. Zeynep Mustafaev AKDESTE

Co-Advisor:

Prof. Dr. Hüseyin YILDIRIM

The textile industry is the leading sector which it assumes a significant role in increasing employment of Turkey's development. This rapid development of dyeing and printing processes dyes and chemical substances contained in waste waters from the pollution, which brings about the need for treatment.

Environmental pollution and water pollution is one of the issues affecting the quality of habitats and species. Water pollution is a wide variety of industrial waste waters which contain chemicals and dyes. In the textile waste waters are attracting attention. Organic impurities and contaminants of colored dye wastes are major problem in the textile industry. For these reasons, treatment of dyehouses' dyeing waste water have vital importance.

This doctoral thesis studies the following issues were, respectively;

Reactive Blue 19 dye (reactive dye) was studied with the Horseradish Peroxidase enzyme in different conditions (temperature, pH, concentration, urea, salt, etc.). The optimum decolorization conditions were determined for Reactive Blue 19 dye.

Horseradish Peroxidase enzyme was immobilized on a solid support in order to re-use the enzyme for dye decolorization. As support materials were used in two different polysulfone polymers. Firstly, polysulfone polymers have been modified with acrylate. Horseradish peroxidase enzyme was immobilized to activated polymer supports. Immobilized enzyme was reused for decolorization of Reactive Blue 19 and Acid Black 1 dyes at different days. Activity values of immobilized enzyme were calculated under different conditions (pH, temperature, storage time). In conclusion; stability, shelf-life, storage activity, resistance to temperature of immobilized enzyme were increased against to free enzyme. Also, immobilized enzyme were reused 7 times for decolorization of Reactive Blue 19 and Acid Black 1 dyes.

Reactive Blue 19, Acid Black 1, Disperse Dyes and Basic Blue 41 dye solutions were decolorized by using *Trametes versicolor* (mold) in a nutrient medium. In addition, real textile wastewater was decolorized under various conditions (time, wastewater volume, pH, concentration of dye removal broth) with *Trametes Versicolor* mold. Acidic pH values were more effective than high pHs for decolorization of textile wastewater.

Key Words: wastewater, decolorization, enzyme, microorganism, immobilization, polymer

**YILDIZ TECHNICAL UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE**

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Tekstil endüstrisinde biyolojik olarak parçalanabilen ya da parçalanamayan birçok kimyasal madde kullanılmaktadır. Kimyasal madde ve suyun yoğun miktarda kullanımı, fazla miktarlarda ve çok kirli atık suların oluşumuna neden olur [1].

Selüloz elyafların (fiberlerin) tekstil endüstrisinde kullanımının yükselmesinden dolayı reaktif boyaların kullanılması artmaktadır. Reaktif boyalar genellikle azo, fitalosiyenin, antrokinon, formazon ve oksazin kromoforlarını bulundurur. Boyama işlemi sırasında, alkalın koşullarda ısının etkisiyle boyanın reaktif ucu fiberin fonksiyonel grupları ile reaksiyona girer. Bununlabirlikte, kullanılan reaktif boyanın büyük hacimleri atık olmaktadır. Boyama işlemi sırasında reaktif boyanın bir kısmı hidroliz olur ve reaktif boyar maddenin bir kısmı inaktive olur. Sonuç olarak, boyanın selüloz fiberlere tutunma derecesi diğerlerine oranla düşük olabilir (% 50-90 aralığında). Diğer boyalar ile karşılaştırıldığında reaktif boyalar tehlikeli kirleticilerdendir [2].

Dispers boyalar tekstil endüstrisinde poliester fiberlerin boyanması için yaygın olarak kullanılan tek boya sınıfıdır. Dispers boyaların parçalanmasının belirlenmesinde sulu ortamda ve yüzey aktif maddelerin varlığında boyaların düşük çözünürlüğü nedeniyle bazı zorluklar vardır [3]. Dispers boyalar sıklıkla dünya genelinde poliester, naylon, selüloz asetat ve akrilik fiberlerin boyanmasında kullanılmaktadır. Bu boyaların kararsız ve kompleks yapıları geleneksel su arıtma yöntemleri ile uzaklaştırmalarını zorlaştırmaktadır. Polisiklik bileşiklerin, fenollerin, aromatik aminlerin, bifenillerin, pestisidlerin, insektisidlerin parçalanma uygulanmalarında redoks yardımcıları ile enzimatik kataliz geniş uygulama alanına sahiptir [4].

Geleneksel fiziksel ve kimyasal metodlara alternatif olarak son yıllarda enzimatik yaklaşım ilgi görmektedir. Boyaların renksizleştirilmesinde ve parçalanmasında peroksidazlar, manganez peroksidazlar, lignin peroksidazlar, lakkazlar, mikroperoksidaz-11, polifenol oksidazlar ve azoredüktazlar enzimleri kullanılmaktadır. Bazı zor parçalananan boyalar bu enzimler ile parçalanmamaktadır. Bazı redoks mediatörlerin eklenmesi substratların çeşitliliğini ve zor parçalananan bileşiklerin etkili parçalanmasını arttırmaktadır.

Serbest enzimler stabilite ve yeniden kullanılmak gibi sınırlamalar nedeniyle geniş ölçekte kullanılamazlar. Bundan dolayı, immobilize enzimlerin kullanımının önemli avantajları vardır. Yakın gelecekte, atık sularda bulunan boyaların enzimlerle arıtılması ile ilgili teknoloji hayati bir rol oynayacaktır. Immobilize enzimler içeren reaktörler kullanılarak geniş ölçekte atık suların arıtılması mümkün olacağı düşünülmektedir [5].

Peroksidazlar sentetik boyaların renksizleştirilmesini katalizleyen güçlü oksitleyiciler olmasına karşın suda çözünebilir veya dağılılabilen boyalarda etkilidirler [6], [7].

BÖLÜM 2

BOYAR MADDELER

Organik moleküller olarak bilinen boyar maddeler, boyama işlemi sırasında genellikle ortamda çözünürler. Boyar maddelerin çoğu suda çözünürken (katyonik, asid, metal kompleks, direk ve reaktif boyar maddeler), sadece dispers boyalar suda dispersiyon halinde bulunurlar.

Boyar maddeler yaygın olarak iki farklı şekilde sınıflandırılırlar.

- A. Kimyasal yapılarına göre
- B. Kullanım amacına göre

Endüstride boyar maddeler daha çok kullanım amacına göre sınıflandırıldıkları isimleri ile bilinmektedir.

Boyar maddelerin kullanım amacına göre sınıflandırılmasında boyama teknolojisinde boyar maddenin kimyasal yapısı ile değil onun hangi yöntemle elyafı boyadığına bakılır ve boyar maddenin sınıflandırılması boyama özelliklerine göre yapılır [8].

2.1. Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması

Boyar maddeler kimyasal yapılarına göre azo boyalar, antrokinon boyalar, fitalosiyanın boyalar, Di- ve Triarilmetan boyalar ve nitro boyalar olarak da sınıflandırılmaktadırlar [9].

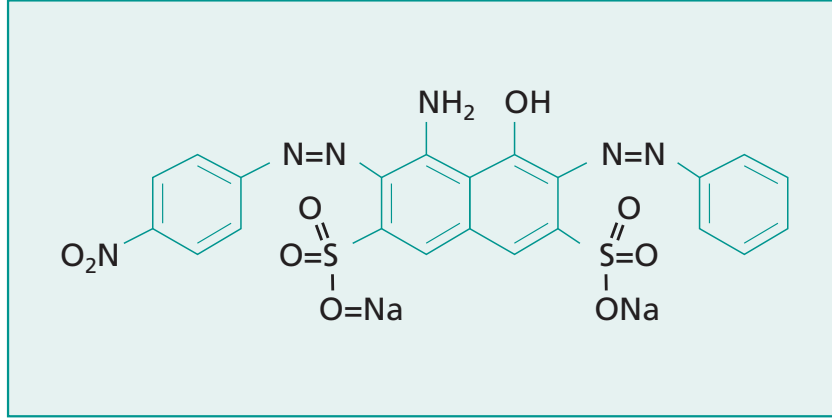
Çizelge 1.1. Boyaz maddelerin sınıfları, kimyasal tipleri ve uygulamaları [5], [10].

Boyaz Madde Sınıfı	Tanımı	Kimyasal Tipi	Metodu	Uygulandığı Elyaz Tipi	Bağlanma (%)	Oluşturduğu Kirleticiler
Asid	Çözünebilen anyonik bileşikler	Azo, nitro ve nitrozo, trifenilmetan, azin ve ksanten	Boya banyosu, yuvarlak tekneler, sürekli boyama (halı)	Yün, naylon	80-93	Renk, organik asitler, fikse edilemeyen boya artıkları
Bazik	Çözünebilir, çok parlak boyalar	Siyenin, azo, azin, triarilmetan, ksanten, akridin, oksazin ve antrakinin	Boya banyosu, yuvarlak tekneler	Akrilik, bazı poliesterler	97-98	N/A
Direkt	Çözünebilir, anyonik bileşikler; selülozik elyafa direkt uygulanabilir	Azo, ftalosiyenin, stilben ve oksozin	Boya banyosu, yuvarlak tekneler, sürekli boyama	Pamuk, rayon (suni ipek), diğer selülozikler	70-95	Renk, tuz, fikse edilmeyen boya artıkları, katyonik fiksasyon kimyasalları, yüzey aktif maddeler, köpük kırıcılar, düzleştirici, retarder ve apreleme kimyasalları, seyrelticiler
Dispers	Suda çözünemez	Azo, antraquinone, stiril ve nitro	Boya banyosu (yüksek ısılarda), sürekli boyama	Poliester, asetat, diğer sentetikler	80-92	Renk, organik asitler, taşıyıcılar, fosfatlar, düzleştiriciler, köpük kırıcılar, ağartıcılar, parlaklaştırıcılar, dispersantlar, seyrelticiler
Reaktif	Suda çözünebilir, anyonik bileşiklerdir. En geniş, boya sınıfıdır.	Azo, antrakinin, ftalosiyenin, formazon, oksazin ve bazik	Boya banyosu, yuvarlak tekneler, fular soğuk besleme yöntemi, sürekli boyama	Pamuk, diğer selülozikler, yün	60-90	Renk, tuz, alkalinite, fikse edilmeyen boya artıkları, yüzey aktif maddeler, köpük kırıcılar, seyrelticiler, apreleme kimyasalları

2.2. Boyar Maddelerin Kullanım Amacına Göre Sınıflandırılması

2.2.1. Asidik Boyar Maddeler

Molekülde bir ya da birden çok sülfonil grubu veya karbonil asit grubu içerirler. Renkli bileşen boyar madde anyonudur ve anyonik sınıfa girerler. Başlıca protein ve poliamid elyafın boyanmasına yararlar [8], [11].

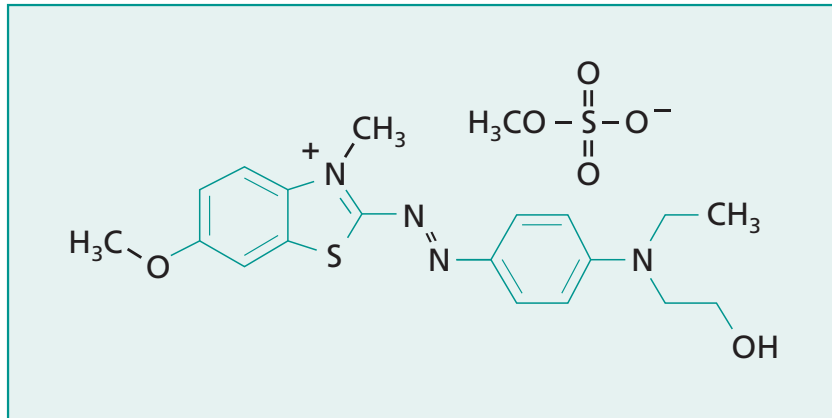


Şekil 2.1. Asid Black 1 boyası [6].

2.2.2. Bazik (Katyonik) Boyar Maddeler

Bunlar organik bazların hidroklorürleri şeklinde veya asetat tuzları şeklindedir. Yani renkli kısım katyondur. Pozitif yük taşıyıcı olarak N ve S atomu içerirler. Bazik olarak etki ettiklerinden sulu çözeltide boyar madde katyonu, elyafın anyonik gruplarıyla, elyaf-boyar madde tuzunu meydana getirir [8], [11].

Bazik boyar maddelerin en karakteristik özellikleri parlaklıkları ve renk şiddetidir. Genellikle asetik asit ve tannik asit yardımıyla boyama yapılır. 80-90°C de poliakrilik elyafını hızlı bir şekilde boyarlar ve kumaştan ayrılmazlar [8], [11].

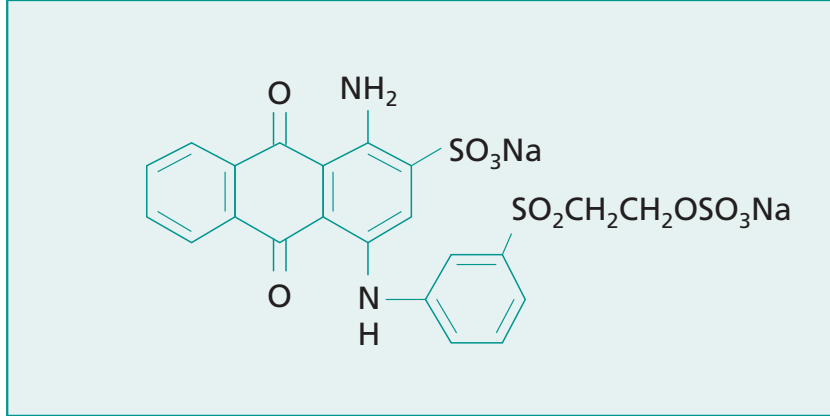


Şekil 2.2. Bazik Blue 41

2.2.3. Reaktif Boyar Maddeler

Tekstil süreçlerinde kullanılan boyaların yaklaşık olarak yarısı suda çözünebilen reaktif boyalardır. Reaktif boyaların moleküler yapısı üç fonksiyonel grup ile karakterize edilmektedir [12].

1. Hidrofilik grup
2. Renk veren bir grup (kromofor)
3. Tekstil fiberi ile reaksiyon veren bir grup



Şekil 2.3. Reaktif Blue 19 boyası

Çizelge 2.1. Reaktif Blue 19 Boyasının karakteristikleri

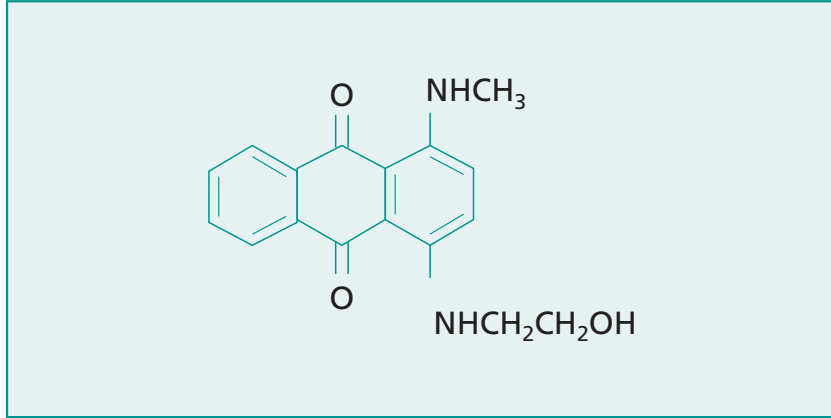
Diğer adı	Remazol Birllant Blue R (RBBR)
Formül	$C_{22}H_{16}N_2Na_2O_{11}S_3$
Moleküler Ağırlık (Mw)	626.54 g/mol
Renk İndeks Numarası (C. I.)	61200
EC No	219-949-9
Maksimum Absorbsiyon Dalga Boyu (λ_{max})	594 nm

Reaktif boyar maddeler uygun koşullar altında lif ile kimyasal reaksiyona girerek, kovalent bağ özelliğine sahip tek boyar madde sınıfıdır. Selülozun hidroksil (-OH), poliamidin amin (-NH₂), protein esaslı liflerin -NH₂, SH (merkaptan) grupları ile gerçek kovalent bağlar oluşturarak liflere bağlanırlar. Selülozik elyafın boyanmasında kullanılan bu boyar maddeler yün, ipek, pamuk, naylon, orlon, akrilik karışımları ve poliamid boyanmasında da kullanılmaktadırlar[11].

Reaktif boyar maddeler çok iyi yıkama sürtünme ve ışık hasırları verir. Reaktif boyar maddeler genel olarak reaktif grubun kimyasal yapısına göre veya bu grubun kimyasal reaktivitesinin derecesine göre sınıflandırılırlar. Tekstil boyar maddelerinin önemli bir sınıfını oluşturmaktadır ve dünyada en fazla tüketilen boyar maddelerin başında gelmektedir. Suda oldukça çözünür olduklarından boyama ünitesinde boyanın tamamı selüloz elyafıyla tepkimeye girmez ve bir kısım boya boşaltım ünitelerinden suyla birlikte atılır. Azo reaktif boyar maddeler ise genellikle aerobik biyogiderim işlemlerine dirençlidir. Yapılan çalışmalar boyar maddelerin özellikle reaktif boyar maddelerin %90' ının aerobik arıtım işlemlerinden değişmeden çıktığını; bir kısmının anaerobik arıtım proseslerinde parçalanabildiğini fakat parçalanma ürünlerinin toksik olduğunu veya oksijen ile teması sonucu yeniden renk oluşumuna neden olduğunu göstermiştir [12].

2.2.4. Dispers Boyar Maddeler

Amino ve hidroksil grupları ihtiva eden düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Elyaf üzerine çekilmesi gayet iyidir. Fakat içine difüzyon oldukça yavaştır. Dolayısıyla boyama uzun sürede gerçekleştiğinden pratik değildir [8].



Şekil 2.4. C.I: Dispers Blue 3 (DB3)

2.2.5. Direkt Boyar Maddeler

Direkt boyalar tekstil endüstrisinde yaygın olarak kullanılır ve en ekonomik boya sınıfları arasındadır. Kimyasal olarak direkt boyalar, sülfonik asitlerin kompleks tuzlarıdır ve suda çözünürler ve fiberlerin değişik türleri ile (pamuk, yün, ipek, naylon vb.) fiziksel bir etkileşimdedirler. Direkt boyama normalde nötral veya zayıf alkalın boya banyosunda kaynama noktasında veya kaynama noktası yakınlarında sodyum klorür tuzunun ya da Glauber tuzunun ilave edilmesiyle gerçekleştirilir [2],[11].

2.2.6. Mordan Boyar Maddeler

Mordan sözcüğü, boyar maddeyi elyafa bağlayan madde veya bileşim anlamını taşır. Birçok doğal ve sentetik boyar madde bu sınıfa girer. Mordan boyar maddeleri asidik veya bazik fonksiyonel gruplar içerirler. Bitkisel ve hayvansal elyaf ile kararsız bileşikler oluştururlar. Boyamadan önce mordanlama yapılır ve mordan olarak Al, Sn, Fe, Cr tuzları kullanılır. Daha sonra krom bileşikleri katıldıktan sonra boyama gerçekleştirilir [11].

2.2.7. Küpe Boyar Maddeler

Küpe boyar maddeler moleküllerinde en az iki oksijen atomu ihtiva eden bileşiklerdir. İri, ince ve çok ince toz halinde bulunabilirler. Bunlar suda çözünmezler; fakat sodyum hidroksit ve sodyum hidrosülfid gibi bir indirgenin etkisiyle suda çözünebilir leuko bileşiklerine dönüşürler. Daha çok selülozik kısmen de protein elyafının boyanmasında kullanılır. Işığa, yıkamaya, sürtünmeye karşı mukavemetleri oldukça yüksektir [11].

2.2.8. Sülfür Boyar Maddeler

Sülfür boyalar nitro ve amino grupları içeren amino bileşiklerin sülfür veya sodyum sülfid ile yüksek sıcaklıkta reaksiyonu sonucu elde edilir [11].

BÖLÜM 3

TEKSTİL ATIK SULARININ ÖZELLİKLERİ ve ATIK SULARDAKİ BOYALARIN ÇEVREYE ETKİLERİ

Tekstil endüstrisi, Türkiye'de en hızlı gelişen sanayilerin başında gelmektedir. Bu hızlı gelişim, büyük debilerde ve büyük konsantrasyonlarda kirlilik taşıyan atık suların arıtma gerekliliğini de beraberinde getirmiştir. Tekstil fabrikalarında üretim aşamalarına göre çeşitli bileşim ve miktarlarda atık sular oluşmaktadır. Bu atık suların büyük kısmı ağartma, boyama ve yıkama işlemlerinden kaynaklanmaktadır. Asit, baz, boya, deterjan, tuz ve kullanılan diğer kimyasallar atık suda kirlilik yaratan başlıca kirleticilerdir.

Tekstil prosesleri çeşitli atık su türlerinin oluşumuna neden olmaktadır (Çizelge 3.1).

Tekstil atık suları boyahanede yapılan boyama türüne, kullanılan boyar maddelerin kalitesine, sınıfına ve boyamada kullanılan makineye göre farklılıklar göstermektedir. Tekstil atık suyunun özelliğine göre arıtma yöntemleri değişebilmektedir [13].

Çizelge 3.1. Tekstil Endüstrisi Atık Sularının Özellikleri [13].

Proses	Atık Su Bileşimi	Özelliği
Haşılama	Nişasta, vakslar, karboksimetil selüloz (CMC), polivinil alkol (PVA)	Yüksek KOİ, BOİ
Haşıl Sökme	Nişasta, glukoz, CMC, PVA, yağlar, vakslar	Yüksek KOİ, BOİ, askıda katı madde (AKM), çözünmüş katı madde (ÇKM)
Ağartma	hipoklorit, Klor, kostik soda, hidrojen peroksit (H ₂ O ₂), NaOH, , asidler, yüzey aktif maddeler, NaSiO ₃ , sodyum fosfat, kısa kumaş fiberi	AKM, alkali
Merserizasyon	Kostik soda	Yüksek pH, düşük KOİ, yüksek ÇKM
Boyama	Çeşitli Boyalar, mordantlar, indirgeyici ajanlar, asetik asid, sabunlar	Renk, yüksek KOİ, yüksek ÇKM, düşük AKM, ağır metaller
Baskı	Yapıştırıcı, nişasta, reçine, yağlar, renk sabitleştiriciler, asitler, sabunlar	Renk, yüksek KOİ, yağlı görünüş, AKM
Apri	İnorganik tuzlar, toksik bileşikler	Zayıf alkali, düşük BOİ

3.1. Boya Türlerinin Bağlanma Yüzdeleri

Boyama işlemi sırasında boyanın tamamı kumaşa tutunmamaktadır. Çizelge 3.2 çeşitli tekstiller için bağlanmayan boya yüzdelerini göstermektedir. Pamuğun boyanmasında kullanılan reaktif boyaların bağlanma hızı en zayıftır. Tekstil fiber pazarının % 52 si reaktif boyalardan oluşmaktadır. Renkli atık sulardaki problemler en çok pamuğun reaktif boyalar ile boyanmasından kaynaklanmaktadır. Atık sulardaki ağır metaller yünün boyanmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 3.2. Farklı boya türlerinin için uygulamaları ve bağlanmayan boya yüzdesi (%) [10].

Fiber	Boya Tipi	Bağlanmamış Boya (%)
Yün ve naylon	Yün için asit/reaktif boyalar Metallendirilmiş boyalar Krom İçerenler	7- 20 2-7 1-2
Pamuk ve viskoz	Azo boyalar Reaktif boyalar Direkt Boyalar Pigment İndigo Boyalar Sülfür Boyalar	5-10 20-50 5- 20 1 5-20 30-40
Poliester	Dispers	8-20
Akrilik	Bazik	2-3
Polipropilen	Masterbatch	N/A

Atık sular, içeriklerindeki boyaların oluşturduğu görüntü-renk kirliliği, sergiledikleri toksik etki, sudaki yabancı, zararlı organik kirlilik yükünün artması ve ağır metallerin konsantrasyonunun artması çevredeki ve sudaki canlı yaşamını dolayısıyla insan yaşamını ciddi anlamda olumsuz etkilemektedir.

3.2. Atık Sulardaki Kimyasalların ve Boyaların Oluşturduğu Kimyasal Riskler

Kimyasalların riskleri değerlendirilirken başlıca iki etken göz önüne alınır; tehlike ve maruz kalma. Tehlike, zehirlenme ve kanser oluşturma gibi olası biyolojik etkiler olarak tanımlanmaktadır. Maruz kalma ise zaman ve mesafe üzerine bir kimyasalın beklenen çevresel konsantrasyonun bir ölçüsüdür [14].

3.2.1. Toksikite

Çok düşük konsantrasyon değerlerinde dahi doğada kolaylıkla farkedilebilen boyalar, çevresel endişeler açısından toplum nezdinde ilk sıraları işgal etmektedir. Her bir boya madde için toksisite, biyobozunurluğu, su toksisitesi ve maruz kalma durumunda etkisi gibi bilgileri içeren güvenlik bilgi kartları hazırlanmalıdır. Toksikite değeri hayvanlar (genellikle fare) üzerinde gerçekleştirilen denemelerle belirlenir, bu denemelerde hayvan gruplarındaki fert sayısının yarısının ölümüne yol açan doz toksik doz olarak belirlenir. Sonuç vücut ağırlığı başına alınan miktar olarak (mg/kg) olarak gösterilir ve ölümcül doz (50), LD₅₀ olarak bilinir [14].

Çizelge 3.3. Boyaların toksisite dereceleri [14].

LD ₅₀ (mg/kg)	Sınıflandırma	Boya Sayısı	Boyalar (%) si
< 25	Çok zehirli		
25 - 200	Zehirli	44	1
200 - 2 000	Zararlı	314	7
> 2 000	Sınıflandırılmadı	4,103	92
Toplam		4,103	100

Ames Salmonella ile mutajenik test yapılarak bazı boyalarda mutajen özellik belirlenmiştir ve bazı dispers boyaların alerjik kontakt egzamaya neden olduğu tespit edilmiştir [14].

Doğaları gereği aerobik işlemlerden etkilenmeden kalabilen boyaların sahip olduğu toksisite nedeniyle, mikroorganizmalara yönelik kaygılar artmaktadır. boyar maddelerin aerobik bakteriler üzerindeki inhibitör etkisini belirlemek için ETAD ("Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigments Manufacturer") tarafından bir izleme yöntemi geliştirilmiştir. Bu yöntem kullanılarak toplam 202 boyar madde üzerinde toksisite testi uygulanmış ve % 50 inhibisyon konsantrasyon (IC₅₀) değerleri bulunarak rapor edilmiştir. Elde edilen sonuçlarda direkt, dispers, reaktif, indigo, mordant, pigment, asid ve solvent boyaların IC₅₀ değerleri 100 mg/L' den büyük olduğu saptanmıştır. Bu yüzden tekstil atık sularında belli değer altındaki konsantrasyonlardaki boyar maddelerin mikroorganizmaya karşı toksik etki göstermediği ortaya çıkmıştır. Buna rağmen bazı bazik boyalar ile yapılan çalışmalarda IC₅₀ değerlerinin 100 mg/L den küçük olduğu sonucundan yola çıkarak bazik boyaların atık sularda mikroorganizmalar için inhibitör etkisi gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bu testlerden ve ETAD' ın genel deneyimlerinden kanalizasyon çalışmalarında boyar maddelerin renginden dolayı endişe edilebileceği, fakat toksisiteden endişe duymaya gerek olmadığı sonucuna varılmıştır [14], [15].

Çizelge 3.4. Tekstil endüstrisi kaynaklı çevre ve su kirleticisi sınıfları [16].

Etkin Ajan	Örnek	Kaynak
Tuz	NaCl, Na ₂ SO ₄	Boyama
Yüzey aktif maddeler	Etoksile fenoller	Birçok kaynaktan
Metaller	Bakır, Çinko, vb.	Boyalar
Organikler	Klorlu solventler	Yıkama, makine temizleme
Biyosidler	Pentaklorofenol	Yün elyaf kirleticisi
Toksik anyonlar	Sülfür	Sülfür Boyama

Moll tarafından boya parçalanma ürünlerinin kanserojen potansiyeli 1991' de özetlenmiştir [14], [17]. Hayvanlarda yapılan testlerde renklendirici ailesinin yaklaşık % 70' ini oluşturan azo boyalar sınıfına ait az sayıda boyada kanserojen etki bulunmuştur. Moll' un yaptığı çalışmada azo boyaların kimyasal yapılarına göre bu boyaların toksisitesi değerlendirildi. Bu toksisitenin azo bağının indirgenmesi veya enzimatik sistemlerin etkisiyle meydana gelebileceği bulundu. Bu sınırlı sayıda boya için, azo renklendiricilerin bozunması sonrasında oluşan aromatik aminlerin metabolizmada kanserojen etki meydana getiren başlıca etken olduğu sonucuna varılmıştır. 1994' te Alman Hükümeti Çizelge 3.5' te verilen aromatik aminleri içeren bazı azo boyaların kullanımını yasaklamıştır [14].

Çizelge 3.5. 1994' te Alman Hükümeti Tarafından Yasaklanan Kanserojen Aromatik Aminlerin Listesi [14], [17].

4-aminodifenil	3,3'-dimetilbezidin
Benzidin	2-metoksi-5-metilanilin
2-amino-5-klorotoluen	3,3'-dimetil-4-4'-diaminodifenilmetan
2-aminonaftalen	4,4'-metilen-bis(2-kloroanilin)
2-aminazotoluen	4,4'-oksidianilin
2-amino-4-nitrotoluen	4,4'-tiyodianilin
4-kloroanilin	2-aminotoluen
2,4-diaminoanizol	2,4-diaminotoluen
4,4'-diaminodifenilmetan	2,4,5-trimetilanilin
3,3'-diklorobenzidin	2-metoksianilin
3,3'-dimetoksibenzidin	4-aminoazobenzen

3.2.2 Atık Sulardaki Ağır Metaller

Atık sulardaki ağır metaller özellikle yünün boyanmasından kaynaklanabilmektedir. Boyalarda ağırlıkça % 3' ten % 4' e varan oranlarda bulunan ağır metallerin kaynağı önceden metallendirme işlemidir. Bu ön metallendirme işlemine bazik boyaların hazırlanmasında çinko tuzlarının kullanımı, boyaların yükseltgenmesi ve tutunması için dikromatların kullanımı ve yün boyamada görev alan krom bileşikleri örnek olarak verilebilmektedir [14].

Çizelge 3.6. Atık sulardaki ağır metal kaynakları [16].

Metal	Kaynağı
Arsenik	Elyaf
Kadmiyum	Tuzdaki safsızlık
Krom	Boyalar, Laboratuvar
Kobalt	Boyalar
Kurşun	Boyalar, su tesisatı
Bakır	Boyalar, elyaf
Manganez	Permanganat şeridinden (küf önlemi)
Civa	Boya, hammaddedeki kimyasal safsızlık
Nikel	Boyalar
Gümüş	Resim uygulamaları
Kalay	Apre Kimyasalları, su tesisatı
Titanyum	Elyaf
Çinko	Boyalar, hammaddedeki safsızlık, su tesisatı

Çizelge 3.7. Boyaların ağır metal içeriği [14], [16].

Metal	Konsantrasyon (ppm)	Boya tipi
Arsenik	< 1 - 1,4	Reaktif
Kadmiyum	< 1	Hepsi
Krom	3 - 83	İndigo
Kobalt	< 1 - 3,2	Asid
Bakır	33 - 110	İndigo
Kurşun	6 - 52	Reaktif
Civa	0,5 - 1	İndigo
Çinko	3 - 32	Bazik

Atık sulardaki ağır metaller su yaşamı ve hayvanlar için toksik olabilmektedir. Metal kompleks boyalar şelatlı krom, bakır, kobalt ve nikel içerir. Bazı katyonik boyalar çinko ve eser miktarda civa, kadmiyum ve arsenik içermektedir [16]. Bazı yükseltgeme ve indirgeme ajanları metaller (dikromat ve permanganat) içermektedir. Fakat bazı durumlarda bu kimyasallar uzun süre kullanılmamaktadır. Metaller ayrıca son işlemlerde antibakteriyel ve koku önleyicilerde, su geçirmezlerde ve alev geciktiricilerde de bulunmaktadır [16].

3.2.3. Yardımcı Kimyasallar

Tekstilde kullanılan boyalar harici diğer yardımcı kimyasalların da kirlilik potansiyeli vardır. Amerika'da yapılan bir çalışmada boya atıklarının biyolojik oksijen ihtiyacının (BOİ) toplam tekstil boya atık yükü BOİ' ye oranının sadece % 10-30 arasında olduğu bulunmuştur. Tek başına asetik asit boyahane BOİ' sinin % 50 ile % 90' ını oluşturmaktadır. Bir başka çalışmada ise, boyaların atık sudaki kimyasal oksijen ihtiyacına (KOİ) katkısı sadece % 2-5 arasında olduğu tespit edilmiştir. Buna karşın KOİ' ye kimyasalların (tesviye edici, köpük kesici ve ıslatma ajanları vb.) katkısı % 25 ile % 35 arasında olmuştur. Kirliliklerin iki temel kaynağı yüzey aktif maddeler ve boya banyolarına ilave edilen elektrolitlerdir. Diğer kirletici kimyasallar ise toksik organik maddeler (aseton, kloroform, metilen klorür ve sikloheksan), biyosidler ve toksik anyonlar olduğu ifade edilmiştir [16].

3.2.4. pH

Su hayatında pH önemli bir parametredir. Özellikle asidik pH' a sahip atık sular korozyona sebep olmaktadır. pH' ın 5 - 9,5 arasında öldürücü etkisi olmamasına karşın mikroorganizmaların gelişmelerini olumsuz etkilediği saptanmıştır. pH değişimleri zararlı etkilere ve balık ölümlerine yol açabilmektedir. Ayrıca pH birçok maddenin ve özellikle metallerin zehirlilik derecesini de etkilemektedir [18].

3.2.5. Renk

Tekstil atık suları bağlanmayan boya kalıntıları içerdiklerinden renkli olmaktadır ve görüntü kirliliği oluşturmaktadırlar. Atık sudaki renk ise, sudaki canlı yaşamını olumsuz etkilemektedir. Güneş ışının suyun derinliklerine geçişini engelleyerek yansıtmaktadır. Boyalar ve renkleri sudaki çözünmüş oksijen miktarını düşürerek sudaki canlı yaşamı için tehlike oluşturmaktadırlar.

Atık sulardaki rengi önlemek için bazı kısıtlamalar getirilmiştir Alıcı ortamda renk parametresi 300 birimden (Pt-Co) fazla ölçülürse işletme gerekli önlemleri alması ve düzenlemelere uyması konusunda yaptırım uygulanması kararı alınmıştır ve bu kısıtlamaları içeren kurallar Resmi Gazete' de Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği adı altında yayınlamıştır [19].

BÖLÜM 4

TEKSTİL ATIK SULARININDA BOYALARIN GİDERİLME YÖNTEMLERİ

Özellikle gelişmiş ülkelerde yasa yapıcılar giderek artan sorunlara neden olan tekstil ve boya sanayi için çevre ve halk sağlığı ile ilgili çevre mevzuatının katı bir şekilde uygulanmasını istemektedirler. Atık deşarjı için mevzuat ve renk standartları farklı ülkelere göre değişmektedir. Renk standartları belirlemek için bazı yöntemler vardır [20], [21], [22].

Tekstil atık suyunun özelliğine göre arıtma yöntemleri değişebilmektedir Genel olarak tekstil atık sularının arıtılması üç ana başlık altında toplanmaktadır [13].

Çizelge 4.1. Atık su arıtma yöntemleri [20].

Fiziksel	Kimyasal	Biyolojik
Adsorpsiyon	H ₂ O ₂ oksidasyon	Bakteriyal aerobik
Sedimentasyon	Fenton Oksidasyon	Bakteriyal aneorobik
Flotasyon	Ozon	Alg
Koagülasyon	Klorinasyon	Mantar
Membran filtrasyon	Fotokimyasal Oksidasyon	Maya
Radyasyon	Elektrokoagülasyon	

4.1. Fiziksel Arıtma

4.1.1. Adsorpsiyon

Etkili kirletici giderimi, ekonomik olarak uygun olması nedeniyle olumlu ilgi görmektedir. Adsorpsiyon birçok fizikokimyasal faktörden etkilenmektedir. Bunlar; boya sorbent etkileşimi, adsorban yüzey alanı ve partikül büyüklüğü, sıcaklık, pH ve temas süresi. Adsorpsiyon malzemeleri olarak aktif karbon, turba, odun yongaları, kömür ve kül, silika jel, mikrobiyal biyokütle ve diğer ucuz malzeme (örneğin, doğal kil, mısır koçanı, pirinç kabuğu) sinek kullanılır [20].

4.1.2. Sedimentasyon

Bir katı-sıvı ayırma yöntemidir. Sedimentasyon kimyasal veya biyolojik yöntemlerin kombinasyonundan oluşan boya içeren partiküller veya boya parçalanma ürünlerinin pıhtılaşma/çökme veya bazı diğer kimyasal yöntemler ile, veya değişik metaryaller üzerine adsorpsiyon ile uzaklaştırılmasında kullanılır. Yüksek çamur üretimi olumsuz yanadır [20].

4.1.3. Membran Filtrasyonu

Boya moleküllerini atık sudan uzaklaştırmak için kullanılabilir. Membranların sınıflandırması farklı moleküler ağırlıkları ile atıkları tutan gözenek büyüklüğü temel olarak gerçekleştirilmiştir. Boya ayırma için, ters osmoz (MWCO <1000), nanofiltrasyon (500 <MWCO <15000) ve ultrafiltrasyon (1000 <MWCO <100000) membranlar boya özelliklerine bağlı olarak kullanılabilir. Ayrıca, boya ayırmak için, membranlar sedimentasyon yerine adsorpsiyon ve koagülasyon/çökmeden sonra kullanılabilir [20].

4.2. Kimyasal Arıtma

Kimyasal yöntem ile arıtma boya atıklarının koagüle/çöktürücü ajanlar kullanılarak renk uzaklaştırılmaktadır. Bu proseste alüminyum(Al^{+3}), kalsiyum (Ca^{+2}) veya demir (Fe^{+3}) iyonlarının kullanılmasını gerektirmektedir. Bu ajanların yanında diğer ajanlarda bu proses için kullanılmaktadır. Prosesi geliştirmek için flotasyon ve koagülasyon birlikte kullanılabilir. Genellikle bu proses dispers, sülfür, ve vat boyalarının uzaklaştırılması ekonomiktir. Bu yöntemin olumsuz yanı ise, işlem sonunda büyük miktarlarda konsantre çamur üretilir. Bunun yanında boya giderme pH' ya bağlıdır. Kimyasal yöntem ile suda kolayca çözünebilen azo, reaktif, asit ve özellikle bazik boyaları için genellikle uygun değildir [23].

Kimyasal yöntemler yatırım maliyetlerinin düşük olması ve uygulama kolaylığı nedeniyle en çok kullanılan yöntemlerdendir. En yaygın olarak kullanılan kimyasal yöntemleri; oksidasyon yöntemleri (Fenton ayracı-Fe(II) tuzlarıyla aktive edilmiş hidrojen peroksit, ozon, fotokimyasal yöntem, sodyum hipoklorit (NaOCl), elektrokimyasal yöntem), kimyasal çöktürme ve flokülasyon yöntemi ve Cucurbituril (Cucurbituril glikoluril ve formaldehitten oluşan bir polimer) şeklinde sıralanmaktadır.

Çizelge 4.2. Boya gidermede fiziksel ve kimyasal yöntemler ve onların spesifik dezavantajları [5].

Yöntem	Dezavantajı
Fenton reaktifi	Aşırı çamur üretimi
Ozon	Kısa yaşam süresi (20 dk)
Fotokimyasal	Yan ürünlerin oluşumu, daha zehirli bileşiklerin üretilmesi, zayıf renk giderimi, oldukça yavaş proses
NaOCl	Aromatik aminlerin salınması
Ters Osmoz	Çok pahalı, yavaş proses
Elektrokimyasal parçalama	Yüksek elektrik maliyeti, zayıf renk giderimi
Aktif karbon	Çok pahalı, aşırı çamur üretimi
Yer kömürü	Adsorpsiyon için spesifik yüzey alanı
Tahta parçaları	Uzun işlem görme süresi gerektirmektedir
İyon değiştirme	Bütün boyalar için etkili değil
Membran Filtrasyonu	Yoğun çamur üretimi
Işınlatma	Çok fazla çözülmüş oksijen ihtiyacı
Elektrokinetik çöktürme	Fazla çamur üretimi
Silika Jel	Ticari uygulamayı engelleyen yan reaksiyon

4.3. Biyolojik Arıtma

Biyolojik arıtmada organik bileşikler mikroorganizmaların (bakteri, maya, mantar vb.) salgıladığı enzimler tarafından parçalanırlar.

Son zamanlarda yapılan çalışmalarda birçok boya türünü atık sudan giderebilme yeteneğine sahip mikroorganizma türlerinin varlığı tespit edilmiştir. Biyoteknolojik yöntemler atık suların arıtılmasında fiziksel ve kimyasal yöntemlere kıyasla ön plana çıkmaktadır [24], [25].

Biyolojik arıtmanın ilk yatırım maliyetlerinin yüksek olmasına rağmen, kimyasal kullanımı gerektirmemesi, daha az çamur üretmesi, maliyetinin daha düşük olması, her boya türü için uygun olması ve çevreci olması nedeniyle kullanımı daha çok tercih edilmeye başlanmıştır.

4.3.1. Aerobik Arıtma

Aerobik giderme; bakteri ve küf (fungi) boya atık sularının giderilmesinde yaygın olarak kullanılan iki mikroorganizma grubudur. Aerobik koşullarda, bakterilerde bulunan enzimler atıksulardaki organik bileşikler parçalar [23]. Aerobik arıtmada oksijen organik maddelerin oksidasyonunda kullanılmaktadır. Geleneksel olarak kullanılan aktif çamur sistemi tekstil endüstrisindeki bazı boyaların parçalanmasında yetersiz kalmaktadır. Birçok sentetik boyaların örnek olarak azo boyar maddeler, atık su arıtma fabrikalarında aerobik şartlar altında mikrobiyal parçalanmaya karşı direnç gösterdikleri bulundu. Aerobik mikrobiyal parçalanmaya karşı gösterilen bu direnç boya malzemelerinin, kimyasal ve ışık kaynaklı oksidatif etkiler sonucu renklerinin açılmasını engelleyecek şekilde sentezlenmelerinden kaynaklanmaktadır. Boyaların biyodegradasyonun azalmasını etkileyen diğer faktörler ise, boyaların sudaki yüksek çözünürlüğü ve molekül ağırlıklarının yüksek olması nedeniyle hücre membranlarının içine nüfuz etmelerinin güçlüğünden kaynaklanmaktadır [26].

4.3.2. Anaerobik Arıtma

Anaerobik arıtma, organik ve inorganik maddelerin, oksijenin yokluğunda mikroorganizmaların yardımıyla parçalanarak CO₂, CH₄, H₂S ve NH₃ gibi son ürünlere dönüşmesi olarak açıklanabilir. Anaerobik arıtma ilk olarak sadece çamurların çürütülmesi amacıyla kullanılmaya başlanmış, ancak atık sularda aerobik arıtmaya kıyasla avantajlarının keşfedilmesinden sonra bu alanda da yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle enerji maliyetlerinin önemli bir problem olduğu günümüzde, aerobik arıtmaya nazaran daha az enerji gerektirmesi ve hatta proses sonucu ortaya çıkan metanın enerjiye dönüştürülebilmesi anaerobik arıtmanın daha da yaygın bir şekilde kullanılmasına neden olmuştur [27].

Boyar maddelerle yapılan anaerobik parçalanma çalışmaları, özellikle aerobik ortamda parçalanamayan suda çözünebilir reaktif azo boyar maddeler üzerinde yoğunlaşmıştır. Çift bağlı azot halkasına bağlı bu boyaların aerobik proseslerle arıtılabilirliğinin mümkün olmaması anaerobik arıtmayı gerekli kılmaktadır. Anaerobik olarak renk gideriminin gerçekleştirilmesi için ilave karbon kaynağına ihtiyaç vardır. İlave karbon metan ve karbondioksit dönüştürülmekte ve elektronlar açığa çıkmaktadır. Bu elektronlar elektron taşıma zincirinden azo-reaktif boyaya taşınmakta ve bu elektron boyayla reaksiyona girerek azo bağı indirgenmektedir. Böylece anaerobik parçalanma sonucunda azo boyar maddelerde renk veren azo bağı kırılmakta ve renk giderilmektedir. Bu renk giderimi prosesi oksijen tarafından inhibe edilmektedir. Bu yüzden boya atıklarını renksizleştirmek için ilk adım diazo bağı indirgenerek parçalandığı anaerobik koşullar altında arıtım gerçekleşmelidir [28].

Çeşitli yazarlar saf kültürlerde aromatik aminlerin parçalanma yöntemlerini araştırmışlardır. Bununla birlikte, saf olmayan karışık kültürlerde parçalanma derecelerinin belirlenmesi zordur. Anaerobik olarak atık suların renksizleştirmenin etkinliğini arttırmak için genellikle yardımcı substrat eklenmektedir. Metabolitlerin analitik olarak izlenmesi HPLC ile mümkündür. Buna rağmen metabolitlerin bazıları oksijen varlığında kararlı değildir ve kendiliğinden okside olabileceğinden daha uzun süreler için HPLC ile ölçülemeyebilir [12].

4.3.3. Biyosorpsiyon

Kimyasal maddelerin mikrobiyal kütle tarafından adsorpsiyonu veya kütlede birikimi biyosorpsiyon olarak adlandırılmaktadır. Ölü bakteriler, maya ve mantarlar boya madde içeren atık suların renginin giderilmesinde kullanılabilir. Bazı boya maddeler biyokütle tarafından % 40-80

adsorblanmaktadır. 87 adet çalışılan boyanın % 62 sinde renk giderimi sorpsiyon ile başarılı bir şekilde gerçekleşmiştir. Sülfonik asid gruplarının sayısına bağlı olarak çözünürlüğü yüksek olan asid boyaların adsorpsiyonu düşüktür. Reaktif boyalar da düşük adsorpsiyon göstermektedirler. Buna rağmen, reaktif boyaların adsorpsiyonu hidrolizin kolaylığına veya üzerindeki sülfon gruplarına bağlı değildir. Direkt ve bazik boyalar yüksek adsorpsiyon özelliğine sahiptir. Dispers boyalar ise yüksek ile orta arası adsorpsiyon özelliği gösterirler [14].

Çizelge 4.3. Tekstil Atık su Arıtma Yöntemlerinin Avantajları ve Dezavantajları [14], [29].

Yöntem	Örnekler	Avantajları	Dezavantajları
Koagülasyon/ Flokulasyon	Alüm Kireç Demir polielektrolitler	<ul style="list-style-type: none"> Basit ekipman Görece hızlı renk uzaklaştırma KOI' de önemli azalma 	<ul style="list-style-type: none"> Çamur üretimi Kimyasal ilavesi Yüksek çalışma maliyetleri Polielektrolitler tesisin çalışmasını etkileyebilir Yeniden kullanım için uygun değildir Reaktif boyalar uzaklaştırılmaz pH kontrolü ihtiyacı
Membranlar	Revers osmos Nanofiltrasyon Ultrafiltrasyon	<ul style="list-style-type: none"> Belirli moleküler büyüklükteki kirlilikleri uzaklaştırır İyi renk giderimi Hızlı Büyük hacimler için kullanılabilir İyonları uzaklaştırır 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek sermaye yatırımı Bazı atıklar arıtılmamaktadır Hemen hemen tüm safsızlıklarda konsentrat içerir. Konsentrat başka bir teknoloji ile uzaklaştırılmalıdır Atık sudan saflaştırılan safsızlıklar yeniden kullanım için çok yüksektir. Sürekli temizleme ihtiyacı Ön arıtma gerektirir Hassas pH kontrolü
	Diyaliz veya sürekli deiyonizasyon	<ul style="list-style-type: none"> Saflaştırılan atık su yeniden kullanılabilir Katyon içeren atık su suyu yumuşatmak için yeniden kullanılabilir veya boyama prosesinde kostik veya karbonatın uzaklaştırılmasında kullanılabilir 	<ul style="list-style-type: none"> Atığın bir kısmı arıtılmaz Hemen hemen tüm safsızlıklarda konsentrat içerir En azından bir konsentrat başka teknoloji kullanılarak arıtılmalıdır. Organik materyal membranları bozabilir
			<ul style="list-style-type: none"> İyonik olmayan türler uzaklaştırılmaz. Sermaye ve kullanım maliyeti bilinmemektedir.
Adsorbanlar	Aktif karbon, silika, kömür, sentetik polimerler	<ul style="list-style-type: none"> İyi renk giderimi Basit teknoloji Bazı adsorbanlar için düşük uygulama maliyeti Solventlerin uzaklaştırılması 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek sermaye maliyetleri Yavaş proses Yenilenme veya atık maliyetleri Tüm boya tipleri için tek adsorben uygun değildir Gerekli olan doz yüksek olabilir.
Yükseltgenme	Ozon	<ul style="list-style-type: none"> İyi renk giderimi Büyük hacimlere uygulanabilir 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek sermaye maliyeti Yüksek uygulama maliyeti Tüm boya türlerinin uzaklaştırılmasında etkili değil Oksidasyon ürünleri bilinmiyor
	Fenton reaktifi	<ul style="list-style-type: none"> Hızlı renk giderimi Basit uygulama Çamurun tesisin çalışmasını artırması 	<ul style="list-style-type: none"> Oksidasyon ürünleri bilinmiyor Yüksek çalışma maliyetleri
	UV/Peroksit	<ul style="list-style-type: none"> İyi renk giderimi 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek sermaye maliyeti

Yöntem	Örnekler	Avantajları	Dezavantajları
	UV/Katalist	<ul style="list-style-type: none"> Güçlü oksidant Etkili bir şekilde organik bileşikleri parçalar 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek yatırım maliyeti Oksidasyon ürünleri bilinmiyor
	Klorlama	<ul style="list-style-type: none"> Ucuz İyi renk giderimi 	<ul style="list-style-type: none"> Klorlu yan ürünler
İngirgenme	Kalay Klorür Hidrosülfid	<ul style="list-style-type: none"> İyi renk giderimi Azo boyaların renksizleştirilmesinde etkili 	<ul style="list-style-type: none"> Aromatik aminler oluşabilir Yetersiz parçalama
Biyolojik	Aerobik	<ul style="list-style-type: none"> Çözünmeyen boyalar için uygun Boyaların mineralizasyonunda genellikle sonuç verir 	<ul style="list-style-type: none"> Reaktif boyalar gibi çözünen boyaları renksizleştiremez Büyük hacimde çamur üretimi Büyük enerji ihtiyacı
	Anerobik	<ul style="list-style-type: none"> Renk gideriminde spesifik değildir 	<ul style="list-style-type: none"> Bilinmeyen parçalanma ürünleri
		<ul style="list-style-type: none"> İndirgeme mekanizması tümüyle renksizleştirir Metan üretilir 	<ul style="list-style-type: none"> Yüksek sermaye maliyeti
Evaporasyon		<ul style="list-style-type: none"> Atık suyu konsantre eder Yeniden kullanım için uygun su üretir 	<ul style="list-style-type: none"> Renk giderimi olmaz Yüksek yatırım maliyeti Yüksek uygulama maliyeti
Sulama		<ul style="list-style-type: none"> Ucuz 	<ul style="list-style-type: none"> Toprağa zararlı etki Yalnızca renksiz ve toksik olmayan atık sular için uygun Otoritelerce kabul görmemesi

Endüstride atık sular için kullanılan geleneksel fiziksel ve kimyasal arıtma yöntemlerinin yüksek maliyetli olması ve her boya için kullanılamıyor olması, uygulanmalarının sınırlı kalması yeni yöntemlerin araştırılmasını ve kullanılma sunulmasını gerekli kılmaktadır. Ortamda ilave atık oluşturmadan çok hızlı ve güvenilir olarak arıtmanın enzimler, immobilize enzimler ve mikroorganizma yani biyobozunma ile gerçekleştirilmesi bu çalışmayı diğer kullanılan geleneksel yöntemlerden farklı ve önemli kılmaktadır. Özellikle immobilizasyon işlemi ile enzimlerin veya mikroorganizmaların defalarca kullanılması sağlanacağından, önerilen biyo-arıtma yöntemlerinin diğer yöntemlere kıyasla çok daha ekonomik olması beklenmektedir. Bu yöntemlerin uygulama da kolaylığı mevcuttur.

BÖLÜM 5

ATIK SULARDAKİ BOYALARIN RENGİNİN ENZİMLER İLE GİDERİLMESİ

Atık sudaki organik kirliliklerin oksidoredüktif enzimler ile giderilmesi fikri 1980' lerin başında geliştirilmiştir. Enzimler uygun koşullarda aromatik bileşikler parçalayabilmektedirler. Bazı peroksidazlar ve lakkazlar atık su boyalarının renksizleştirilmesinde kullanılmaktadır. Peroksidazlar tarafından boyaların renksizleştirilmesinde başlatıcı olarak hidrojen peroksit kullanılmaktadır. Lakkaz enziminin elde edildiği kaynaklardan saflaştırılması işlemleri kullanımını sınırlamaktadır. Bitki kaynaklı polifenol oksidaz serbest moleküler oksijeni kullanarak aromatik kirleticileri renksizleştirilmesi bir diğer alternatif enzim kullanımı olarak dikkat çekmektedir [30].

5.1. Horseradish Peroksidaz Enzimi (HRP)

Fenolik bileşikler insan sağlığı bakımından potansiyel bir tehdit oluşturduklarından polimer prosesi, fiber endüstrisi ve yağ rafinasyonunda yer alan zararlı kirleticilerdir. Peroksidaz varlığında hidrojen peroksit ilavesi fenoller oksitlemektedir. Çözünmeyen polimerler ise çökelmektedir. Horseradish peroksidaz (HRP) fenol ve klorofenollerin polimerizasyonları sonucu oluşan serbest radikal oluşumunu katalizlemektedir. HRP'nin etkisini gösterebilmesi için optimum pH, HRP inhibitörü olan boyalar, boyaya karşı HRP'nin substrat spesifikliğı, boya ve H₂O₂ varlığında HRP'nin inaktivasyonu ve seçilen boya için kinetik sabitler (Michaelis sabitleri) gereklidir. HRP serbest radikal mekanizması ile fenoller gidermektedir [31].

Horseradish peroksidaz (HRP) fenollerin, bifenollerin, anilinlerin ve bunlar gibi heteroaromatik bileşiklerin oksidasyonlarını katalizleyebilmektedir. HRP geniş bir pH ve sıcaklık aralığında aktivite gösterdiğinden atık su işleminde kullanılması uygun görünmektedir. Sulu çözeltilerden fenollerin HRP katalizinde fenol giderilmesini optimize etmek amacıyla son yıllarda birçok çalışma gerçekleştirilmiştir [32], [33].

5.2. Lakkaz Enzimi

Lakkaz enzimi multinükleer bakır içeren mavi bakır oksidazlar sınıfına ait bir glikoprotein yapılı bir enzimdir. Lakkazlar (E.C. 1.10.3.2) endüstriyel biyokatalist olarak kullanmak için yüksek potansiyele sahip benzodiollerdir. Lakkazlar moleküler oksijenin harcanmasında çeşitli organik bileşikler oksidasyonunu katalizler, o- ve N-dimetilasyon reaksiyonlarını gerçekleştirir [34].

Lakkaz enzimi fenolik bileşiklerin uzaklaştırılmasında ve renk giderme çalışmalarında kullanılmaktadır. Ayrıca tekstil endüstrisinde ağartma işlemlerinde de uygulama alanı mevcuttur.

5.3. Lignin Peroksidaz Enzimi (LiP)

Lignin peroksidazlar 40 kDa molekül ağırlığına sahiptirler, glikolizdir, asidik izoelektrik noktaları vardır, 2.5-3.0 gibi düşük pH değerleri vardır. Aktif bölgelerinde hem proteinleri ve protoporfirin IX içerirler. LiP tipik bir peroksidaz gibi davranır ve H₂O₂ tarafından iki elektron eksik Bileşik I' e yükseltgenir. Bir elektron eksik olan kısım ise Bileşik II olarak belirlenmiştir. Tipik peroksidazlar sadece fenol ve aromatik aminleri okside etmelerine rağmen LiP' lar farklı olarak fenolik olmayan yapıları da okside eder [35].

5.3.1. Redoks Mediatörleri

Lakkaz aracılı sistemlerin lignine karşı aktivitesi iki ana faktöre bağlıdır. Birincisi enzimin redoks potansiyeli, ikincisi mediatörün oksidasyonundan oluşan radikallerin stabilitesi ve reaksiyona girme kapasitesidir (Bourbannis vd. 1997a). Substratlar büyüklüklerinden dolayı enzimatik pakete direkt giremediklerinden küçük birer molekül olan mediatörler devreye girer. Mediatör, bir çeşit elektron mekiği olarak davranan bir molaküldür. Enzim tarafından yükseltildiğinde oldukça kuvvetli yükseltgen bir ara bileşik oluşur. Enzimatik paketten difüz edildiğinde herhangi bir substratı kolaylıkla oksitleyebilmektedir [36].

Polisiklik bileşiklerin, fenollerin, aromatik aminlerin, bifenillerin, pestisidlerin, insektisidlerin vb.lerinin parçalanma uygulamalarında redoks yardımcıları ile enzimatik kataliz geniş uygulama alanına sahiptir. Bunların en önemlileri; bromofenol, 2,4-diklorofenol, gayakol, 1-hidroksibenzotriazol, m-kresol, kinol, siringaldehid, vanilin ve vilorik asittir [37].

BÖLÜM 6

ENZİM İMMOBİLİZASYONU

Biyoteknolojik uygulamalarda enzimlerin yüksek sıcaklıklardaki hızlı denatüre olmaları büyük bir problem oluşturmaktadır. Enzimlerin biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilmesi için çalışma koşullarında uzun süre kararlı olmaları gerekmektedir. Stabilitenin uzatılması enzim tekrarlarının sayısını azaltacak ve böylece enzimin kullandığı maliyetini de düşürecektir. Normal şartlar altında enzimin katalitik olarak aktif doğal yapısı, hidrojen bağları, hidrofobik, iyonik ve vander waals etkileşimleri gibi kovalent olmayan kuvvetler ile korunmaktadır. pH değişikliği ile bu kuvvetlerin etkisi azalır ve protein molekülü açılır. Bu ise enzimin denatürasyonu ile sonuçlanır [33]. Denatürasyonu engellemek ve enzimin çevre koşullarına daha kararlı hale gelebilmesi için enzimler bir desteğe immobilize edilmektedirler.

6.1. Enzim Stabilizasyonu

Serbest enzimlerin stabilizasyonu için 5 ana yöntem mevcuttur [33]. Bunlar:

- I. Doğal olarak yüksek stabiliteye sahip enzimleri üreten mikroorganizmaların bulunması
- II. Stabilize edici maddelerin (nötral tuzlar, şelat yapıcı maddeler, albüminler ve diğer proteinler) enzim çözeltilerine ilavesi,
- III. Enzim moleküllerinin kimyasal modifikasyonu (bifonksiyonel reaktiflerin kullanımıyla molekül içi çapraz bağlama ya da açılasyon ve redüktif alkilasyon gibi reaksiyonlarla proteinlerin üçüncül yapılarındaki fonksiyonel grupların modifiye edilmesi)
- IV. Protein mühendisliği
- V. Enzimlerin immobilizasyonudur.

Enzim ile arıtma henüz bir endüstriyel ölçekte uygulanan bir yöntem değildir. Serbest enzimlerin sıcaklığa dayanamamak, yeniden kullanım imkânının olmaması, proteaz enzimlerin saldırılarına açık olmaları ve inhibisyon vb. gibi eksiklikleri vardır. Bu kısıtlamaları aşmak için stabilitesinin yüksek olması, yeniden kullanımı ve uygulamadaki kolaylıkları gibi nedenlerden dolayı immobilize enzimlerin kullanılması öne sürülmüştür [30].

6.2. Enzim İmmobilizasyonu

İmmobilize enzim terimi ilk Enzim Mühendisliği Konferansında 1971'de benimsendi. Biyokatalizlerin immobilizasyonuna biyoteknolojik uygulamalarda dünya genelinde ilgi artmaktadır. İmmobilize enzimler serbest enzime göre daha kararlıdır. Ayrıca immobilize enzimler tekrar ve sürekli olarak kullanılabilir. Günümüzde immobilize biyokatalizlerin uygulamaları; stereospesifik veya "regiospesifik" biyodönüşüm ile faydalı bileşiklerin üretimi, biyolojik prosesler ile enerji üretiminde, çevre problemlerinin çözülmesinde belirli kirleticilerin ortamdan uzaklaştırılmasında, yüksek duyarlılık ve spesifite ile bileşiklerin sürekli analizlerinde ve enzim ile iyileştirme ve yapay organlar için yeni tip ilaçların geliştirilmesinde medikal uygulamalarda kullanılmaktadırlar [38].

Enzimlerin katı bir destek üzerine immobilizasyonu immobilize enzimlerin endüstride kullanımından dolayı yoğun bir ilgi alanıdır [39].

İmmobilizasyon yöntemi immobilize edilecek enzimin yapısına ve kullanım amacına göre seçilir. Kullanılan taşıyıcı ve analiz edilen maddenin fiziksel durumu da seçilecek yöntem için önemli faktörlerdendir [33].

İmmobilize enzimin özellikleri, hem enzim, hem de taşıyıcı materyalin özelliklerine bağlıdır. İmmobilizasyon işlemi ile birlikte enzimin kimyasal, biyokimyasal, mekanik ve kinetik özellikleri değişmektedir. İmmobilizasyondan sonra enzimin aktivitesi, optimum pH ve sıcaklık aralığı, substrata ilgisi ve stabilitesi farklı olmaktadır. Genellikle enzimin aktivitesi ve substrata olan ilgisi immobilizasyondan olumsuz, optimum sıcaklığı ve kararlılığı olumlu etkilenmektedir. Enzimdeki bu değişiklikler enzimin yapısına, matriksin türüne ve immobilizasyon koşullarına bağlı olarak farklıdır [33], [40]. Çok sayıda doğal veya sentetik polimerler enzimlerin immobilizasyonunda kullanılmaktadır. Mükemmel stabilite özelliklerinden dolayı sentetik polimerler enzim immobilizasyonunda destek materyali olarak yaygın kullanıma sahiptirler. Sentetik polimerler bakteriyel saldırılara dirençlidirler, istenen yapı ve özelliklerde kolayca hazırlanabilirler [40], [41].

6.2.1. Enzimlerin İmmobilizasyon Yöntemleri

Biyokatalizlerin immobilizasyonu için günümüzde yaygın olarak kullanılan yöntemler geliştirilmiştir. İmmobilizasyon destek materyali kimyasal kompozisyonuna (organik, inorganik), doğal ve sentetik olmasına göre sınıflandırılabilir. Bu yöntemler kısaca; adsorpsiyon, iyonik bağlanma, kovalent bağlanma, çapraz bağlanma ve enkapsülasyon olarak özetlenmektedir [38].

Çizelge 6.1. Boya gidermede immobilize oksidoredüktazların uygulamaları [5].

Enzim	Kaynağı	Destek materyali	Uygulamaları
Katalaz peroksidaz	Bacillus SF	Çeşitli alümin temelli destekler	Tekstil atıksuyunun reksizleştirilmesi
Lakkaz	Coriolopsis gallica	Agaroz	Procion navy Blue HER
Lakkaz	Trametes hirsute	Alümina	İndigoid, azo ve antraquinoid boyalar
Lakkaz	Trametes hirsute Sclerotium rolfsii	Alümina	Tekstil atıksuyundan indigo parçalanması
Lakkaz	Trametes versicolor Polyporus Pinisitus, ascomycete Myceliophthora thermophilia	bentonite/alginate	Direct Red 28, Indigoid, Asid Blue 74, Antrakinoik boyalar
Lakkaz	Trametes modesta	Y-aluminyum oksid pelletleri	Antrakinoik ve trifenilmetan boyalar
Lakkaz	Trametes modesta	Alümina	Reaktif Black 5 boyama atığı
Lakkaz	Pleurotus ostreatus	Cu-alginate, kitosan ile kaplı Cu-alginate	Reaktörlerde RB 19 rensizleştirme
Manganez peroksidaz	Membran reaktörü	Orange II	
Mikro-peroksidaz 11	Sitokrom c	Silika jel	Suda çözünmeyen sentetik boyalar
Peroksidaz	Horseradish	Poliakrilamid jel	Asid Black 10 BX
Peroksidaz	Saccharum uvarum	Hidrofobik destek (modifiye polietilen)	4 tekstil boyası Procion Navy Blue, HER, Procion Brilliant Blue H-7G, Procion Green HE-4BD, ve Supranol Green
Peroksidaz	Momordica charantia	Con A-Sefadeks, Biyoaffinity destek	8 adet reaktif tekstil boyası
Polifenol oksidaz	Solanum tuberosum	Celite 545	17 farklı tekstil boyası

BÖLÜM 7

MİKROORGANİZMA İLE BOYA GİDERME

7.1. Beyaz Çürükçül Mantarlar

Beyaz çürükçül mantarlar ("White Rot Fungi") basidiomycetes sınıfına aittirler. Trametes Versicolor küf bir beyaz çürükçül mantardır. Trametes Versicolor araştırmacılar tarafında çok çalışılan ve özellikle lakkaz enzimi üreten bir beyaz çürükçül mantardır. Trametes Versicolor ayrıca lignin peroksidaz ve mangan peroksidaz enzimlerini de üretmektedir [35], [42].

7.1.1. Mikroorganizma ile Renk Giderimini Etkileyen Faktörler

Fungal büyüme ve enzim üretimi ve sonuç olarak renk giderimi ve parçalanma birçok faktörden etkilenmektedir. Bu faktörler; besiyeri içeriği, pH değeri, karıştırma ve havalandırma, sıcaklık ve başlangıç boya konsantrasyonudur. Bu etkiler aşağıda kısaca açıklanacaktır [20].

7.1.2. Besiyeri İçeriği

Besiyerinin içeriği fungal büyüme ve renk giderme sistemlerinin üretiminde en büyük etkiye sahiptir. Mineral nutrientler ve diğer katkılar ile birlikte karbon ve nitrojen kaynağı önemlidir [20].

7.1.2.1. Karbon Kaynağı

Karbon kaynağı fungal büyüme ve oksidantlar için kaynak sağlamak ve renk giderimi için gereklidir. Araştırma çalışmaların çoğunda glukoz karbon kaynağı olarak kullanılmaktadır. Diğer alternatifler ise; fruktoz, sukroz, maltoz, ksiloz ve gliserol, nişasta ve ksilan kullanılabilir. Buna rağmen, selüloz ve türevleri karbon kaynağı substratları olarak kullanılmamaktadır. Karbon kaynağı ihtiyacı organizmaya ve muamele edildiği boyaya göre belirlenmektedir [20].

7.1.2.2. Nitrojen Kaynağı

Fungal türleri arasında büyümede ve özellikle enzim üretiminde nitrojen ihtiyacı oldukça farklıdır. P. Chrysosporium ile lignilolitik enzimlerin üretimi nitrojen sınırlandırılmış koşullarda daha etkili olduğu yaygın bir şekilde bilinmektedir. Diğer taraftan B. adusta nitrojence zengin bir ortamda daha fazla LiP ve MnP üretmektedir. White rot fungi nitrojen kaynakları olarak organik kaynaklar kadar inorganik kaynakları da kullanabilmektedir. İnorganik nitrojen, birçok durumda amonyum tuzları, fungal büyüme ve enzim üretimi araştırmaları sırasında kullanılmaktadır [20].

7.1.2.3. Diğer Bileşenler

Büyüme faktörlerinin kullanıldığı birçok çalışma vardır. Boya giderme teknolojilerinde bu bileşenlerin kullanımı ekonomik değildir. Mikroorganizmalar bazı minerallere gereksinim duymaktadırlar. Örneğin beyaz çürükçül mantar demir, bakır ve manganeze gereksinim duymaktadır. Bu mineraller atık suyun bir parçası olabilir veya ortama ilave edilmelidirler. Renk giderimini arttırmak için veratril alkol, triptofan ve aromatikler gibi (fenol ve anilin) düşük molekül ağırlıklı redoks mediatörleri de kullanılabilir [20].

7.1.3. pH

En önemli değişkenlerden birisidir. Beyaz çürükçül mantarlar genellikle asidik pH değerlerinde gelişirler. farklı boyar maddelerin gideriminde farklı optimum pH değerlerinde çalışırlar. Mikroorganizmaların optimum pH' ları besiyerine, mantara ve mantarın enzim sistemine bağlıdır [25].

7.1.4. Oksijen

Beyaz çürükçül mantarlar üreme ve gelişmeleri için gereken oksijen genellikle inkübasyon ortamının çalkalanması veya havalandırılması ile elde edilmektedir. Yapılan çalışmalarda çalkalamalı şartların renk gideriminde daha etkili olduğunu göstermektedir [43].

7.1.5. Sıcaklık

Beyaz çürükçül mantarlar farklı optimum sıcaklıklarda gelişirler. Ancak çoğunluğu 25-35°C aralığında gelişmektedir [43].

7.1.6. Başlangıç Boya Konsantrasyonu

Renk giderimi için başlangıç boya konsantrasyonunun optimize edilmesi önemlidir. Boyalar mikroorganizmalar için toksiktir. Toksikite boyanın konsantrasyona ve mikroorganizma türüne göre değişmektedir. Boyaların yüksek konsantrasyonları daima toksiktir. Literatürde değişik kaynaklarda 50-1000 mg L⁻¹ aralığında çalışılma yapılmıştır [22].

Çizelge 7.1. Tekstil boyar maddelerinin gideriminde farklı anaerobik proseslerin performansı [44].

Boya	Boya tipi	Reaktör tipi	Boya Konsantrasyonu (mg/L)	Süre	Renk Giderimi
Kongo Red Direct Black 38	Azo	Kesikli (Escherichia coli)	100	5 gün	% 98 % 72
Kongo Red Direct Black 38	Azo	Kesikli (Pseudomonas sp.)	100	5 gün	% 100 %83
Red RBN	Azo	Kesikli (Proteus mirabilis)	100	20 saat	% 95
Asid Orange 7 Direct Red 254	Monoazo Diazo	HÇYR	60	24 saat	% 92
Reaktif Red RB Reaktif Black B Remazol Blue	Reaktif	Kesikli	953.2 864.9 1031.3	24 saat	% 94.9 % 91 % 63.6
Reaktif Orange 16	Reaktif	Kesikli	350	6 saat	% 80-98
Reaktif Black 5 Direct Red 28 Direct Black 38 Direct Brown 2 Direct Yellow 12	Azo	HÇYR	250	20 saat	~ %100
Basic Yellow 28 Basic Yellow 21 Basic Red 18.1 Basic Violet Red 16	Azo	HÇYR	1000	5 gün	% 90
Basic Red 46 Basic Blue 16 Basic Blue 41					
Orange 11 Reaktif Black 3HN	Reaktif	Kesikli	100	10 gün	% 99
Reaktif red 195 Sumifix Supra Br Red 3BF	Monoazo	Anaerobik-aerobik AKR	100	18 saat	% 85
Bisazo vinilsülfonil, Anthraquinon Vinilsülfonil Anthrakinon Monoklorotriazenil		Anaerobik-aerobik AKR	20	18 saat	% 63 % 64 % 66
Tekstil atık suyu	İndigo	Kesikli	100	13 gün	~ % 100
Tekstil atık suyu	Reaktif	Akışkan yataklı	20	24 saat	% 59

BÖLÜM 8

DENEYSEL ÇALIŞMALAR ve DENEY SONUÇLARI

8.1. Horseradish Peroksidaz Enziminin Aktivite Tayini

8.1.1. Kullanılan Reaktifler

0,01M PBS; pH: 7.0

10 mM o-dianisidin

Ticari HRP enzim çözeltisi (0,00025 mg/mL)

%3 H₂O₂

8.1.2. Horseradish Peroksidaz Enziminin Aktivitesinin Belirlenmesi

25 °C deki çalkalamalı su banyosunda bekletilen deney tüplerine sırası ile 885 µL PBS, 20 µL o-dianisidin, 10 µL enzim çözeltisi konuldu ve 10 µL H₂O₂ (% 3' lük) eklenerek reaksiyon başlatıldı. 10. dakika UV spektrofotometrede absorpsiyon spektrumları alınarak A₄₆₀ değerleri okundu [33].

8.1.3. Aktivite Değerlerinin Hesaplaması (U/mg)

HRP aktivitesi, H₂O₂ vasıtası ile o-dianisidinün yükseltgenmiş formunun 460nm'deki absorpsiyonunun spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle tayin edilmiştir (o-dianisidin için ε₄₆₀: 11,3 mM⁻¹ cm⁻¹ [33].

1 unite enzim aktivitesi, standart koşullar altında 1 dakikada 1µmol substratı oksitleyen peroksidaz miktarı olarak tanımlanmaktadır [33].

$$\frac{U}{mg} = \frac{A_{460} \times 10^6}{M_{\epsilon} \times t \times c_{HRP}}$$

M_ε= o-dianisidinün molar absorpsiyon katsayısı (11.300 M⁻¹ cm⁻¹)

t= Bekleme süresi (10 dakika)

1 mol= 10⁶ µmol

c_{HRP}= Enzim konsantrasyonu (0,00025 mg/mL)

8.2. Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesi

Stok boya çözeltisi destile suda (33 mg mL^{-1}) hazırlandı. Bu stok boya çözeltisinden $10 \mu\text{L}$ çalışılacak tampon çözeltiliye ilave edildi (Boya konsantrasyonu: 110 mg L^{-1}). Boya çözeltisine satın alınan Horseradish Peroksidaz (HRP) enzimi ilave edildikten sonra H_2O_2 (Hidrojen Peroksidaz) başlatıcısı ile reaksiyon başlatıldı ve belirli bekleme sürelerinde ölçümler yapıldı.

Boya gidermenin incelenmesi için UV-Vis. spektrofotometrede $200\text{-}800 \text{ nm}$ aralığında boyanın spektrumu alınarak maksimum dalga boyu 594 nm olarak belirlendi. Boyanın enzim ile muamelesinden sonra belirli sürelerde alınan kromatogramlar kaydedildi. UV-Vis. spektrofotometre ile boyanın en yüksek absorpsiyon gösterdiği dalga boyundaki absorpsiyon değerlerindeki düşüşler kaydedildi. Başlangıçta ölçülen boyanın absorpsiyonu dikkate alınarak belirli sürelerde ölçülen absorpsiyonlar ile % boya kaybı hesaplandı. Boya giderme spektrofotometrik olarak maksimum dalga boyundaki azalmanın hesaplanması ile belirlendi. % boya giderme değerleri aşağıdaki denkleme göre hesaplandı.

$$\% \text{ Boya Giderme: } \frac{(\text{Abs}_{(i)} - \text{Abs}_{(t)})}{\text{Abs}_{(i)}} \times 100$$

Abs (i): boyanın maksimum dalga boyunda gösterdiği absorpsiyon değeri

Abs (t): Reaksiyon H_2O_2 ile başlatıldıktan sonra her bir bekleme süresi için maksimum dalga boyundaki absorpsiyon değeri.

8.2.1.1. HRP Enzimi ile Boya Gidermenin Şematiksel Gösterimi

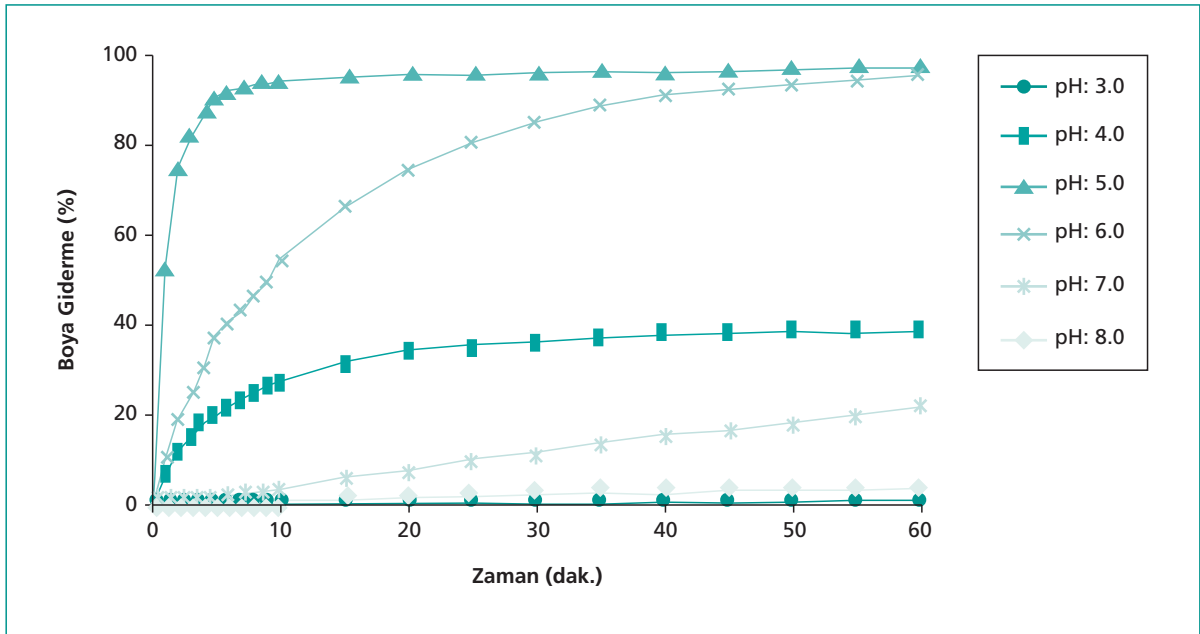
- Tampon Çözeltisi (Farklı pH' larda)
- $10 \mu\text{L}$ (Reaktif Blue 19) boya çözeltisi ($C_{\text{stok}}: 33 \text{ mg mL}^{-1}$)
- $16,4 \mu\text{L}$ enzim çözeltisi (Enzim konsantrasyonu: $0,0033 \text{ mg mL}^{-1}$)
- $10 \mu\text{L}$ H_2O_2 (% 3' lük) ve spektrum alınır. $V_{\text{son}}: 3 \text{ mL}$ dir.

8.2.2. RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine pH' ın Etkisinin İncelenmesi

Reaktif Blue 19 (RB 19) boyasının satın alınan Horseradish Peroksidaz (HRP) enzimi ile hidrojen peroksit (H_2O_2) başlatıcısı kullanarak pH: 3, 4, 5, 6, 7 ve 8 için $30 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de 60 dakika boyunca UV-vis. spektrofotometrede $200\text{-}800 \text{ nm}$ arasında spektrumları alındı. Bu spektrumlardan RB 19 boyasının maksimum absorpsiyon değeri olan 594 nm ' deki değerleri kaydedildi ve yüzde (%) boya giderme değerleri hesaplandı. pH: 5,0' te en yüksek boya giderme yüzdesine ulaşıldığı çizelge 8.1' de görülmektedir.

Çizelge 8.1. 30 °C' de farklı pH' larda HRP enzimi etkisi ile % RB 19 boyasının giderilme değerleri

Zaman (dak.)	% Boya Giderme					
	pH: 3.0	pH:4.0	pH: 5.0	pH: 6.0	pH: 7.0	pH: 8.0
0	0,10	2,21	7,09	1,50	0,10	0,11
1	0,10	6,62	53,64	11,05	0,62	0,42
2	0,21	11,94	75,48	19,64	1,14	0,53
3	0,21	15,35	82,38	25,21	1,45	0,53
4	0,21	18,96	87,93	31,33	1,77	0,53
5	0,31	20,26	90,90	37,55	1,97	0,53
6	0,41	22,17	92,24	40,88	1,97	0,53
7	0,41	23,97	93,01	43,56	2,60	0,53
8	0,41	25,38	93,58	47,32	2,91	0,64
9	0,52	26,88	93,87	49,36	3,32	0,85
10	0,62	27,88	94,16	54,72	3,84	0,95
15	0,83	31,80	95,11	65,99	6,23	1,27
20	0,93	34,20	95,59	74,46	8,10	1,59
25	0,93	35,71	95,88	80,79	9,97	1,91
30	1,03	36,71	96,07	85,41	11,84	2,22
35	1,14	37,41	96,07	88,73	13,50	2,54
40	1,34	37,91	96,17	91,09	15,26	2,75
45	1,34	38,11	96,36	92,70	17,03	3,07
50	1,45	38,42	96,65	93,78	18,69	3,39
55	1,55	38,62	96,65	94,85	20,35	3,60
60	1,55	38,72	96,65	95,60	22,01	3,81

**Şekil 8.1.** 30 °C' de farklı pH' larda HRP enzimi etkisi ile % RB 19 boya giderme

Şekil 8.1' de görüldüğü gibi pH: 5.0' te ilk 5. dakika içinde en yüksek boya giderme değerlerine ulaşılmıştır. pH: 6.0' ise 60 dakika sonra pH: 5.0' elde edilen boya giderme değerlerine ulaşılmıştır.

8.2.3. RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Enzim Konsantrasyonunun Etkisi İncelenmesi

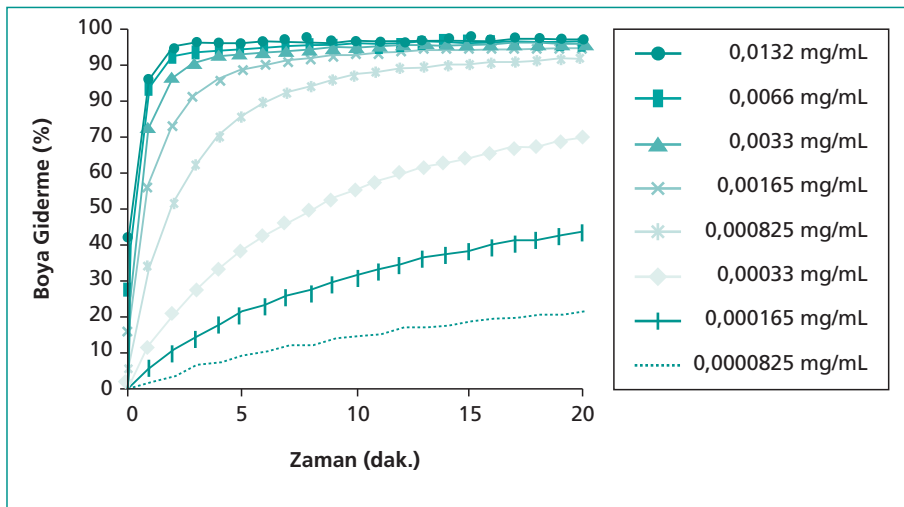
Farklı enzim konsantrasyonlarının pH 5,0 ve 30 °C' de boya giderme üzerindeki etkisi incelendi.

Çizelge 8.2. RB 19 boyasının (110 mg L⁻¹) pH: 5,0 ve 30 °C' de farklı enzim konsantrasyonlarında % boya giderme değerleri

Zaman (dak.)	% RB 19 Boya Giderme							
	E1	E2	E3	E4	E5	E6	E7	E8
0	42,47	28,13	24,87	15,91	5,41	0,97	0,11	0,11
1	85,38	83,32	72,55	56,28	33,62	11,41	5,18	1,52
2	94,09	92,19	86,07	72,62	51,64	20,45	10,15	3,37
3	94,73	93,05	90,4	81,17	62,04	27,23	13,5	5,33
4	94,95	93,9	92,16	85,71	69,78	32,83	17,39	6,96
5	95,05	93,69	92,98	88,31	75,19	37,89	20,52	8,38
6	95,16	94,55	93,5	89,83	79	42,2	22,79	9,68
7	95,38	94,76	93,91	90,91	81,76	46,07	25,16	10,99
8	95,48	94,97	94,22	91,56	83,78	49,41	27,11	11,64
9	95,59	95,08	94,53	92,1	85,37	52,21	29,16	12,73
10	95,7	95,29	94,74	92,53	86,64	54,79	30,99	13,82
20	96,45	95,83	95,67	93,94	91,41	69,21	43,2	20,67

Horseradish Peroksidaz enzimi pahalı bir enzimdir. Boyaların renginin giderilmesinde HRP enzimin maliyeti enzimatik proseslerin kullanımında kısıtlayıcı olabilmektedir. Bu nedenle, en yüksek boya giderme değerine en düşük enzim konsantrasyonunda ulaşmak gerekmektedir. Optimum enzim konsantrasyonunun belirlenmesi bu nedenle önemlidir. 110 mg/mL konsantrasyondaki boya çözeltisine enzim ve başlatıcısı (hidrojen peroksit) ilave edildikten sonra artan enzim konsantrasyonları (0.0825 µg/mL, 0.165 µg/mL, 0.330 µg/mL, 0.825 µg/mL, 1.65 µg/mL, 3.3 µg/mL, 6.6 µg/mL, 13.2 µg/mL) için 1. dakikada elde edilen boya giderme değerleri sırası ile % 2, % 5, % 11, % 34, % 56, % 73, % 83 ve % 85 sonuçları elde edilmiştir.

C* Farklı enzim konsantrasyonlarında 594 nm' de boya giderme etkinliği (E1: 0,0132 mg/mL, E2: 0,0066 mg/mL, E3: 0,0033 mg/mL, E4: 0,00165 mg/mL, E5: 0,000825 mg/mL, E6: 0,00033 mg/mL, E7: 0,000165 mg/mL, E8: 0,0000825 mg/mL)+



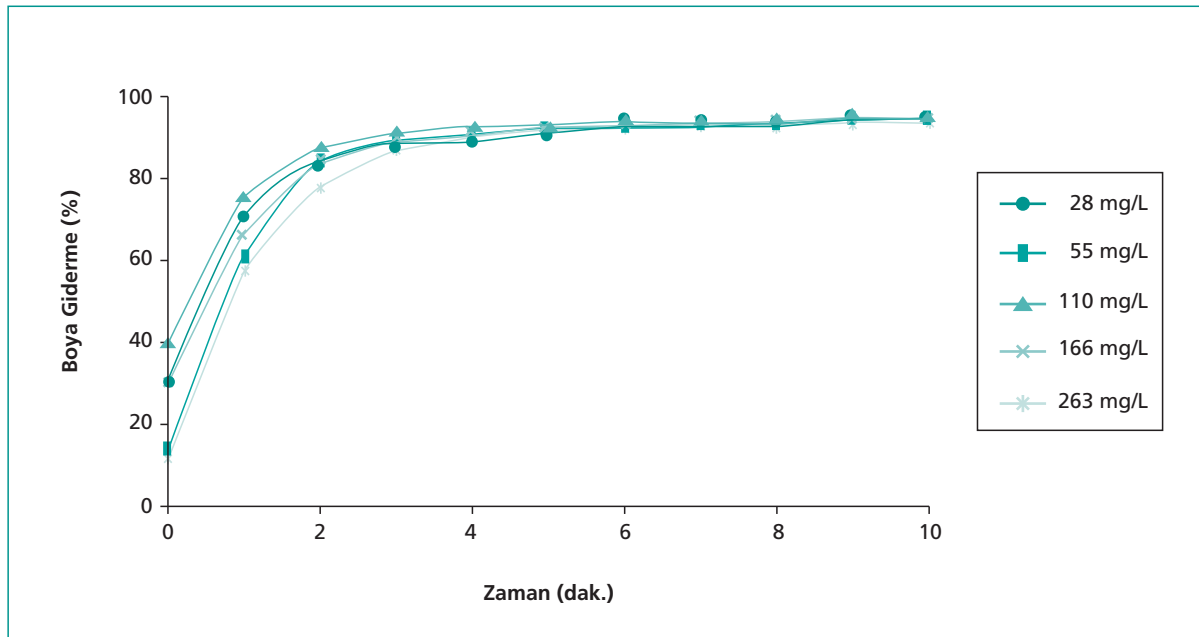
Şekil 8.2. RB 19 boyasının (110 mg L⁻¹) pH: 5,0 ve 30 °C' de farklı enzim konsantrasyonlarında % boya giderme (E1: 0,0132 mg/mL, E2: 0,0066 mg/mL, E3: 0,0033 mg/mL, E4: 0,00165 mg/mL, E5: 0,000825 mg/mL, E6: 0,00033 mg/mL, E7: 0,000165 mg/mL, E8: 0,0000825 mg/mL)

8.2.4. RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Başlangıç Boya Konsantrasyonunun Etkisinin İncelenmesi

pH 5.0 ve 30 °C' de RB 19 boyasının farklı başlangıç konsantrasyonlarında HRP enzimi ile boya giderme etkisi incelendi. Boya giderme sonuçları Çizelge 8.3 ' te gösterilmektedir.

Çizelge 8.3. RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı RB 19 boya konsantrasyonlarında 10 dak. süresince pH: 5 ve 30 °C' de 594 nm deki % giderme değerleri

Zaman (dak.)	Farklı Boya Konsantrasyonları (mg L ⁻¹) için % Boya Giderme Değerleri				
	28	55	110	166	263
0	30,48	14,01	39,36	30,04	11,43
1	71,38	60,89	76,32	66,33	57,77
2	84,76	84,05	87,81	83,13	77,86
3	88,10	89,49	90,61	89,45	87,18
4	89,59	91,05	92,41	91,85	90,63
5	91,45	92,02	93,01	93,09	92,16
6	92,19	92,61	93,51	93,45	92,92
7	92,94	93,19	94,01	93,67	93,40
8	93,31	93,58	94,41	93,89	93,74
9	94,05	93,97	94,71	94,11	93,97
10	94,42	94,16	94,91	94,40	94,17



Şekil 8.3. RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı RB 19 boya konsantrasyonlarında 10 dak. süresince pH: 5 ve 30 °C' de 594 nm deki % giderme değerleri.

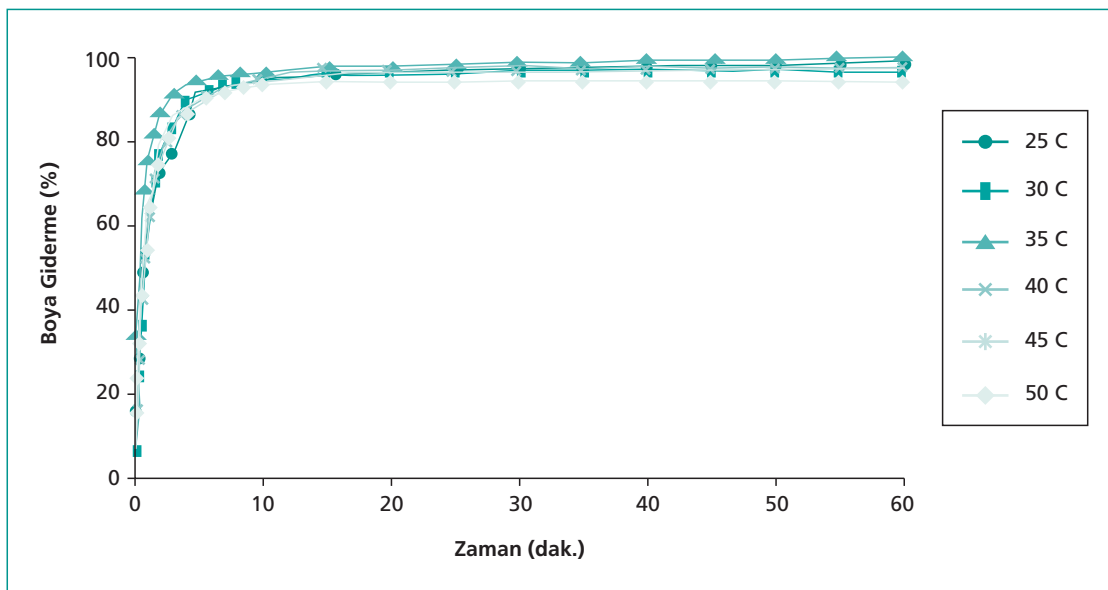
Şekil 8.3' te görüldüğü gibi boya konsantrasyonunun artması ile de boya giderme etkisi devam etmektedir. pH: 5.0 ve 30 °C' de 10 dak. gibi kısa bir sürede 28-263 mg L⁻¹ konsantrasyonları aralığında % 94 boya giderme yüzdesine ulaşılmıştır.

8.2.5. RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Sıcaklığın Etkisinin İncelenmesi

pH: 5,0 ve farklı sıcaklıklarda 60 dakika boyunca RB 19 boyası giderildi. Boya giderme yüzdeleri 25-50 °C arasındaki sıcaklıklarda benzer sonuçlar vermektedir. Sonuçlar Çizelge 8.4' te gösterilmiştir.

Çizelge 8.4. pH: 5,0 ve farklı sıcaklıklarda (25-50 °C) HRP enzimi ile RB 19 boyasının (110 mg L⁻¹) % giderilme değerleri

Zaman (dak.)	% RB 19 Boya Giderme					
	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C	45 °C	50 °C
0	16,82	7,09	34,42	16,22	23,68	24,49
1	62,87	53,64	75,42	57,29	63,81	62,71
2	72,52	75,48	87,38	74,95	82,48	78,39
3	77,3	82,38	91,74	82,63	87,76	84,79
4	86,67	87,93	93,41	87,81	89,45	87,66
5	91,36	90,9	94,25	90,31	90,88	89,52
6	92,65	92,24	94,71	91,75	92,4	90,82
7	93,29	93,01	95,18	92,99	93,12	91,65
8	93,57	93,58	95,55	93,95	93,57	92,21
9	93,75	93,87	95,73	94,63	94,01	92,67
10	94,12	94,16	95,92	95,2	94,28	92,95
15	95,4	95,11	96,85	96,35	95,08	93,69
20	96,23	95,59	97,03	96,93	95,35	93,88
25	96,88	95,88	97,22	97,02	95,44	93,97
30	97,33	96,07	97,68	97,02	95,53	93,97
35	97,61	96,07	97,87	97,12	95,53	94,06
40	97,79	96,17	98,14	97,12	95,62	94,06
45	97,98	96,36	98,24	97,12	95,62	94,16
50	98,07	96,65	98,3	97,12	95,62	94,16
55	98,16	96,65	98,61	97,12	95,62	94,25
60	98,25	96,65	98,7	97,12	95,62	94,25



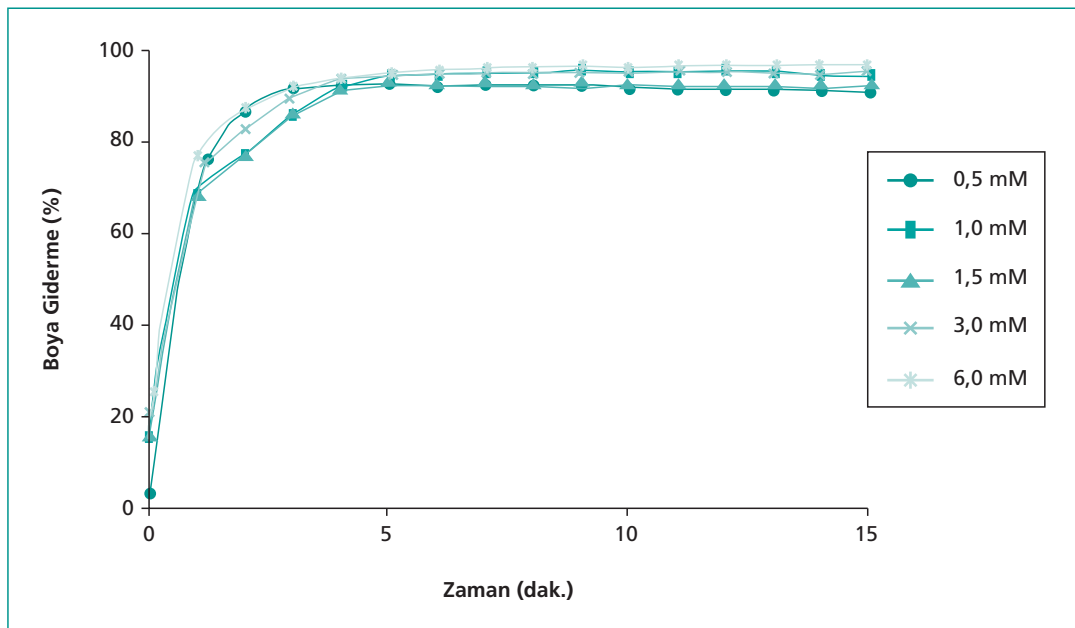
Şekil 8.4. pH: 5,0 ve farklı sıcaklıklarda (25-50 °C) HRP enzimi ile RB 19 boyasının (110 mgL⁻¹) % giderilmesi

8.2.6. RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Başlatıcı (H_2O_2) Konsantrasyonunun Etkisinin İncelenmesi

RB 19 boyası için H_2O_2 ' in farklı konsantrasyonlarının boya gidermeye olan etkisi incelendi. Deneysel sonuçları Çizelge 8,5'da gösterilmiştir.

Çizelge 8.5. RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı H_2O_2 başlatıcısı konsantrasyonlarında 15 dk. süresince pH: 5 ve 30 °C' de 594 nm % giderme sonuçları

Zaman (dak.)	% Boya Giderme				
	H_2O_2 (Başlatıcı) Konsantrasyonu (mMolar)				
	0,5 mM	1,0 mM	1,5 mM	3,0 mM	6,0 mM
0	3,83	15,83	15,59	21,88	26,11
1	69,43	69,18	69,09	70,46	76,44
2	87,23	77,19	77,12	82,86	86,75
3	91,06	85,57	85,53	90,52	91,67
4	92,34	92,09	92,06	93,07	93,85
5	92,61	93,67	93,65	94,17	94,89
6	92,7	94,23	94,21	94,44	95,46
7	92,61	94,41	94,4	94,71	95,74
8	92,52	94,41	94,4	94,9	96,03
9	92,34	94,32	94,3	94,99	96,22
10	92,24	94,23	94,21	95,08	96,31
11	92,24	94,23	94,21	95,17	96,5
12	92,15	94,23	94,21	95,26	96,59
13	91,88	94,23	94,21	95,26	96,69
14	91,79	94,23	94,21	95,35	96,78
15	91,7	94,23	94,21	95,44	96,88



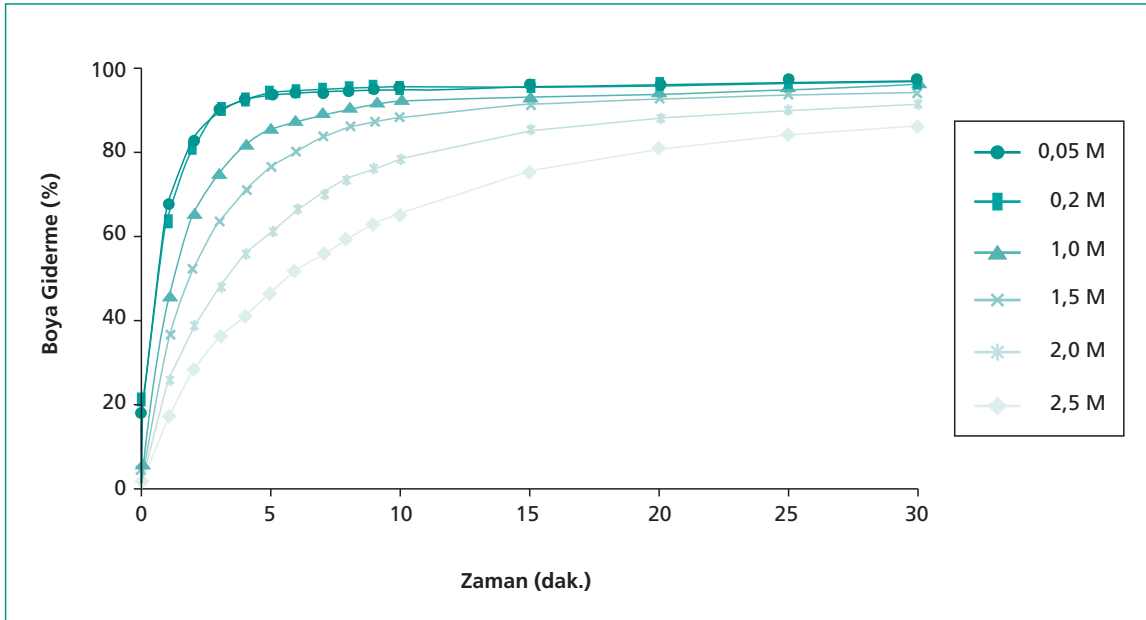
Şekil 8.5. RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı H_2O_2 (% 1' lik) başlatıcısı konsantrasyonlarında 15 dk. süresince pH: 5 ve 30 °C' de 594 nm % giderme

8.2.7. RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Üre Konsantrasyonunun Etkisinin İncelenmesi

6.0 M konsantrasyonunda üre stok çözeltisi hazırlandı. pH: 5.0 ve 30 °C' de ürenin artan konsantrasyonlarında boya giderme %' si düşmektedir. Boya giderme sonuçları Çizelge 8.6' da gösterilmektedir.

Çizelge 8.6. RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı üre konsantrasyonlarında 30 dak. süresince pH: 5 ve 30 °C' de % giderme

Zaman (dak.)	RB 19 Boyasının Giderilmesi (%)					
	Üre Konsantrasyonu (Molar)					
	0,5 M	0,20 M	1,0 M	1,5 M	2,0 M	2,5 M
0	18,66	20,90	6,45	3,55	0,90	1,36
1	68,11	63,54	45,93	36,86	26,37	17,46
2	82,63	80,60	65,71	52,31	38,92	27,94
3	90,17	89,97	75,29	63,50	48,43	36,12
4	92,74	92,78	81,83	71,23	55,87	41,31
5	93,75	94,10	85,32	76,73	61,88	46,76
6	94,30	94,66	87,91	80,55	66,73	51,70
7	94,58	94,94	89,44	83,48	70,58	55,62
8	94,76	94,94	90,51	85,61	73,81	59,03
9	94,85	95,03	91,32	87,12	76,41	62,52
10	94,94	95,13	91,85	88,37	78,57	65,25
15	95,59	95,41	93,29	91,47	85,11	74,87
20	95,96	95,78	93,91	92,90	88,34	80,24
25	96,42	96,25	95,26	93,69	90,13	83,65
30	96,78	96,53	96,15	94,32	91,48	86,20



Şekil 8.6. RB 19 boyasının HRP enzimi ile farklı üre konsantrasyonlarında 30 dak. süresince pH: 5 ve 30 °C' de % giderme

Şekil 8.6' da, düşük üre konsantrasyonu içeren Reaktif Blue 19 boya çözeltisi daha yüksek yüzdeler ile boya giderilirken, boya çözeltisindeki üre konsantrasyonunun artması ile boya giderme değerlerinde azalma gözlenmektedir.

8.2.8. NaCl Konsantrasyonunun RB 19 Boyasının HRP Enzimi ile Giderilmesine Etkisi

Tuz yardımcı kimyasal olarak tekstil endüstrisinde yardımcı kimyasal olarak boyama işlemlerinin bazı aşamalarında kullanılmaktadır. Enzimin tuz içeren çözeltide boya giderme etkinliğini nasıl etkileyeceğini görmek amacıyla bu çalışma yapıldı.

Buyamada tuz kullanımının kazandırdığı kolaylıklar şöyle sıralanmaktadır;

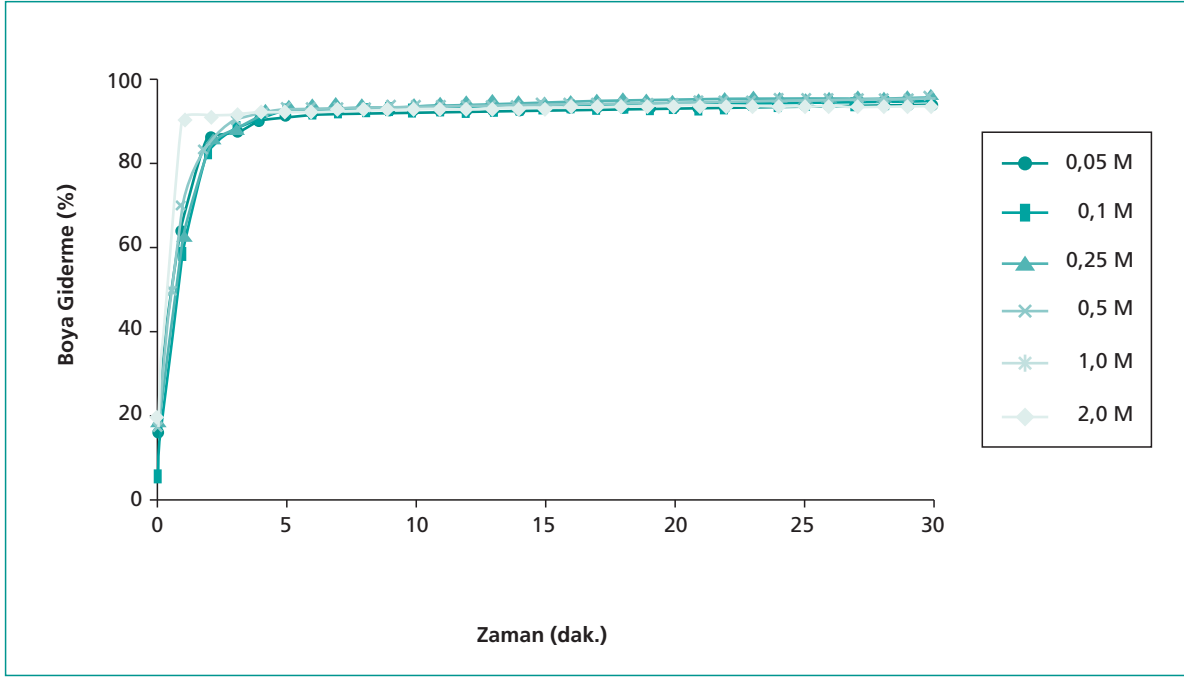
- boyar maddenin life olan ilgisini artırır.
- boyar maddenin selüloz tarafından alınma miktarı artar.
- boyar maddenin lif üzerinde homojen dağılımını sağlar.
- boyar madde moleküllerinin kumaşa yönlendirilmesini sağlar.

Buyamada yukarıda sıralanan nedenlerden dolayı tuz kullanıldığından atık suda tuz varlığının enzimin boya giderme verimliliğini etkisi incelendi.

3 M hazırlanan stok tuz çözeltisinden değişik hacimlerde alındı. Tuz konsantrasyonunun artması ile ilk birkaç dakikada boya giderme %' si 80-90 lara ulaşmasına rağmen, daha uzun sürelerde boya giderme yüzdesi üzerinde bir değişiklik gözlenmedi.

Çizelge 8.7. Farklı NaCl konsantrasyonlarında pH: 5, 30 °C., RB 19 boyasının HRP enzimi ile % giderilmesi

Zaman (dak.)	RB 19 Boyasının Giderilmesi (%)					
	Tuz (NaCl) Konsantrasyonu (Molar)					
	0,05 M	0,1 M	0,25 M	0,5 M	1 M	2 M
0	15,80	5,22	19,31	13,87	14,86	18,91
1	63,76	58,82	63,45	69,60	80,14	90,23
2	85,52	83,35	87,01	86,94	87,04	91,35
3	87,07	88,68	87,20	90,98	91,32	92,09
4	91,16	91,68	92,41	92,49	92,39	92,58
5	92,04	92,79	93,33	92,83	92,75	92,83
6	92,27	93,01	93,68	93,18	92,87	92,95
7	92,82	93,56	93,79	93,18	92,75	93,08
8	93,15	93,56	94,02	93,29	92,75	93,20
9	93,37	93,67	94,25	93,41	92,87	93,33
10	93,59	93,78	94,37	93,53	92,87	93,45
11	93,81	93,78	94,48	93,76	92,87	93,57
12	94,03	94,01	94,60	93,87	92,98	93,70
13	94,14	94,12	94,60	93,99	93,10	93,70
14	94,25	94,12	94,71	94,10	93,22	93,82
15	94,25	94,23	94,83	94,22	93,34	94,07
16	94,36	94,34	94,94	94,34	93,46	94,07
17	94,36	94,45	95,06	94,45	93,46	94,19
18	94,59	94,56	95,17	94,45	93,58	94,19
19	94,70	94,56	95,29	94,45	93,70	94,19
20	94,70	94,67	95,40	94,45	93,70	94,19
21	94,81	94,89	95,40	94,57	93,82	94,31
22	94,81	94,89	95,52	94,57	93,82	94,31
23	94,92	95,01	95,52	94,68	93,82	94,44
24	95,03	95,01	95,63	94,68	93,94	94,44
25	95,14	95,12	95,75	94,68	93,94	94,44
26	95,14	95,12	95,75	94,80	93,94	94,44
27	95,25	95,23	95,86	94,80	94,05	94,44
28	95,25	95,34	95,86	94,80	94,05	94,56
29	95,36	95,45	95,98	94,91	94,05	94,56
30	95,36	95,56	95,98	94,91	94,05	94,56



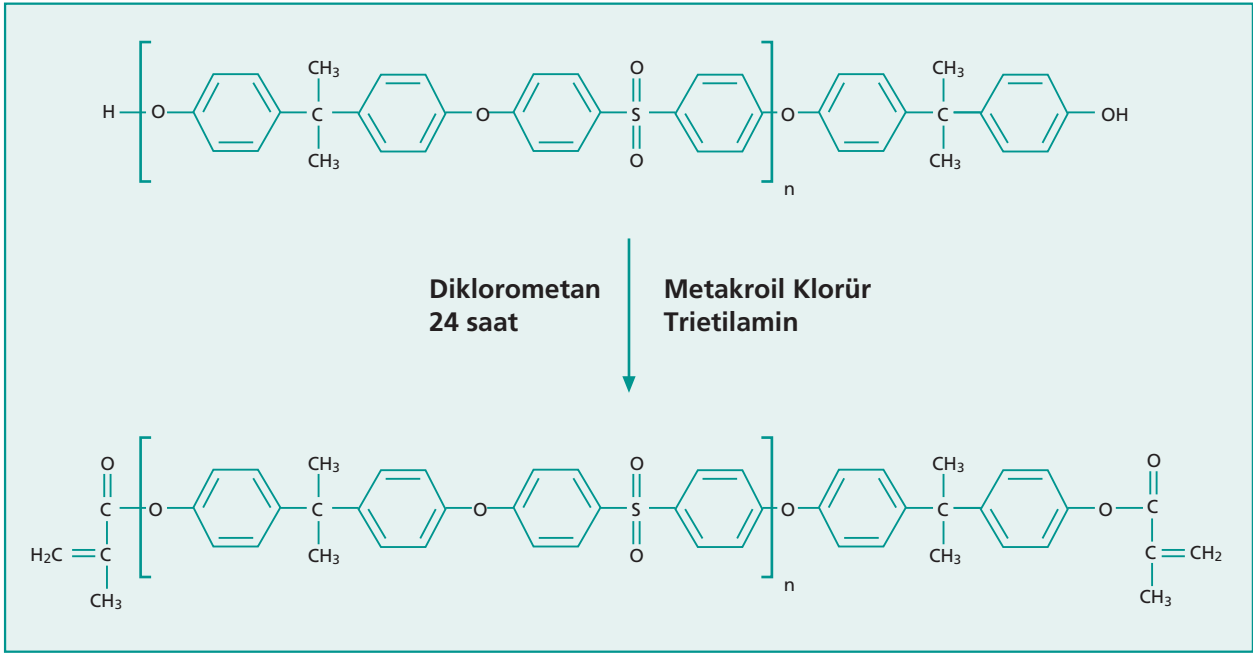
Şekil 8.7. Farklı NaCl konsantrasyonlarında pH: 5, 30 °C, RB 19 boyasının HRP enzimi ile % giderilmesi

8.3. İmmobilize Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Boya Giderme

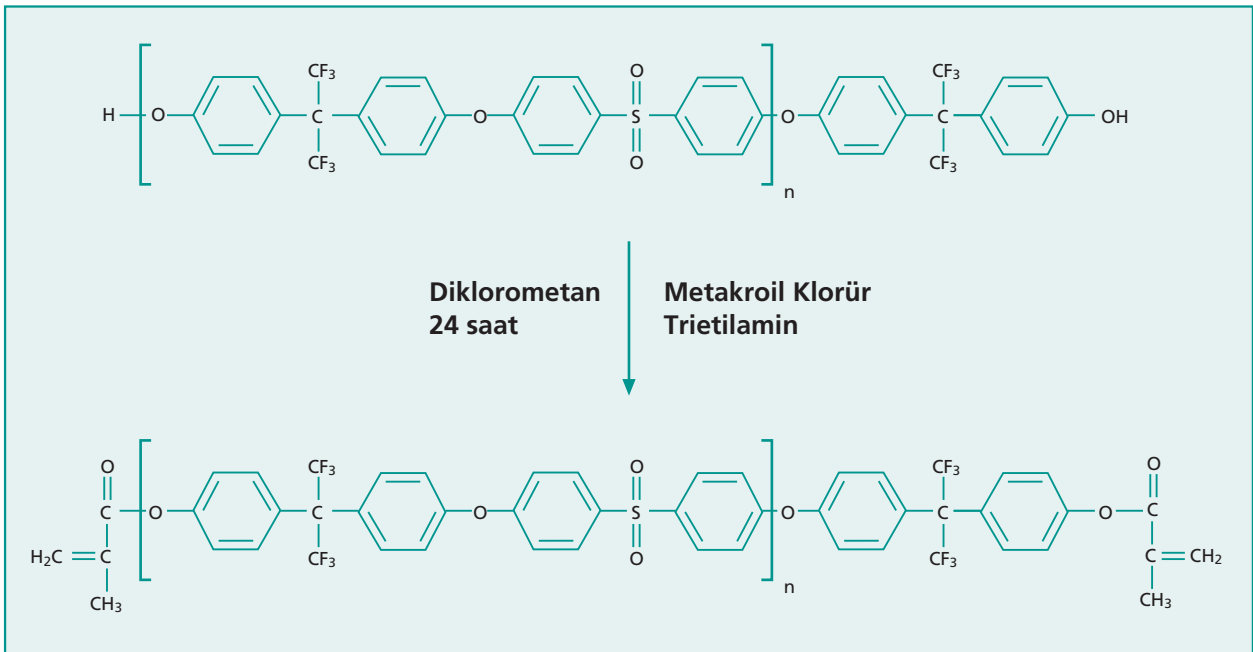
Çalışmanın bu bölümünde; Horseradish peroxidase enziminin katı bir desteğe (polimer) immobilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Enzimin polimere immobilizasyonu ile başlıca uygulama kolaylığı, enzimin tekrar kullanılmasıyla ekonomik katkı sağlanması, proteolitik bozunmaya karşı stabilizasyon (direnc kazandırma) ve enzimin raf ömrünün arttırılması hedeflenmektedir.

8.3.1. Polisülfon Polimerinin Modifikasyonu

3 g Bis-A-PSU-OH ve 3 g Bis-AF-PSU-OH, 30 mL diklorometan, 3 mL trietilamin ve 0,44 g metakril klorür (10 mL dikloro metan içinde) azot ortamında 3 boyunlu balona sırayla yavaşça ilave edildi. Polimerin modifikasyonu reaksiyonu soğukta gerçekleştirildi. Reaksiyon 24 saat sonra durduruldu ve metanolde çöktürme yapılarak saflaştırıldı. Elde edilen polimer etüvde kurutulduktan sonra toz PSU polimeri dimetilasetamidte çözülerek tekrar metanolde çöktürme yapılarak saflaştırıldı. Çöktürme işlemi toz polimer dimetilasetamidte çözüldükten sonra karıştırıcı ile karışan 400-500 mL metanol çözeltisinin içine pastör pipeti ile damlatılarak yapıldı.



Şekil 8.8. Bisfenol A polisülfon polimerinin metakrillenmesi



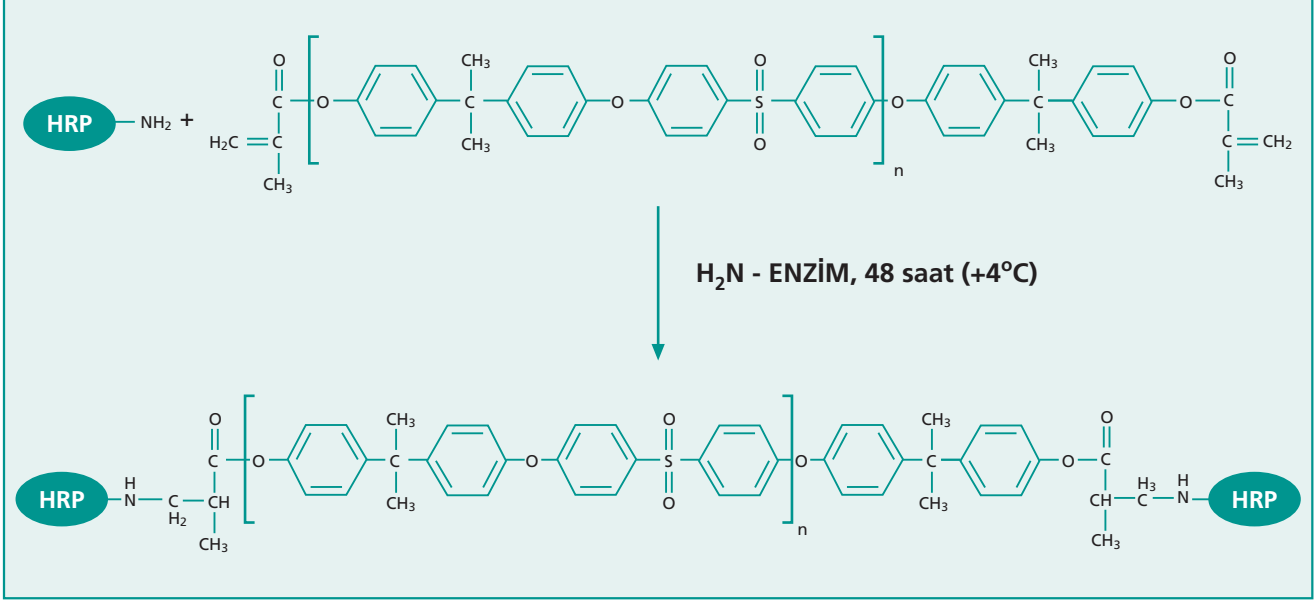
Şekil 8.9. Bisfenol AF bazlı polisülfon polimerinin metakrillenmesi

8.3.2. Modifiye Polimerlerin İşlenmemiş Kumaşın Üzerine Tutturulması

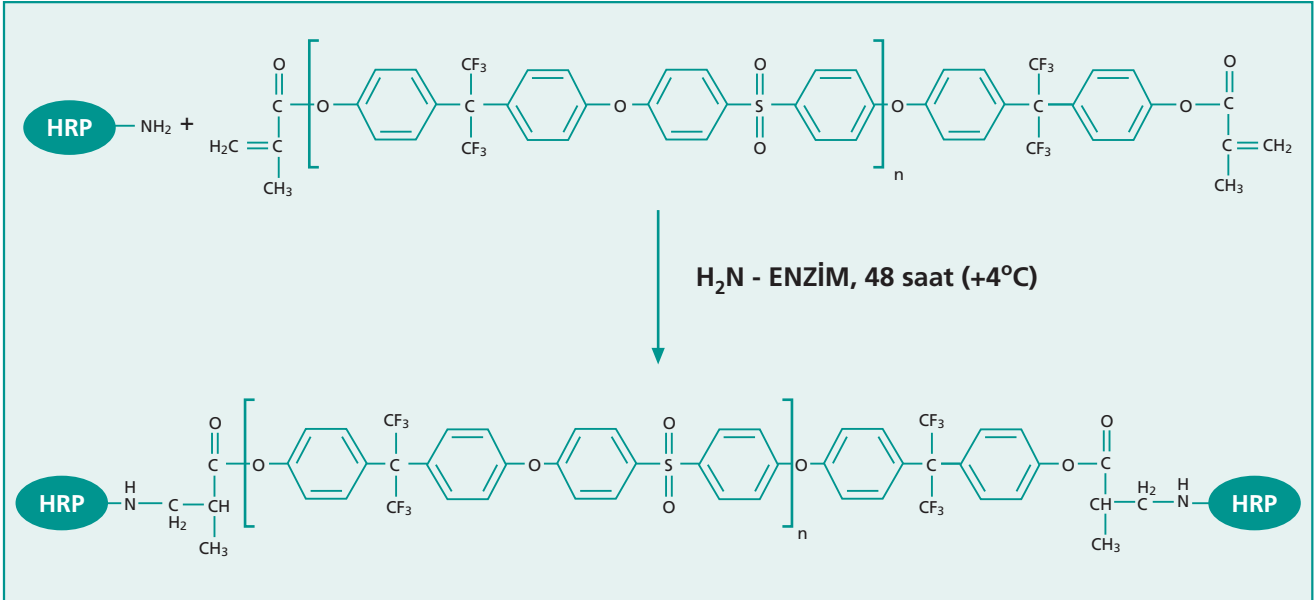
50 mg modifiye polimer işlenmemiş kumaş parçası üzerine (2 cm² - 60 mg) emdirildi ve etüvde 80 °C de kurutuldu.

8.3.3. Polimer Üzerine Enzim İmmobilizasyonu

Modifiye polimerin üzerine Horseradish peroksidaz enzimi (0.1 M pH: 7.0 Fosfat Tamponu içerisinde) damlatıldı ve 48 saat +4 °C' de bekletildi. Daha sonra immobilize enzim 0,1 M fosfat tamponu içinde 1 gece bekletildikten sonra 2 kez 1 saat ara ile yıkama yapılarak bağlanmayan enzim uzaklaştırıldı [45].



Şekil 8.10. Enzimin modifiye A-PSU polimere immobilizasyonu



Şekil 8.11. Enzimin modifiye AF-PSU polimere immobilizasyonu.

8.3.4. RB 19 ve AB 1 Boyalarının İmmobilize Horseradish Peroksidaz Enzimi İle Giderilmesi

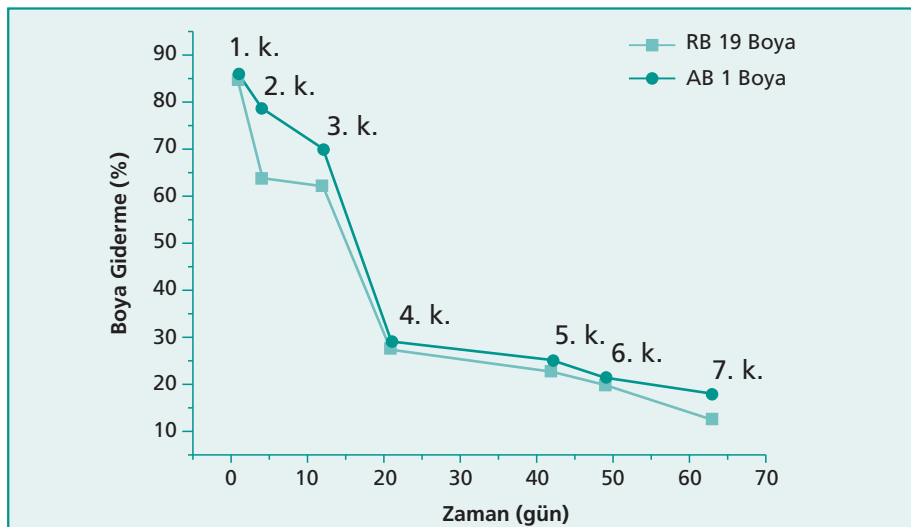
Reaktif Blue 19 boyası stok çözelti konsantrasyonu 4 mg mL⁻¹ dir. Stok RB 19 çözeltisinden 100 µL alınarak 10 mL hacimde pH: 5.0 tamponuna ilave edildikten sonra üzerine enzim immobilize polimer bırakıldı. Başlangıç absorbansı UV-Visible spektrofotometrede 594 nm'de okundu. 100 µL H₂O₂ ile reaksiyon başlatıldıktan 1 saat sonra tekrar UV-Vis. da ölçüm yapıldı ve boya giderme değerleri elde edildi. RB 19: 40 mg L⁻¹ (10 mL lik hacimdeki boya konsantrasyonu).

Asid Black 1 boya çözeltisinin konsantrasyonu: 4 mg mL⁻¹. Bu boya çözeltisinde 25 µL alınarak 10 mL hacimde pH: 5.0 tamponuna ilave edildikten sonra üzerine enzim immobilize polimer bırakıldı. Başlangıç absorbansı 618 nm'de okundu. 100 µL H₂O₂ ile reaksiyon başlatıldıktan 1 saat sonra tekrar UV-vis. da ölçüm yapıldı ve boya giderme değerleri elde edildi. AB 1: 10 mg L⁻¹ (10 mL lik hacimdeki boya konsantrasyonu).

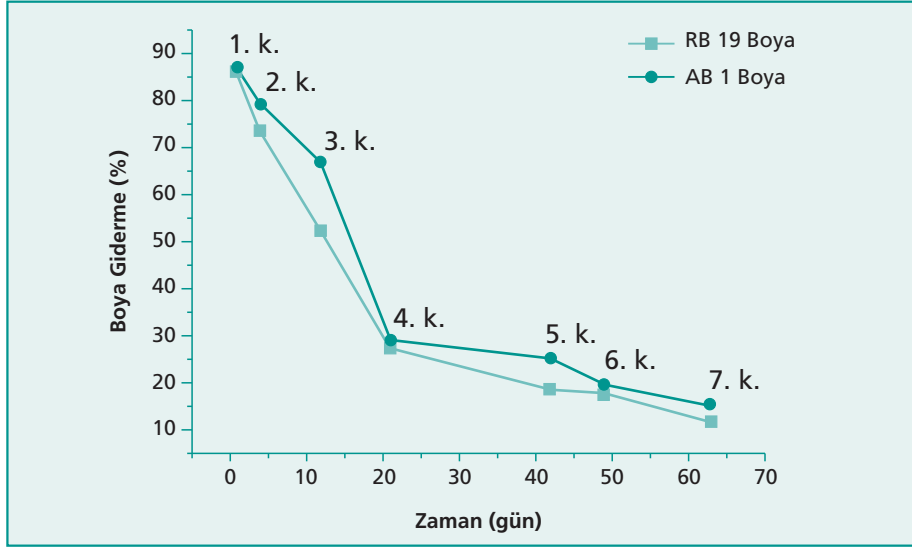
Not: kumaş yaklaşık 60 mg, polimer miktarı 50 mg/kumaş. Enzim miktarı boya giderme çalışmaları için: 0,41 mg/kumaş. Kumaş yaklaşık 2 cm² olacak şekilde kesildi.

Çizelge 8.8. Reaktif Blue 19 ve Asid Black 1 Boyalarının iki farklı immobilize enzim (A-PSU immobilize enzim ve AF-PSU immobilize enzim) ile farklı günlerde tekrar kullanılması ile % giderilmesi

Tekrar Kullanım Sayısı	Tekrarın Yapıldığı Gün	A-PSU immobilize HRP		AF-PSU immobilize HRP	
		Reaktif Blue 19 boyası	Asid Black 1 boyası	Reaktif Blue 19 boyası	Asid Black 1 boyası
		% Boya Giderme Değerleri			
1.	1.	84,33	86,09	85,85	87,04
2.	4.	63,66	78,66	73,58	79,39
3.	12.	62,21	70,15	52,05	66,97
4.	21.	27,48	28,88	27,21	28,44
5.	42	22,77	25	18,66	25,37
6.	49	20	21,54	17,48	19,38
7.	63	12,54	17,93	11,76	15,15



Şekil 8.12. A-PSU desteği üzerine immobilize enzimin tekrar kullanılması ile iki boyanın farklı günlerde giderilmesi (k: enzim polimer sisteminin tekrar kullanımı)



Şekil 8.13. AF-PSU desteği üzerine immobilize enzimin tekrar kullanılması ile iki boyanın farklı günlerde giderilmesi (k: enzim polimer sisteminin tekrar kullanımı)

8.3.5. İmmobilize Enzimin Farklı Koşullarda Aktivite Tayini

Horseradish Peroksidaz enzimi destek materyaline immobilize edildi. İmmobilizasyondan sonra 1 gece fosfat tamponunda bekletildikten sonra 2 kez bir saat ara ile fosfat tamponu ile yıkama yapılarak bağlanmayan enzim uzaklaştırıldı. $Stok_{enzim} : 0,0686 \text{ mg/mL}$ den $c_{enzim} : 0,01 \text{ mg/kumaş}$. Enzim miktarı aktivasyon çalışmaları için: $0,01 \text{ mg/kumaş}$ olacak şekilde stok çözeltiden alındı.

Yöntem

4850 μL Tampon çözelti

100 μL o-dianisidin

İmmobilize HRP ve 50 μL H_2O_2 ilavesinden sonra, 10. dakıda 460 nm' deki absorbans değeri UV-Vis. spektrofotometrede okunarak aktivite değerleri

$$U / \text{mg} = \frac{A_{460} \cdot 10^6}{M_{\epsilon} \cdot c_{\text{HRP}} \cdot t}$$

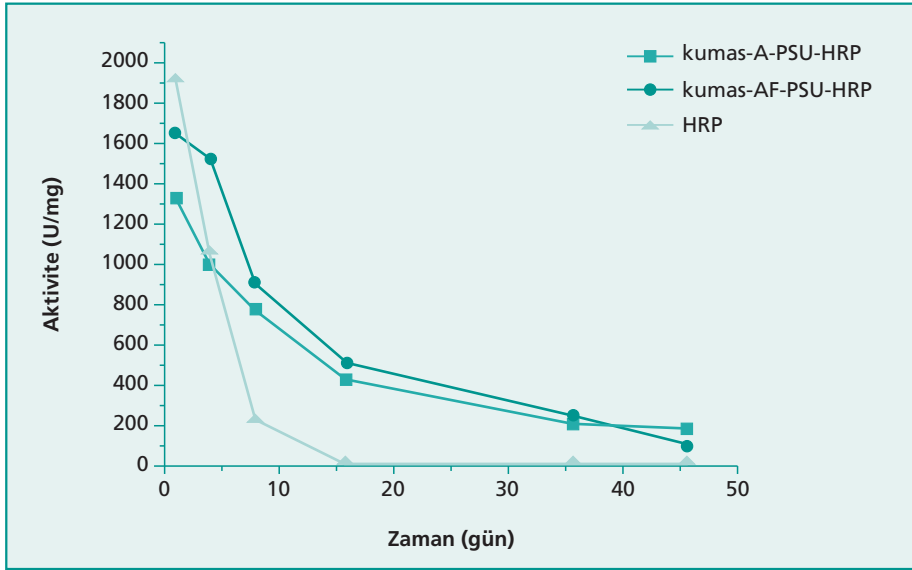
formülüne göre hesaplandı.

M_{ϵ} : o-dianisidinin molar absorpsiyon katsayısı ($11.300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

t: bekleme zamanı (dakika).

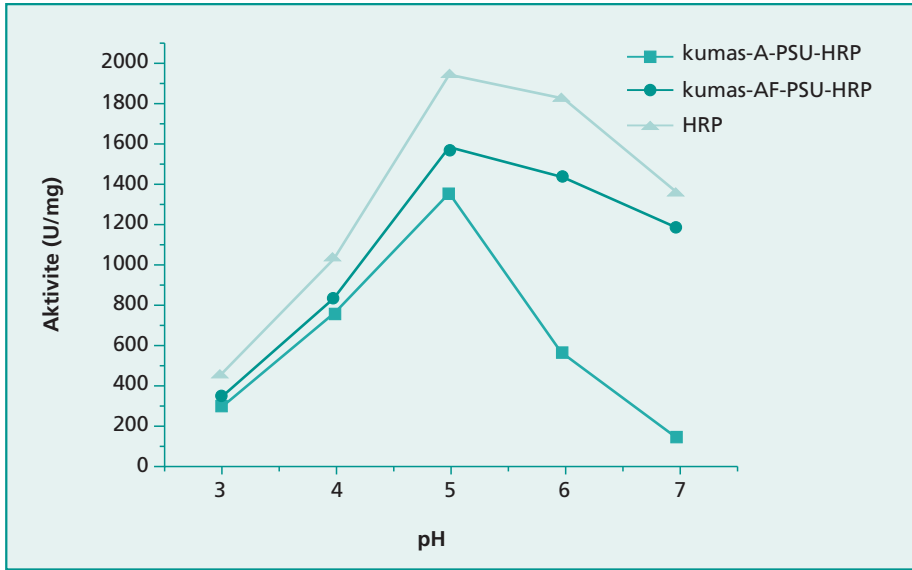
c_{HRP} : HRP konsantrasyon (mg mL^{-1}).

A_{460} : Başlangıç A_{460} - yıkama çözeltisinin A_{460}

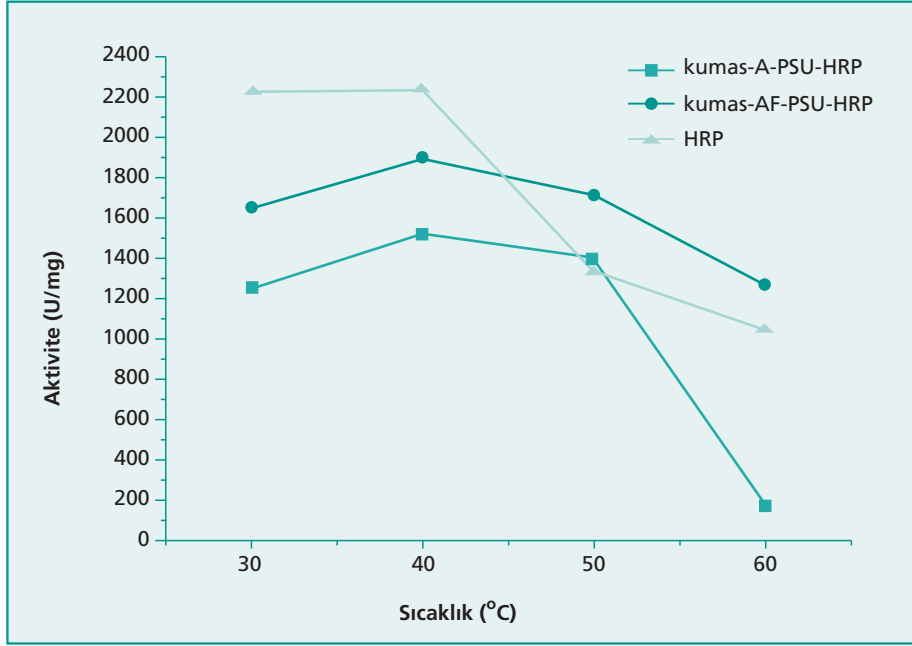


Şekil 8.14. HRP ve immobilize enzimlerin 4 °C farklı sürelerde bekledikten sonra pH:5.0 ve 25 °C' de hesaplanan aktivite grafikleri

Şekil 8.14' te görüldüğü gibi immobilize enzimler serbest enzime göre aktiviteyi daha uzun süre korumaktadırlar. Enzim destek materyaline immobilize edilerek enzimin raf ömrünün uzatıldığı Şekil 8.14' te görülmektedir.

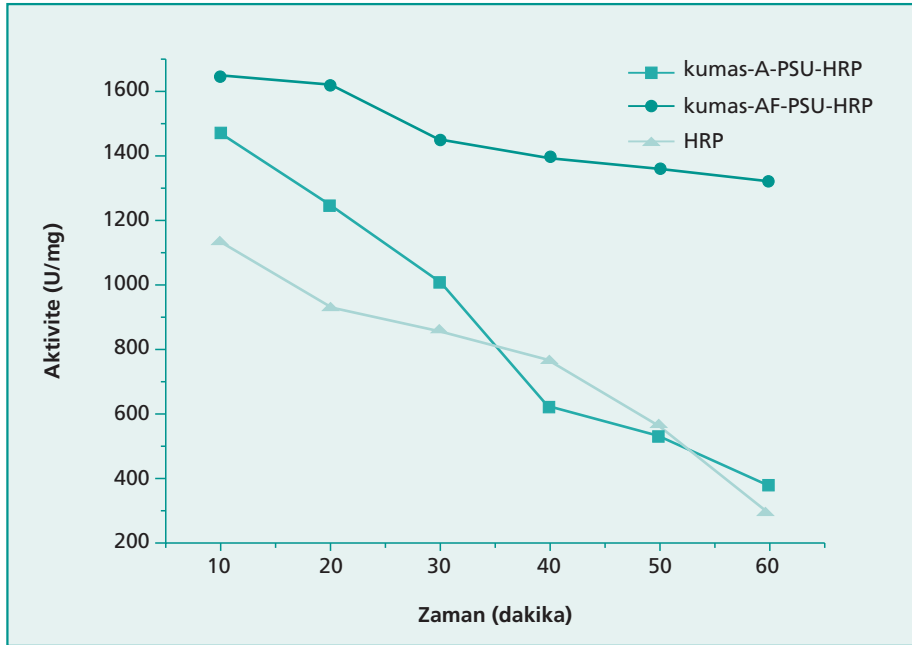


Şekil 8.15. HRP ve immobilize enzimlerin farklı pH ve 25 °C' de hesaplanan aktivite grafikleri



Şekil 8.16. HRP ve immobilize enzimlerin pH: 5.0' te farklı sıcaklıklarda hesaplanan aktivite grafikleri

Şekil 8.16' da görüldüğü gibi immobilize enzimler serbest enzime göre daha yüksek sıcaklıklara dayanabilmektedir. Ayrıca immobilize enzimin yüksek sıcaklığa direnç kazandığı Şekil 8.17' de görülmektedir.



Şekil 8.17. HRP ve immobilize enzimlerin pH: 5.0 ve 50 °C' de farklı bekleme sürelerinde hesaplanan aktivite grafikleri

Çizelge 8.9. Polimerlerin ve polimerler üzerine immobilize enzimlerin AFM görüntülerinden elde edilen ortalama yükseklik değerleri (Rp)

Örnekler	Ortalama Yükseklik (nm)
Bisfenol A Polisülfon	6,05
Metakrillenmiş Bisfenol A Polisülfon	11,68
Enzim bağlı Bisfenol A Polisülfon	72,52
Bisfenol AF Polisülfon	2,04
Metakrillenmiş Bifenol AF Polisülfon	43,14
Enzim bağlı Bisfenol AF Polisülfon	62,79

8.4. Trametes Versicolor Mikroorganizması ile Boyaların Giderilmesi

Boya giderme üzerine mikroorganizmaların doğrudan ya da mikroorganizmalardan saflaştırılan enzimleri kullanılması ekonomik ve çevreci olması nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Atık suların renksizleştirmesinde yaygın olarak beyaz çürükçül küfleri tercih edilmektedir. Bu çalışmada bir beyaz çürükçül küfü olan Trametes Versicolor ile sentetik olarak hazırlanan boya çözeltilerinin renksizleştirilmesi çalışmaları yapılmıştır.

Mikroorganizma ile yapılan boya giderme çalışmaları kısaca aşağıda özetlenmektedir;

8.4.1. Mikroorganizmanın Katı Besiyerine Ekimi (% 3' lük malt agar katı besi yeri)

3 g. Malt agar ve 2 g. agar agar 100 mL destile suda çözülerek otoklavda sterilizasyonu yapıldı. Petri kaplarına katılması için konuldu. Daha sonra petride Trametes Versicolor küfünün üretilmesi için 25 °C' de 15 gün inkübasyona bırakıldı (Şekil 8. 18).



Şekil 8.18. Katı besiyerinde Trametes Versicolor'ın üretilmesi

8.4.2. Mikroorganizmanın Sıvı Besiyerinde Üretimi

Sıvı besiyerinin içeriği 250 mL' de 6,25 g. malt ekstrakt, 0,5 g. KH_2PO_4 ve 0,1 g. K_2HPO_4 olacak şekilde hazırlanmıştır. Daha sonra pH' ı 5,5'e ayarlanarak 121°C'de 1,2 atm basınçta 15 dakika steril edildikten sonra kullanılmıştır [46].



Şekil 8.19. Sıvı besiyerinde üretilen misellerin üstten ve yandan görünüşü

8.4.3 Boya Giderme Besi Yerinin Hazırlanması

Boya giderme besiyerinin 50 mL' de 1,25 g. malt ekstrakt ve 0,05 g. glukoz olacak şekilde destile suda hazırlandıktan sonra pH' ı 3,6-3,7' ye ayarlandıktan sonra otoklavda sterilizasyonu yapıldı [46].



Şekil 8.20. Boya Çözeltilerine Sıvı Besiyerinin ilavesinden sonraki görünüşleri

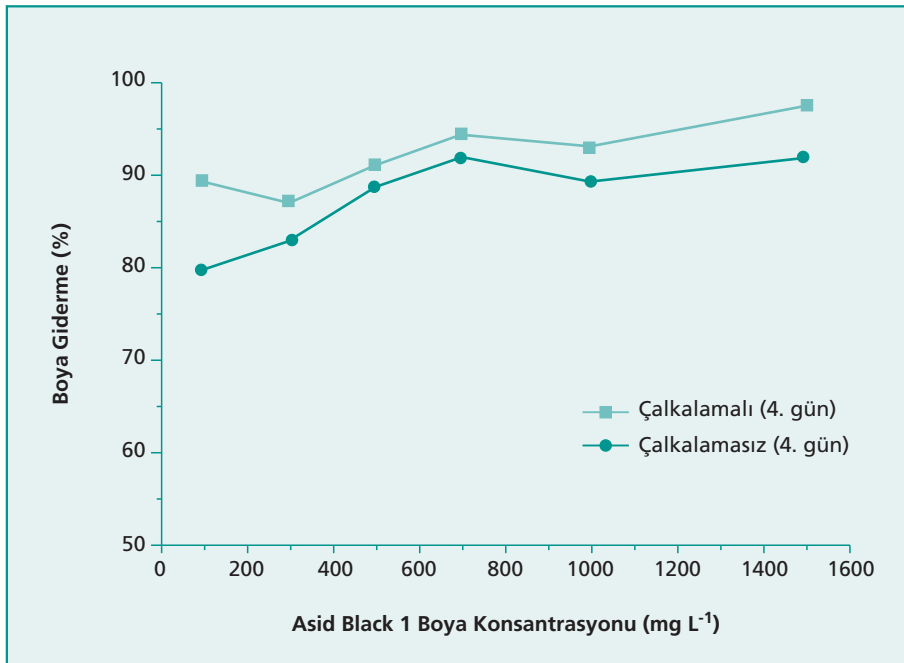
8.4.4. Trametes Versicolor ile Farklı Boya Sınıflarına Ait Boyaların Giderilmesi

8.4.4.1. Asid Black 1 (AB 1) Boyasının (Asidik Boya) Trametes Versicolor ile Giderilmesi

Asid Black 1 (AB 1) boyası için 6 farklı konsantrasyonda (100, 300, 500, 700, 1000, 1500 mg L⁻¹) mikroorganizma ile boya giderme çalışmaları yapıldı.

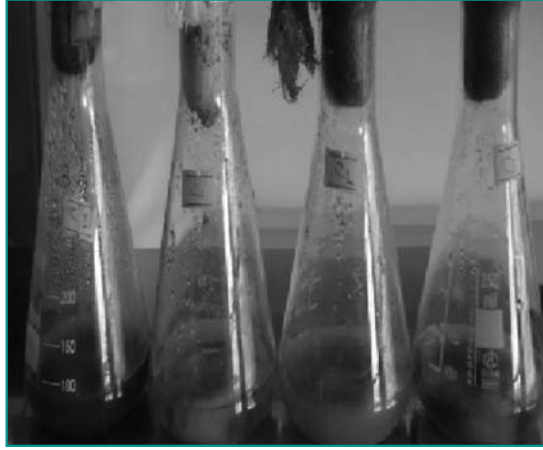
Çizelge 8.10. AB 1 boyasının boya giderme besiyerinde pH: 3,6' da 30 °C' de Trametes Versicolor ile giderilmesi

Asid Black 1 (AB 1) Boya Konsantrasyonu (mg/L)	AB 1 Boyasının % Giderme Değerleri	
	4. gün. (Çalkalamalı Koşullarda)	4. gün. (Çalkalamasız Koşullarda)
100	89,30	79,68
300	87,07	82,51
500	91,10	88,93
700	94,53	92,36
1000	93,13	89,37
1500	97,60	91,95

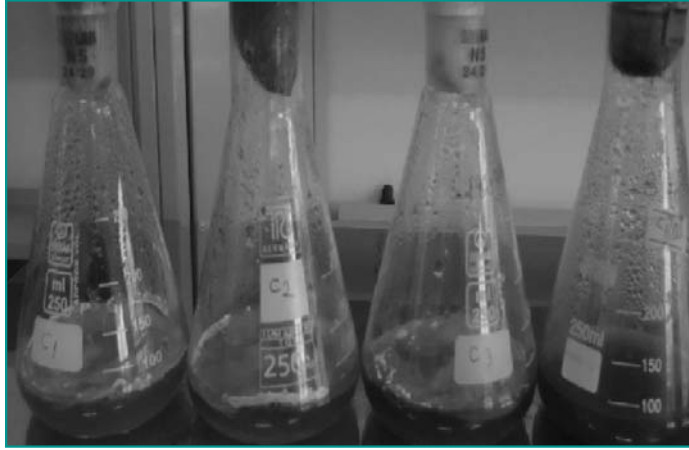


Şekil 8.21. Asid Black 1 boyasının farklı konsantrasyonlarında boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de % giderilmesi

Asid Black 1 boyasının giderilmesi çalkalamalı ve çalkalamasız olarak pH: 3.6 ve 30 °C' de sabit sıcaklığa getirilmiş su banyosunda gerçekleştirildi. Asid Black 1 boyası için, 4. günün sonunda en yüksek boya konsantrasyonunda (1500 mg L⁻¹) çalkalamalı ve çalkalamasız koşullarda sırası ile % 98 ve % 92 boya giderme değerleri elde edildi. Şekil 8.21' de çalkalamalı koşullarda elde edilen boya giderme değerlerinin çalkalamasız koşullarda elde edilen boya giderme değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmektedir.



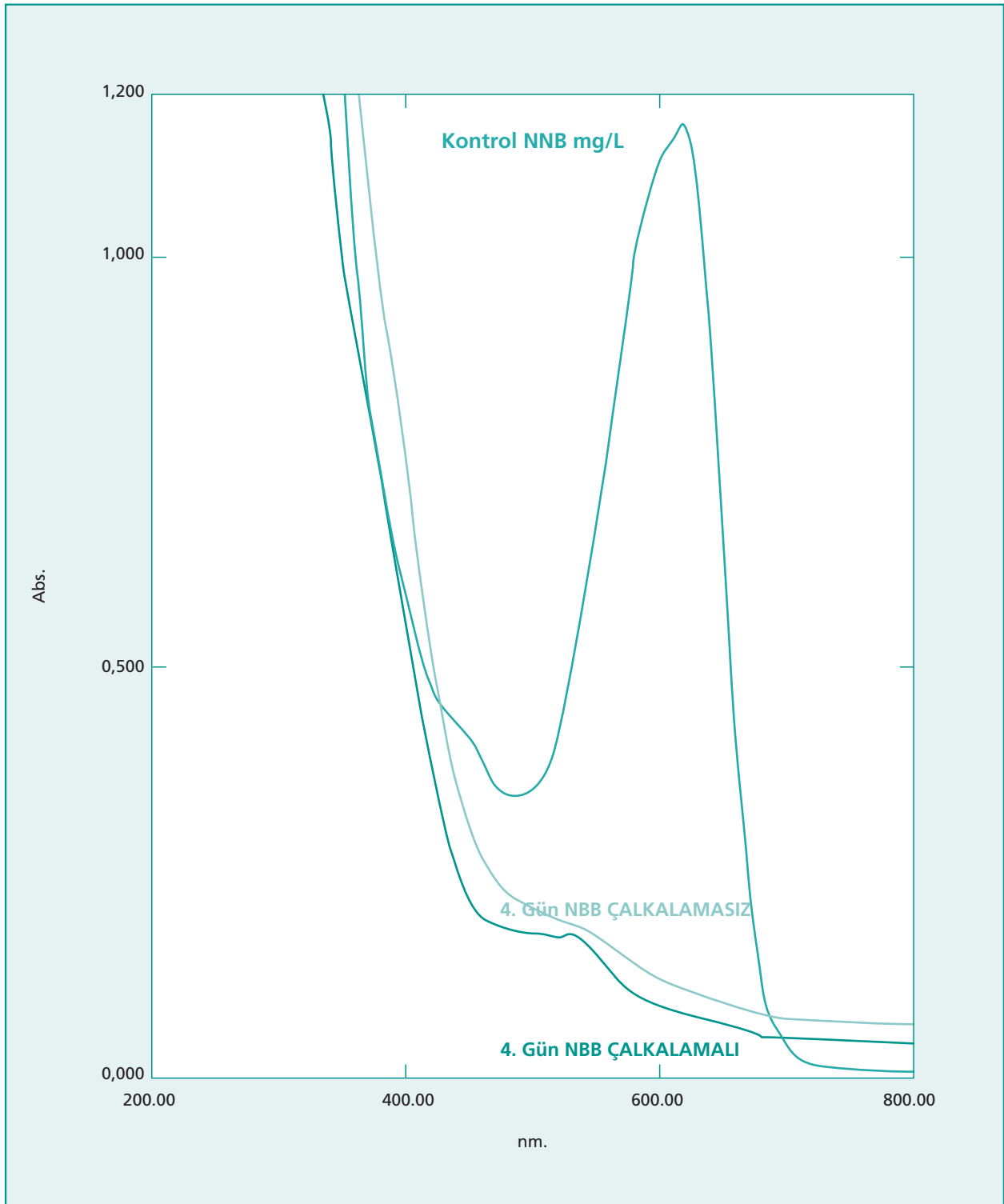
Şekil 8.22. Çalkalamalı su banyosunda 4. gün sonunda 3 farklı konsantrasyonda AB 1 boyasının giderilmesi (mavi renk-kontrol)



Şekil 8.23. Çalkalamasız su banyosunda 4. gün sonunda 3 farklı konsantrasyonda AB 1 boyasının giderilmesi (mavi renk-kontrol)



Şekil 8.24. Çalkalamasız su banyosunda 4. gün sonunda 3 farklı konsantrasyonda AB 1 boyasının giderilmesi (mavi renk-kontrol)



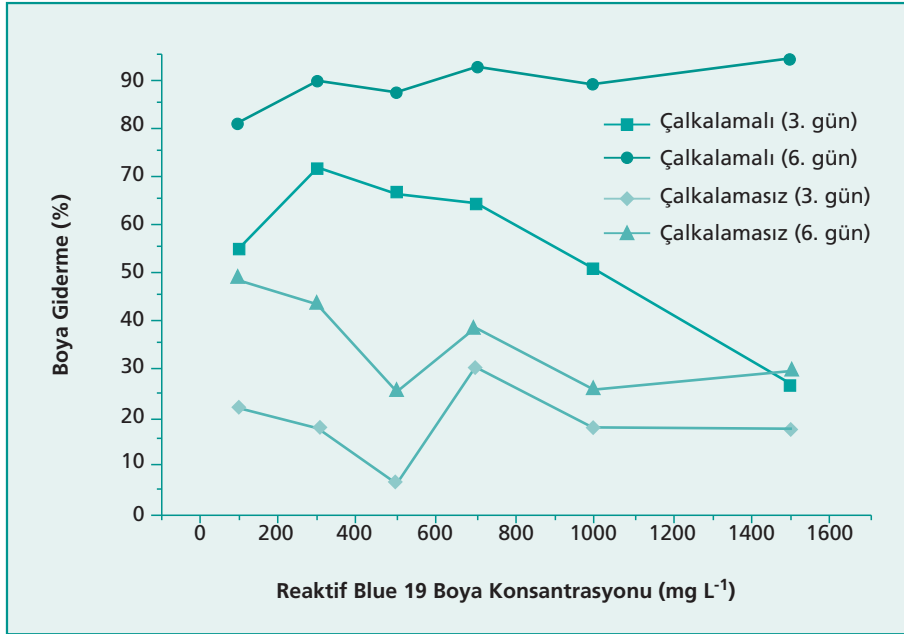
Şekil 8.25. Asid Black 1 (AB 1- NBB) boyasının (700 mg/L) Trametes Versicolor ile 4. gün sonunda çalkalamalı (% 93,5 boya giderme) ve çalkalamasız (% 91 boya giderme) koşullarda giderilmesinden sonra alınan UV-Vis. spektrumları.

8.4.5. Reaktif Blue 19 (RB 19) Boyasının (Reaktif Boya) Trametes Versicolor ile Giderilmesi

Reaktif Blue 19 (RB 19) boyasının da farklı konsantrasyonlarında (100, 300, 500, 700, 1000, 1500 mg L⁻¹) hazırlanan boya çözeltilerinin boya giderme besi yerinde renk giderme çalışmaları yapıldı.

Çizelge 8.11. Reaktif Blue 19 boyasının boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de giderilmesi

Reaktif Blue 19 Boyasının Konsantrasyon (mg/L)	RB 19 Boyasının % Giderme Değerleri			
	3. gün. (Çalkalamalı Koşullarda)	4. gün. (Çalkalamalı Koşullarda)	5. gün. (Çalkalamasız Koşullarda)	6. gün. (Çalkalamasız Koşullarda)
100	54,55	80,52	22,08	48,05
300	71,43	89,29	17,86	43,45
500	66,23	86,84	6,58	25,44
700	63,96	92,19	30,33	38,44
1000	50,55	88,79	18,02	25,71
1500	26,44	93,80	17,73	29,54



Şekil 8.26. RB 19 boyasının boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de %' de giderilmesi

Reaktif Blue 19 boyası için, en yüksek boya konsantrasyonunda (1500 mg L⁻¹) 3. günde çalkalamalı ve çalkalamasız koşullarda sırası ile % 26 ve % 18; 6. günün sonunda ise sırası ile % 94 ve % 30 boya giderme sonuçları elde edildi.

Ayrıca, Şekil 8.21 ve Şekil 8.26' daki boya giderme sonuçları karşılaştırıldığında Trametes Versicolor ile Asid Black 1 boyasının Reaktif Blue 19 boyasına göre daha kısa sürede daha yüksek boya giderme yüzdesi ile giderildiği sonucu çıkarılmaktadır.

8.4.6. Dianix (Dispers) Boyaların Trametes Versicolor ile Giderilmesi

8.4.6.1. Dianix Yellow CC (DYCC)

10 mg boya 100 mL destile su içinde beherde çözüldü ve 50 °C' ye ısıtıldıktan sonra boyanın su daha iyi dağılması için 0,025 (v/v) Tween 20 ilave edildi. Not: Dianix ön eki ticari olarak kullanılmakta olup dispers boyalar için kullanılmaktadır. 50 mL Besiyerine 10 mL DYCC (1 mg, 20 mg L⁻¹) ilave edildi. Boyanın maksimum dalga boyu olan 432 nm' de % boya giderme hesaplandı.

Çizelge 8.12. Dianix Yellow CC boyasının boya giderme besiyerinde Trametes Versicolor ile pH: 3,6' da 30 °C' de %' de giderilmesi

	Absorbans (432 nm)	% Giderme
Başlangıç	0,517	
4. gün.	0,177	65,76
10. gün	0,175	66,15

8.4.6.2. Dianix Reaktif Blue R (DRBR)

Sentetik Boya Çözeltilerinin Hazırlanışı: 10 mg Dianix Reaktif Blue R boyası 50 mL metanol içinde çözüldü. 4 mL stok + 46 mL destile su + 50 µL Tween 20 (0,8 mg boya). 8 mL stok + 42 mL d.su + 50 µL Tween 20 (1,6 mg boya)

8.4.6.3. Dianix Navy CC (DNCC)

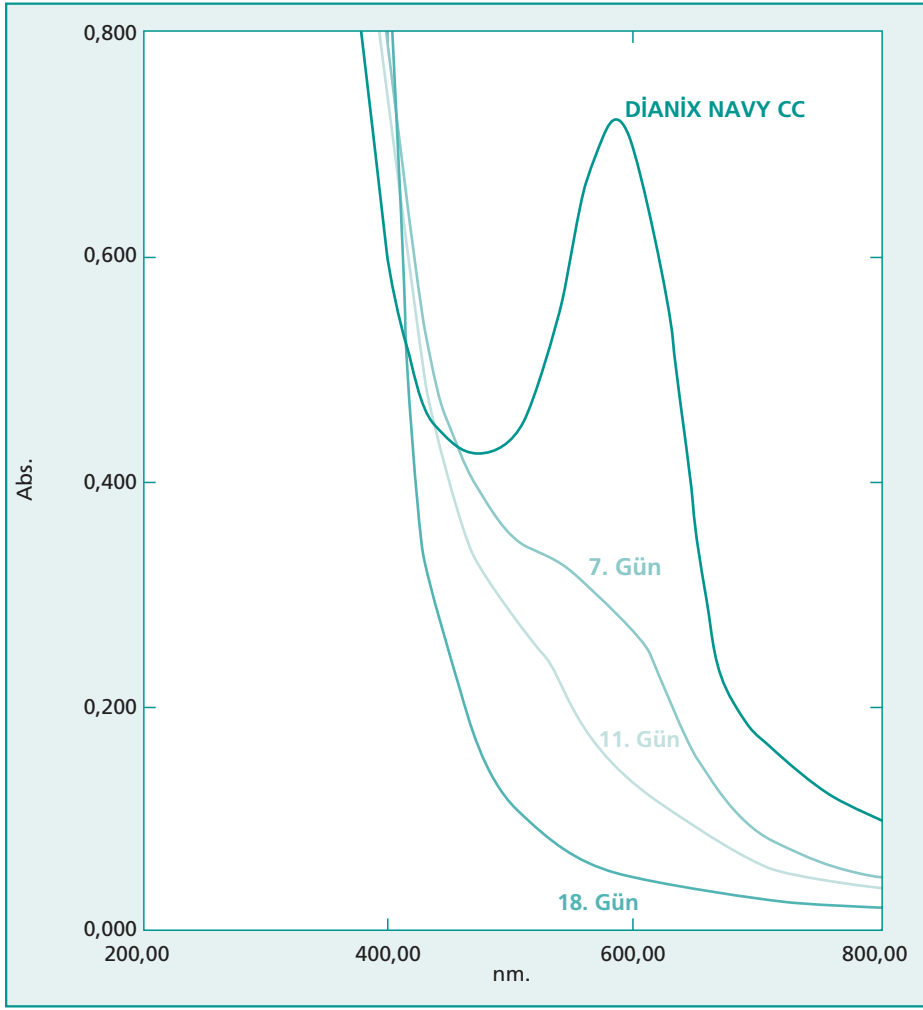
10 mg Dianix Navy CC (DNCC) boyası 50 mL metanol içinde çözüldü. Stok A₅₈₄ nm: 1,538. 15 mL stok boya + 35 mL d.su + 50 µL Tween 20. (3 mg boya). 30 mL stok boya + 20 mL d.su + 50 µL Tween 20 (6 mg boya).

Çizelge 8.13. Dianix Reaktif Blue R (DRBR) ve Dianix Navy CC (DNCC) boylarının iki farklı konsantrasyonlarda (DRBR 1: 16 mg L⁻¹, DRBR 2: 32 mg L⁻¹, DNCC 1: 60 mg L⁻¹, DNCC 2: 120 mg L⁻¹) Trametes versicolor ile giderilmesinde elde edilen Absorbans değerleri

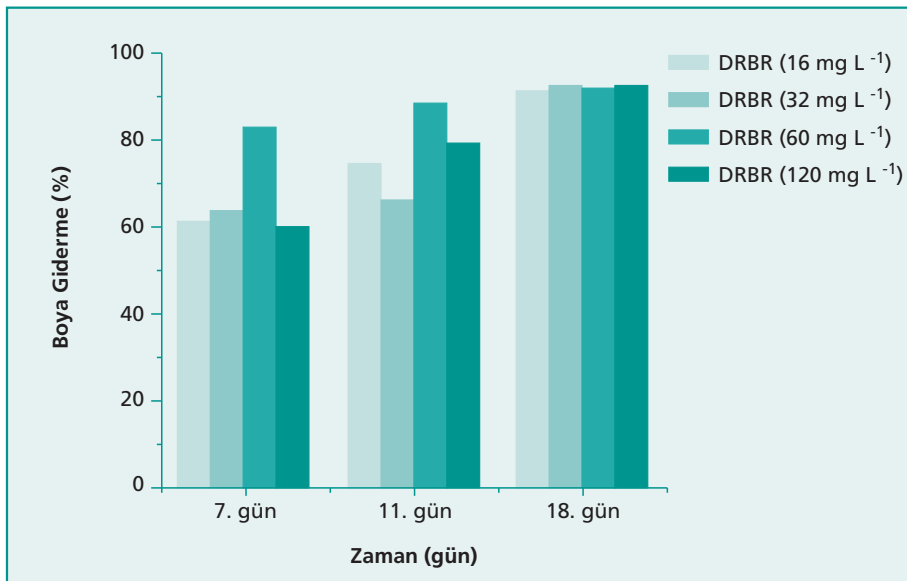
Süre	DRBR 1	DRBR 2	DNCC 1	DNCC 2
	A _{max} (618 nm)	A _{max} (618 nm)	A _{max} (582 nm)	A _{max} (582 nm)
Başlangıç	0,536	0,636	0,441	0,719
7. gün	0,205	0,227	0,073	0,283
11. gün	0,135	0,215	0,049	0,145
18. gün	0,044	0,044	0,035	0,049

Çizelge 8.14. Dianix Reaktif Blue R ve Dianix Navy CC boylarının farklı iki konsantrasyonda (DRBR 1: 16 mg L⁻¹, DRBR 2: 32 mg L⁻¹, DNCC 1: 60 mg L⁻¹, DNCC 2: 120 mg L⁻¹) Trametes versicolor ile % giderilmesi

Süre	% Boya Giderme			
	DRBR 1	DRBR 2	DNCC 1	DNCC 2
7. gün	61,75	64,31	83,45	60,64
11. gün	74,81	66,19	88,89	79,83
18. gün	91,79	93,08	92,06	93,18



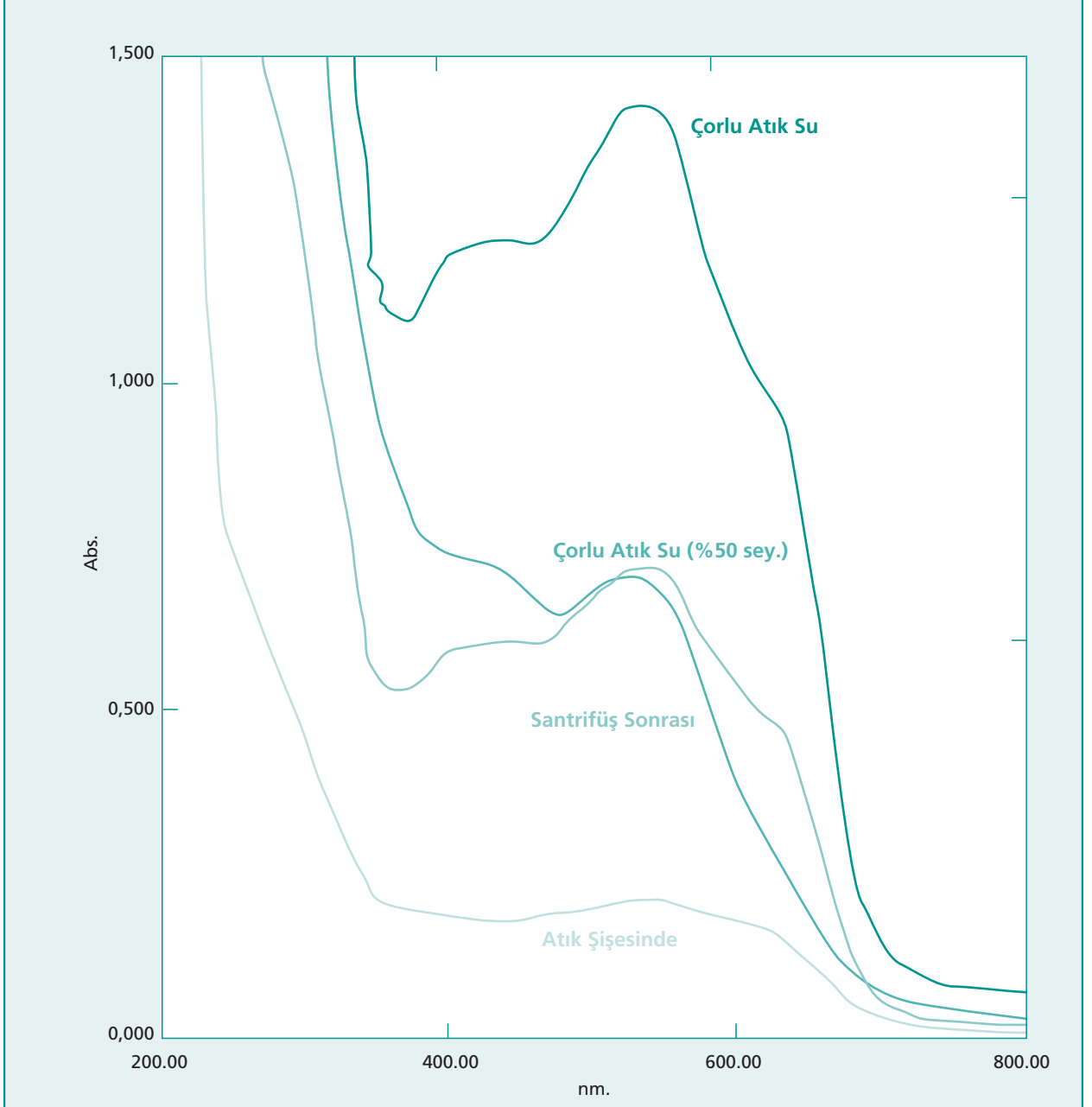
Şekil 8.27. UV-Vis. Spektrofotometre ile Dianix Navy CC boyasının *Trametes Versicolor* ile farklı sürelerde renk gideriminin incelenmesi



Şekil 8.28. Dianix Reaktif Blue R (DRBR) ve Dianix Navy CC (DNCC) boyaalarının iki farklı konsantrasyonda *Trametes versicolor* ile % giderilmesi

8.4.7. Gerçek Tekstil Boya Atık Suyunun Trametes Versicolor ile Giderilmesi

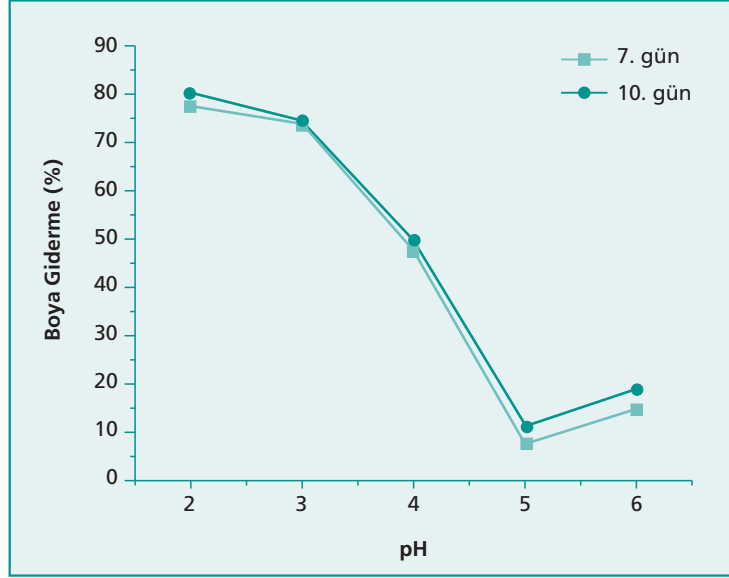
Atık su soğuk odada (+4 °C' de) bekletilmiştir. Atık suyun maksimum dalga boyunun 522 nm olduğu UV-Vis. spektrofotometre kullanılarak belirlendi.



Şekil 8.29. Bir tekstil fabrikasından alınan atık suyun UV-vis. Spektrofotometrede incelenmesi sonucu elde edilen spektrumlar

Çizelge 8.15. Bir tekstil fabrikasından alınan atık suyun farklı pH' larda çalkalamalı su banyosunda 30 °C' de boya giderme besiyerinde *Trametes Versicolor* ile % giderilmesi

Zaman (gün)	% Boya Giderme				
	pH:2.0	pH:3.0	pH:4.0	pH:5.0	pH:6.0
7. gün	77,59	73,85	47,86	7,47	14,59
10. gün	80,00	74,20	49,64	11,03	18,86

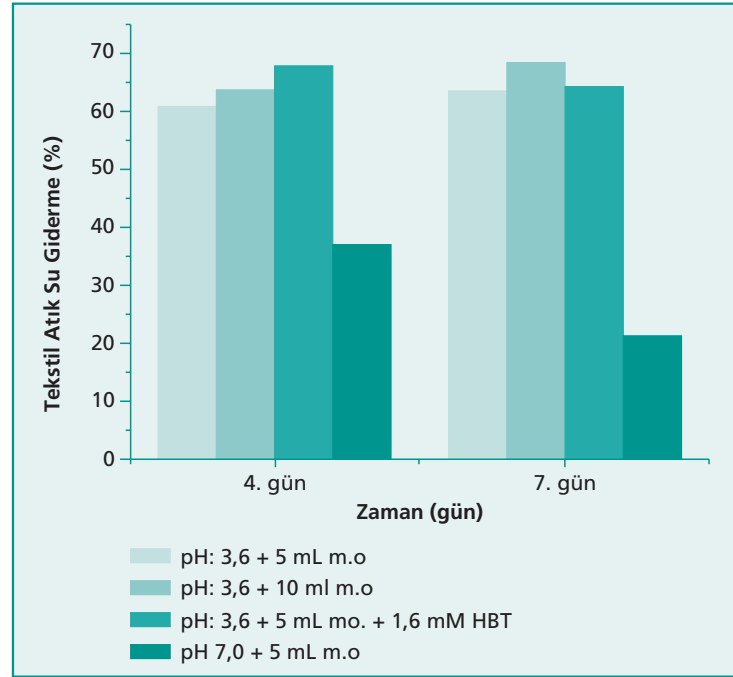


Şekil 8.30. Tekstil fabrikası atık suyunun farklı pH' larda *Trametes versicolor* mikroorganizması ile %' de giderilmesi

Şekil 8.30' da görüldüğü üzere *Trametes Versicolor* yüksek asidik pH' larda daha yüksek bir yüzde ile tekstil atık suyunu giderebilmektedir.

Çizelge 8.16. pH 3,6' da farklı mikroorganizma hacimlerinde ve HBT'li ve HBT'siz koşullarda çalkamalı olarak 30 °C' de 50 mL atık suyun giderilmesi

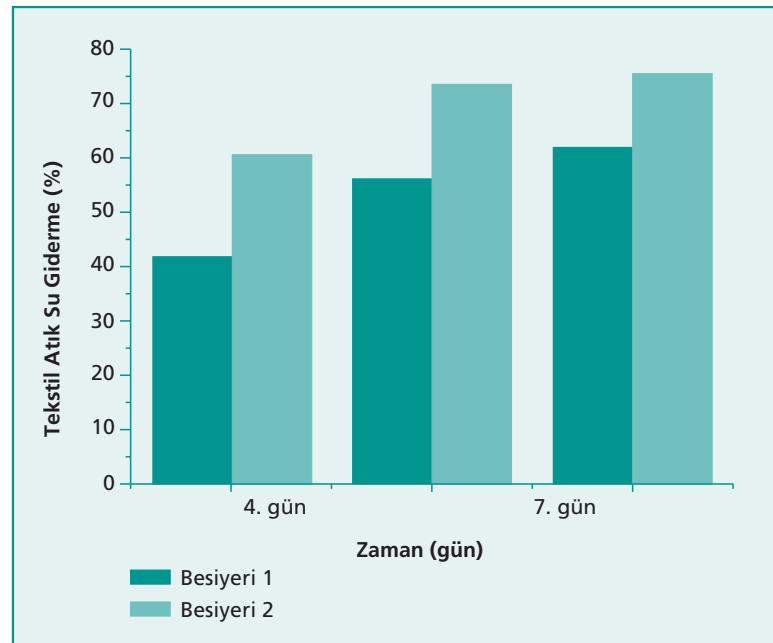
Koşullar	% Boya Giderme	
	4. Gün	7. Gün
5 mL Sıvı Besiyeri (<i>Trametes Versicolor</i>) (pH: 3,6)	60,48	63,21
10 mL Sıvı Besiyeri (<i>Trametes Versicolor</i>) (pH: 3,6)	63,29	68,24
5 mL (<i>Trametes Versicolor</i>) + 1,6 mM Redoks Mediatörü (HBT) pH: 3,6	67,79	64,70
5 mL Sıvı Besiyeri (<i>Trametes Versicolor</i>) pH: 7,0	36,84	21,02



Şekil 8.31. Farklı koşullarda çalkalamalı olarak 30 °C' de 50 mL atık suyun % giderilmesi

Çizelge 8.17. 250 mL atık suyun farklı besi yeri konsantrasyonlarında 1,6 mM HBT' li ortamda pH: 3,6' da 30 °C' de 10 mL sıvı besiyeri (m.o) ile giderilmesi (Otoklavlanmadı)

Besin Yeri	% Boya Giderme (522 nm'de)		
	3. Gün	7. Gün	10. Gün
1,25 g Malt, 0,05 g glukoz (Besiyeri 1)	41,65	55,85	61,61
6,25 g Malt, 0,25 g glukoz (Besiyeri 2)	60,85	73,54	75,49



Şekil 8.32. 250 mL atık suyun farklı besi yeri konsantrasyonlarında 1,6 mM HBT' li ortamda pH: 3,6' da 30 °C' de 10 mL m.o sıvısı ile giderilmesi (Besiyeri 1: 1,25 g Malt, 0,05 g glukoz; Besiyeri 2: 6,25 g Malt, 0,25 g Glukoz)

Dianix terimi dispers boyaların ticari olarak isimlendirilmesinde ön ek olarak kullanılmaktadır. Dispers boyalar tekstil endüstrisinde poliester fiberlerin boyanması için yaygın olarak kullanılan tek boya sınıfıdır. Dispers boyaların suda çözünürlükleri düşük olduğundan suda dispersiyon halinde bulunurlar. Dispers boyaların boya giderilmesinin incelenmesinde dispers boya çözeltilerinin hazırlanmasında belirli kurallara dikkat edilmiştir. Dispers boyaların parçalanmasının belirlenmesinde sulu ortamda düşük çözünürlükleri nedeniyle bazı zorluklar vardır. Rengin giderilmesinin incelenmesi sırasında boyanın iyi çözünmesi için eşit hacimde metanol eklenmiştir [47], [48]. Ayrıca, dispers boya çözeltilerinin hazırlanmasında boyanın suda daha iyi dağılması için 0,025 (v/v) Tween 20 kullanılarak dispers boya çözeltileri hazırlanmıştır [49].

Dispers boyaların giderilmesi çalışmaları pH: 3.6 ve 30 °C' de 5 mL Trametes Versicolor sıvı besiyerinin 50 mL boya giderme besiyerine ilave edilmesi ile gerçekleştirildi. Çalkalamalı koşullarda RB 19 ve AB 1 boyalarının boya giderme değerlerinin çalkalamasız koşullara göre daha yüksek olduğundan dispers ve tekstil atık sularının giderilmesi sadece çalkalamalı koşullarda yapıldı.

Dianix Yellow CC boyası (20 mg L⁻¹) 4. ve 10. günlerde sırası ile % 66 ve % 66 giderilmiştir (Çizelge 8.12).

Dianix Reaktif Blue R boyası iki farklı konsantrasyonda (16 mg L⁻¹ ve 32 mg L⁻¹) bir hafta sonunda konsantrasyona göre sırası ile % 62 ve % 64 oranında giderilmiştir (Çizelge 8.14).

Dianix Navy CC boyası iki farklı konsantrasyonda (60 mg L⁻¹ ve 120 mg L⁻¹) bir hafta sonunda % 83 ve % 61 oranında giderilmiştir (Çizelge 8.14).

Tekstil atık suyunda ise bir çok farklı koşulun (pH, süre, redoks mediatörü etkisi, mikroorganizma miktarı, boya giderme besi yeri konsantrasyonu) boya gidermeye olan etkisi incelendi.

7 günün sonunda pH: 2.0' da % 78 ve pH: 3.0' te ise % 74 boya giderme değerleri elde edildi (Çizelge 8.15).

pH: 3.0' te bir redoks mediatörü olan 1-Hidroksibenzotriazolün (HBT) boya gidermeye etkisi incelendi. 4.14 mM HBT boya giderme besi yerine ilave edildiğinde 7 günün sonunda % 66 boya giderme sonucu elde edildi. 4.14 mM HBT ilavesi ile boya giderme yüzdesinde % 8 bir azalma görüldü (Çizelge 8.16).

İki farklı hacimde sıvı besi yerinden (5 mL ve 10 mL) alınarak mikroorganizma miktarının boya gidermeye olan etkisi incelendi. pH: 3.6' da 5 mL ve 10 mL mikroorganizma sıvı besiyerinden alınarak boya giderme besiyerine ilave edildikten 7 gün sonra sırası ile % 63 ve % 68 tekstil boyasının giderildiği görüldü (Çizelge 8.16).

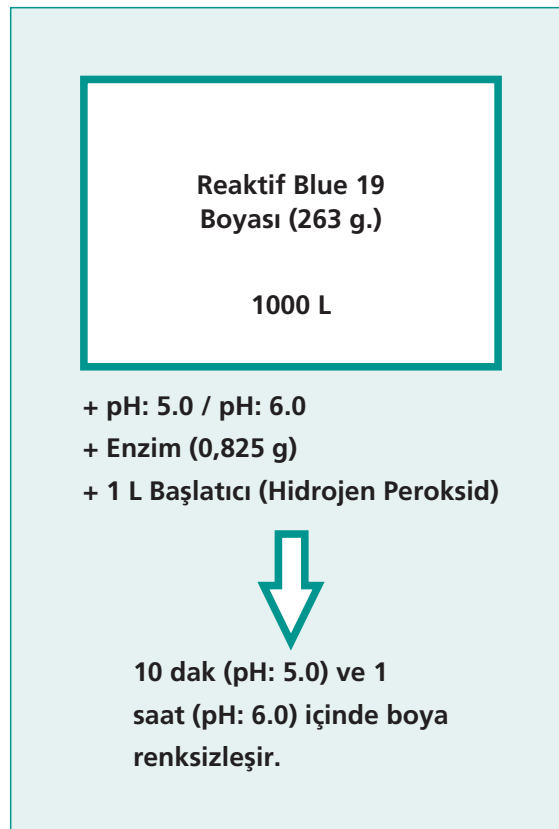
İki farklı boya giderme besiyerinde (Besiyeri 1: 1,25 g Malt, 0,05 g glukoz ve Besiyeri 2: 6,25 g Malt, 0,25 g glukoz) yapılan tekstil boyasının giderilmesinde ise sırası ile 7 günün sonunda % 56 ve % 74 değerlerine ulaşılmıştır. Boya giderme besi yerindeki maddelerin konsantrasyonu 5 kat arttırıldığında boya giderme değerlerinde de belirgin bir artış gözlenmiştir (Çizelge 8.17).

BÖLÜM 9

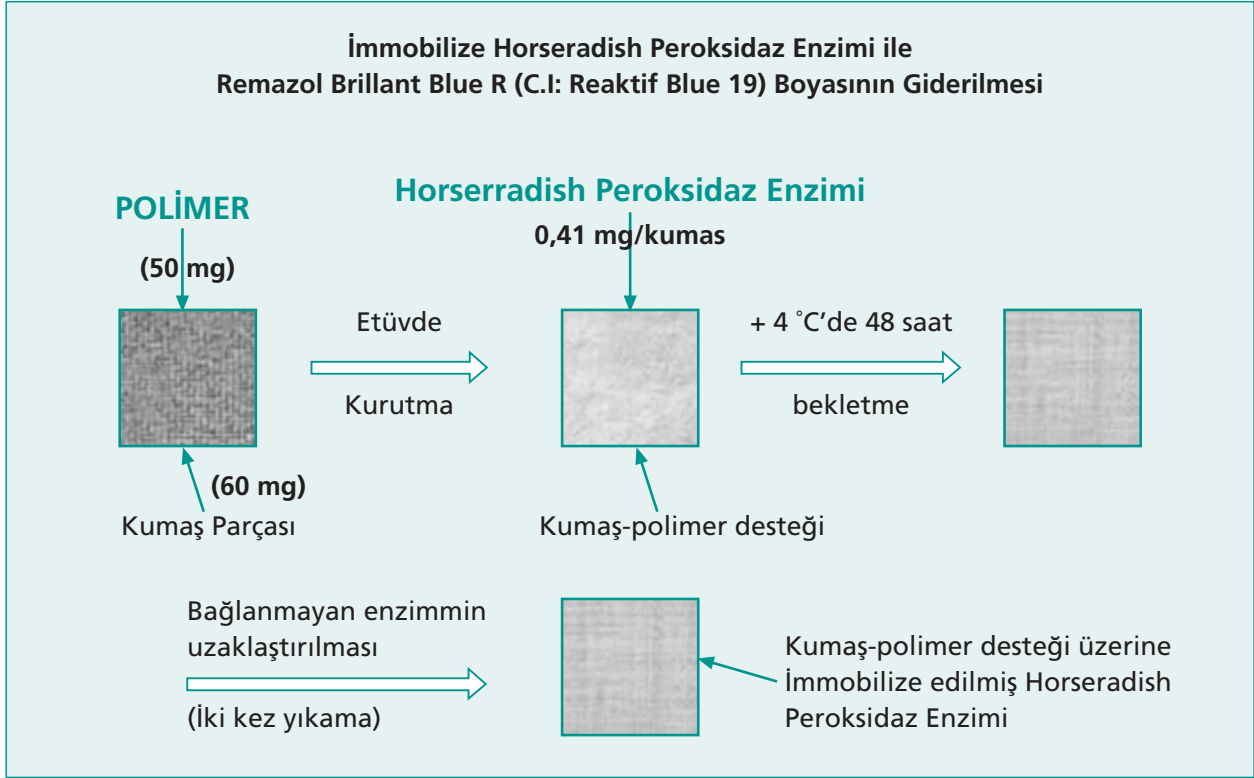
GENEL SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Boya Giderme

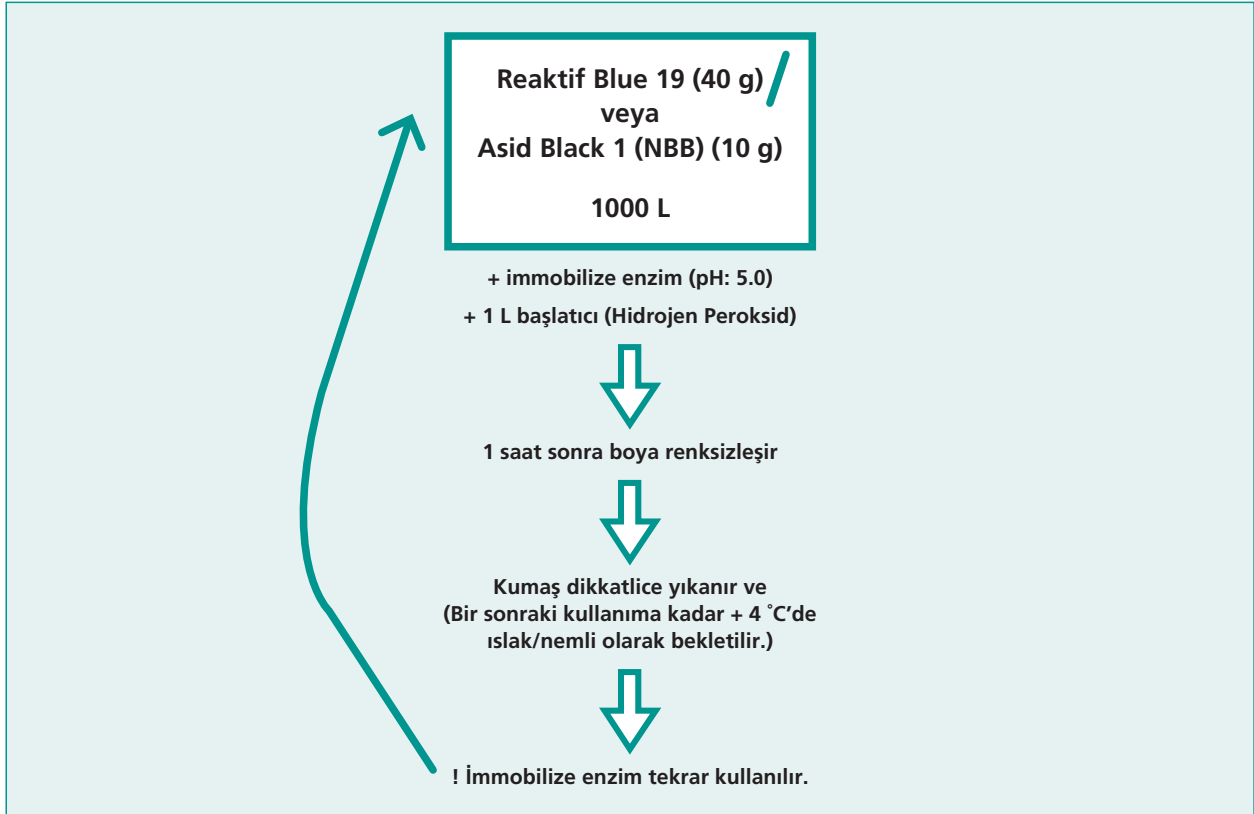
- Boya gidermeye üre varlığının etkisi incelendi. 0,05 M - 1,5 M arasında üre konsantrasyonu boya giderimini olumsuz etkilememektedir.
- Ortamda tuz varlığında boya giderimini olumsuz etkilememektedir.
- Horseradish Peroksidaz Enzimi pH: 5 ve pH: 6' da reaktif boya (Reaktif Blue 19) ve asid boya (Asid Black 1) boya yüksek renk giderme yüzdesi ile kısa süre içinde renksizleştirmektedir.
- Horseradish Peroksidaz enzimi bazı boya renklerinin renksizleştirilmesinde çok az etki göstermektedirler.
- Buna karşın Horseradish Peroksidaz enzimi ile dispers boya renklerinin giderilmesinde ve fabrikadan alınan atık suların giderilmesinde olumlu sonuç alınamamıştır. Atık sudaki kimyasalların enzimin çalışmasını olumsuz etkilediği düşünülmektedir



Şekil 9.1. Reaktif Blue 19 boyasının Horseradish Peroksidaz enzimi ile boya giderme işlemi



Şekil 9.2. Horseradish Peroksidaz Enziminin modifiye (aktifleştirilmiş) polisülfon polimerine immobilizasyonu



Şekil 9.3. İmmobilize Horseradish Peroksidaz enzimi ile Reaktif Blue 19 ve Asid Black 1 boyaalarının giderilme işlemi

- Polisülfon polimeri sıcaklığa olan direnci ve film oluşturma özelliği nedeniyle boya çözeltilisine uygulandıktan sonra ortamdaki ayrılmasının kolay olması amacıyla immobilizasyon materyali olarak tercih edildi.
- İmmobilize enzim Asid Black 1 ve Reaktif Blue 19 boya giderilmesinde 7 kez kullanılabilir. İlk 3 kez kullanımda boya giderme değerleri yüksek iken daha sonraki tekrar kullanımlarda boya giderme değerleri düşmektedir.
- İmmobilize enzimin +4°C' de daha uzun süre aktivitesini koruduğu görülmektedir. Dolayısıyla, immobilize enzim tekrar kullanılmak üzere çok daha uzun süre saklanabilir.
- İmmobilize enzimin serbest enzime göre sıcaklığa daha dayanıklı olduğu belirlendi.
- İmmobilize enzim gerçek tekstil atık suyu ve diğer boya türlerinde (dispers, bazik, solvent) etkili olmadı.

Trametes Versicolor ile Boya Giderme

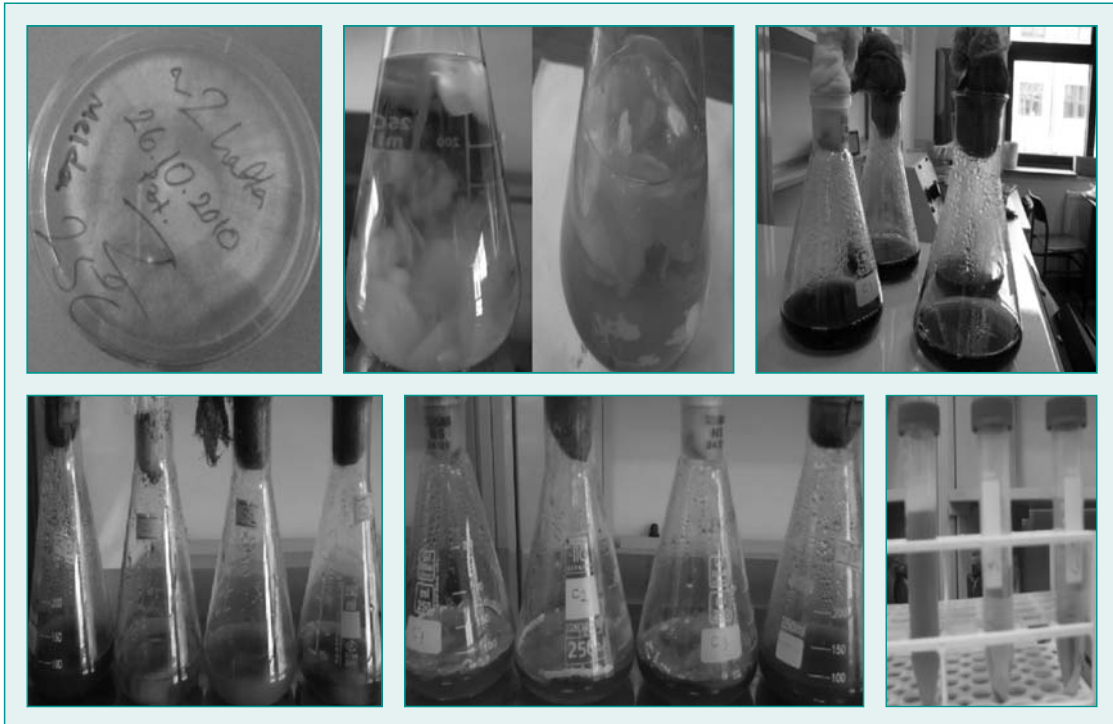
Avantajları;

Bütün boya türlerinde (asidik, bazik, reaktif, dispers ve gerçek tekstil atık suyu) etkili

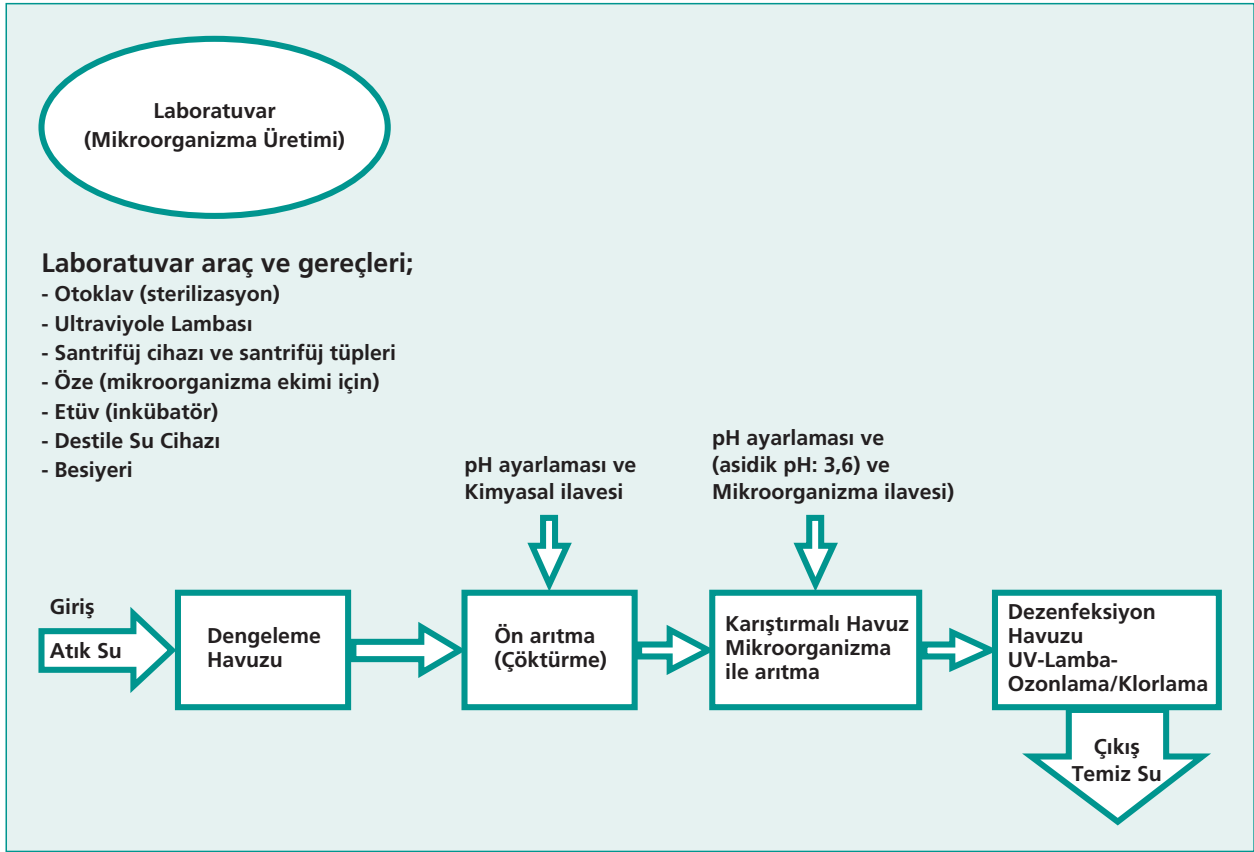
Dez avantajları

pH ayarı, boya giderimi öncesinde atık suyun pH sınır asidik pH' a (pH: 3,6) ayarlanması gerekliliği, Boya giderme süresi uzun (7 gün.)

Mikroorganizma ile çalışmak deneyim ve bilgi birikimi istemektedir. Mikroorganizmanın üretilme koşullarının steril olması gerekir. Gerekli laboratuvar koşullarının sağlanması gerekmektedir.



Şekil 9.4. Trametes Versicolor ile boya giderme işleminin aşamaları



Şekil 9.5. Trametes Versicolor ile renk giderimi işlemi için ön görülen sistem

Boya giderme üzerine mikroorganizmaların doğrudan ya da mikroorganizmalardan saflaştırılan enzimlerin kullanılması ekonomik ve çevreci olması nedeniyle araştırmacıların dikkatini çekmektedir. Araştırmacılar, atık sulardaki boyaların giderilmesinde yaygın olarak beyaz çürükçül mantarlar tercih etmektedirler.

Endüstride atık sular için kullanılan geleneksel fiziksel ve kimyasal arıtma yöntemlerinin yüksek maliyetli olması ve her boya için kullanılamıyor olması, uygulanmalarının sınırlı kalması yeni yöntemlerin araştırılmasını ve kullanılma sunulmasını gerekli kılmaktadır. Ortamda ilave atık oluşturmadan çok hızlı ve güvenilir olarak arıtmanın enzimler, immobilize enzimler ve mikroorganizma yani biyobozunma ile gerçekleştirilmesi bu çalışmayı diğer kullanılan geleneksel yöntemlerden farklı ve önemli kılmaktadır. Özellikle immobilizasyon işlemi ile enzimlerin veya mikroorganizmaların defalarca kullanılması sağlanacağından, önerilen biyobozunma yöntemlerinin diğer yöntemlere kıyasla çok daha ekonomik olması beklenmektedir.

DENEY ÇALIŞMALARIN ÖZETİ VE SONUÇLARIN DEĞERLENDİRİLMESİ

1. Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesi

- Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesine pH Etkisi**
 - Reaktif Blue 19 boyasının Horseradish Peroksidaz enzimi ile giderilmesi çalışmalarında farklı pH' lar (pH: 3.0, pH: 4.0, pH: 5.0, pH: 6.0, pH: 7.0 ve pH: 8.0) için 30 °C'de 60 dakika boyunca UV-Vis. Spektrofotometrede boya giderme giderme değerleri incelenmiştir. Bunun sonucunda pH: 5.0' te en yüksek boya giderme değerlerine ulaşılmıştır.
 - 30 °C ve pH: 5.0'te 3.3 µg/mL konsantrasyondaki Horseradish Peroksidaz enzimi 110 mg/L konsantrasyondaki Reaktif Blue 19 boyasını 3 mM Hidrojen Peroksit başlatıcısı ile reaksiyon başlatıldıktan 5 dakika sonra % 91 ve 60 dakika sonra % 97 giderirken, pH: 6.0'da aynı şartlarda 60 dakika sonunda % 96 gidermektedir. 60 dakika sonunda pH: 5 (% 97) ve pH: 6.0'da (% 96) yaklaşık aynı boya giderme yüzdesine ulaşılmıştır. pH: 5.0'te yüksek boya giderme değerlerine Ph: 6.0'da olduğundan (60 dakika) çok daha kısa sürelerde ulaşılmaktadır.
 - pH: 3.0 ve pH: 8.0'de boya giderme değerlerinin 60. dakika sonunda sırası ile % 2.0 ve % 4.0 olması dikkat çekmektedir. pH: 3.0 ve pH: 8.0'de elde edilen çok düşük boya giderme değerleri Horseradish Peroksidaz enziminin bu pH'larda aktivite göstermediğinden kaynaklanmaktadır.
- Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesine Enzim Konsantrasyonun Etkisi**
 - Boyaların giderilmesinde HRP enzimin maliyeti enzimatik proseslerin kullanımında kısıtlayıcı olabilmektedir. Bu nedenle, en yüksek boya giderme değerine en düşük enzim konsantrasyonunda ulaşmak gerekmektedir. Optimum enzim konsantrasyonun belirlenmesi bu nedenle önemlidir.
 - Enzim konsantrasyonunun artması ile boya giderme yüzdeleri artmaktadır. İlk 10 dakika içerisinde özellikle düşük enzim konsantrasyonlarında enzim konsantrasyonunun artması ile boya giderme değerleri artmıştır. Bu deney sonuçlarından faydalanarak uygulamalar için 20. dakikada % 90'ın üzerinde boya giderme değerine ulaşması nedeniyle 0,825 µg/mL enzim konsantrasyonun kullanılmasının uygun olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, Ulson de Souza ve arkadaşları yüksek enzim konsantrasyonlarının boya giderme çalışmaları için boya giderme değerlerine olumlu etki etmediğini belirtmişlerdir [50].
 - Reaktif Blue 19 boyasının farklı koşullarda giderilmesinde enzim konsantrasyonunu sabit tuttuğumuz çalışmalarda boya gidermenin daha kısa sürede gerçekleşmesi amacıyla 3.3 µg/mL enzim konsantrasyonunda 5. dakikada % 90'ın üzerinde boya giderme değeri elde edildiğinden 3.3 µg/mL enzim konsantrasyonu kullanılmıştır.
- Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesine Boya Konsantrasyonun Etkisi**
 - RB 19 boyasının farklı konsantrasyonlarında (28, 55, 110, 166, 263 mg/L) giderilmesi 3.3 µg/mL enzim, 3.0 mM H₂O₂ (hidrojen peroksit) konsantrasyonunda, pH: 5.0 ve 30 °C'de gerçekleştirildi. Boyanın enzim ile etkileşme süresi uzadıkça boya giderme değerlerinin arttığı ve birbirine yaklaştığı görülmektedir. Boya konsantrasyonu artmasına rağmen boya giderme etkisi devam etmektedir. pH: 5.0 ve 30 °C' de 10 dakika gibi kısa bir sürede 28-263 mg L⁻¹ Reaktif Blue 19 boya konsantrasyonları aralığında % 94 boya giderme yüzdesine ulaşılmıştır. Horseradish Peroksidaz enzimi yüksek Reaktif Blue 19 boya konsantrasyonlarında da etkili bir boya giderme sağlamaktadır.

- **Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesine Sıcaklığın Etkisi**
- pH: 5.0 ve farklı sıcaklıklarda 60 dakika boyunca RB 19 boyası giderilmesi incelendi. Boya giderme yüzdeleri 25-50 °C arasındaki sıcaklıklarda birbirine yakın boya giderme değerleri vermektedir. Çalışılan bütün sıcaklıklar için elde edilen boya giderme değerleri birbirine yakın olmakla birlikte en yüksek boya giderme değerine 35 °C'de ulaşılmıştır.
- **Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesine Başlatıcı (Hidrojen Peroksit) Konsantrasyonunun Etkisi**
- pH: 5.0 ve 30 °C' de 110 mg/L konsantrasyondaki Reaktif Blue 19 boyasına 3.3 µg/mL enzim ilave edildikten sonra reaksiyonun başlatılması için ilave edilen H₂O₂' in farklı konsantrasyonlarının (0,5 mM, 1.0 mM, 1,5 mM, 3.0 mM ve 6.0 mM) boya gidermeye olan etkisi incelendi. 0,5 mM Hidrojen Peroksit başlatıcısının enzimin çalışması için yeterli olduğu sonucuna varılmıştır.
- **Horseradish Peroksidaz Enzimi ile Reaktif Blue 19 Boyasının Giderilmesine Üre ve Tuz Konsantrasyonunun Etkisi**
- Boyama işlemleri sırasında kullanılan yardımcı kimyasallar arasında üre ve tuz kullanılması ve bu yardımcı kimyasalların atık sulara karıştığı durumlar için bu kimyasalların boya giderme verimi üzerine etkisi incelendi.
- 0,05 M, 0,2 M, 1.0 M, 1.5 M, 2.0 M ve 2.5 M üre içeren Reaktif Blue 19 boya çözeltileri hazırlandı. pH: 5.0 ve 30 °C' de 110 mg/L konsantrasyondaki Reaktif Blue 19 boyasına 3.3 µg/mL Horseradish Peroksidaz enzimi ile 30 dakika süresince boya gidermeye üre etkisi incelendi. Düşük üre konsantrasyonu içeren Reaktif Blue 19 boya çözeltisi daha yüksek yüzdeler ile boya giderilirken, boya çözeltisindeki üre konsantrasyonunun artması ile boya giderme değerlerinde azalma gözlenmektedir.
- 0,05 M, 0,1 M, 0,25 M, 0,5 M, 1.0 M ve 2.0 M NaCl içeren Reaktif Blue 19 (110 mg/mL) çözeltileri hazırlandı. pH: 5.0 ve 30 °C' de 110 mg/L konsantrasyondaki Reaktif Blue 19 boyasına 3.3 µg/mL Horseradish Peroksidaz enzimi ile 30 dakika süresince boya gidermeye tuz (NaCl) etkisi incelendi. Tuzun boya gidermeye herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı sonucuna varıldı.

2. İmmobilize Horseradish Peroksidaz Enzimin Serbest Enzime Göre Kazandığı Özellikler ve İmmobilize Enzim ile Reaktif Blue 19 ve Asid Black 1 Boyalarının Giderilmesi

- Serbest enzim immobilize enzimlere göre daha kısa sürede aktivitesini kaybetmektedir. AF-bazlı polisülfon destek materyaline immobilize enzimin aktivitesi A-bazlı (met) polisülfon destek materyaline bağlı enzimin aktivitesini daha uzun süre korumaktadır. Burada AF-bazlı polisülfon destek materyaline bağlı Horseradish Peroksidaz enzimi aktivitesini biraz daha yüksek görülmesi AF-bazlı polisülfon polimerinin yapısında bulunan Flor gruplarından kaynaklandığı düşünülmektedir.
- İlk gün A bazlı destek materyaline ve AF bazlı destek materyaline immobilize enzimler Reaktif Blue 19 boya çözeltisinde 60 dakika bekletildikten sonra sırası ile boyayı % 84 ve % 86 oranında gidermişlerdir. Asid Black 1 boyası (10 mg/mL) ise immobilize enzimler tarafından sırası ile % 86 ve % 87 oranında giderilmiştir. İmmobilize enzimler daha sonra tekrar kullanılmak amacı ile + 4 °C'de bekletilmişlerdir.
- İmmobilize enzimler 12 gün sonra 3. kez kullanımlarında ise Reaktif Blue 19 boyasını sırası ile % 62 ve % 52 oranında giderirken, Asid Black 1 boyasının sırası ile % 70 ve % 67 oranında gidermişlerdir.

3. Beyaz Çürükçül Mantar (*Trametes Versicolor*) ile Boyaların Giderilmesi

- Dianix Yellow CC boyası (20 mg L^{-1}) 4. ve 10. günlerde sırası ile % 66 ve % 66 giderilmiştir. Dianix Reaktif Blue R boyası iki farklı konsantrasyonda (16 mg L^{-1} ve 32 mg L^{-1}) bir hafta sonunda konsantrasyona göre sırası ile % 62 ve % 64 oranında giderilmiştir. Dianix Navy CC boyası iki farklı konsantrasyonda (60 mg L^{-1} ve 120 mg L^{-1}) bir hafta sonunda % 83 ve % 61 oranında giderilmiştir.
- Tekstil atık suyunda ise bir çok farklı koşulun (pH, süre, redoks mediatörü etkisi, mikroorganizma miktarı, boya giderme besi yeri konsantrasyonu) boya gidermeye olan etkisi incelendi.
- 7 günün sonunda pH: 2.0' da % 78 ve pH: 3.0' te ise % 74 boya giderme değerleri elde edildi.
- pH: 3.0' te bir redoks mediatörü olan 1-Hidroksibenzotriazolün (HBT) boya gidermeye etkisi incelendi. 4.14 mM HBT boya giderme besi yerine ilave edildiğinde 7 günün sonunda % 66 boya giderme sonucu elde edildi. 4.14 mM HBT ilavesi ile boya giderme yüzdesinde % 8 bir azalma görüldü.
- İki farklı hacimde sıvı besi yerinden (5 mL ve 10 mL) alınarak mikroorganizma miktarının boya gidermeye olan etkisi incelendi. pH: 3.6' da 5 mL ve 10 mL mikroorganizma sıvı besiyerinden alınarak boya giderme besiyerine ilave edildikten 7 gün sonra sırası ile % 63 ve % 68 tekstil boyasının giderildiği görüldü.
- İki farklı boya giderme besiyerinde (Besiyeri 1: 1,25 g Malt, 0,05 g glukoz ve Besiyeri 2: 6,25 g Malt, 0,25 g glukoz) yapılan tekstil boyasının giderilmesinde ise sırası ile 7 günün sonunda % 56 ve % 74 değerlerine ulaşılmıştır. Boya giderme besi yerindeki maddelerin konsantrasyonu 5 kat artırıldığında boya giderme değerlerinde de belirgin bir artış gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Kanlioğlu, B., (2000). Pamuklu Tekstil Endüstri Atık sularında İyon Çifti Ekstraksiyonu Metodu İle Renk Giderimi, Yüksek Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- [2] Bogoeva-Gaceva, G., Buzarovska, A ve Dimzoski, B., (2008). Discoloration of Synthetic Dyeing Wastewater Using Polyaluminium Chloride, G.U. Journal of Science, 21(4): 123-128.
- [3] Zhao, X., Hardin, I.R., (2007). HPLC and spectrophotometric analysis of biodegradation of azo dyes by *Pleurotus ostreatus*, Dyes and Pigments 73-322-325.
- [4] Jamal, F., Pandey, P.K ve Qidwai, T., (2010) Potential of peroxidase enzyme from *Trichosanthes dioica* to mediate disperse dye decolorization in conjunction with redox mediators Journal of Molecular Catalysis B:Enzymatic., 66, 177-181.
- [5] Husain, Q., (2006). Potential Applications of the Oxidoreductive Enzymes in the Decolorization and Detoxification of Textile and Other Synthetic Dyes from Polluted Water: A Review. Critical Reviews in Biotechnology, 26:201-221.
- [6] Önder, S., Çelebi, M., Altıkatoğlu, M., Hatipoğlu, A. ve Kuzu H., (2011). Decolorization of Naphthol Blue Black using the Horseradish Peroxidase., Applied Biochemistry and Biotechnology, 163 (3), 433-443.
- [7] Okazaki, S., Nagasawa, S., Goto, M., Furusaki, S., Wariishi, H., ve Tanaka, H. (2002). Decolorization of azo and anthraquinone dyes in hydrophobic organic media using microperoxidase-11 entrapped in reversed micelles. Biochemical Engineering Journal, 12, 237-241.
- [8] Dikmen, F., (1998). Tekstil Atık sularında Ozonla Renk Giderimi Üzerine Bir çalışma, İ.T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, s.75, İstanbul.
- [9] Rauf, M. A ve Ashraf, S. S., (2012). Review, Survey of recent trends in biochemically assisted degradation of dyes. Chemical Engineering Journal 209, 520-530.
- [10] EPA, (1997). Profile Of The Textile Industry, U.S Government Printing Office Superintendent of Documents, Washington.
- [11] Başer, İ. ve İnanıcı, Y., 1990. boyar madde Kimyası, Marmara Üniversitesi Yayını, Yayın No 482, İstanbul.
- [12] Wiesmann, U., Choi, I.S ve Dombrowski. E.M, Fundamentals of Biological Wastewater Treatment. WILEY-VCH.
- [13] Bisschops, I. ve Spanjers, H., (2003). Literature review on textile wastewater, characterisation, environmental technology, vol. 24. pp 1399-1411, 2003.
- [14] Barclay, S. ve Buckley, C., (2000) Waste Minimisation Guide for the Textile Industry : A Step Towards Cleaner Production (Volume 1).
- [15] ETAD Annual Report, (1993). Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigments Manufacturers.
- [16] EPA, (1996). Best Management Practices for Pollution Prevention in the Textile Industry.
- [17] Turner, P., (1995) German Amine Regulations, Journal of the Society of Dyers and Colourists, 110, 53.
- [18] Demir, A., Kanat, G., Debik, E., (2000). Atıksu Aritımında Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Metodlar, Y.T.Ü. İN.DK.-2000.0586. İstanbul.

- [19] Resmi Gazete, (2010) Sayısı:25687 Çevre ve Orman Bakanlığında Resmi Gazete Alıcı ortama atıksu deşarjı konusunda çevre iznine tabi işletmeler için genel hükümler Değişik başlık: 30/03/2010-27537 S.R.G. Yön/5.mad.
- [20] Pavko, A., (2011). Fungal Decolourization and Degradation of Synthetic Dyes Some Chemical Engineering Aspects. Waste Water - Treatment and Reutilization Editör: Prof. Fernando Sebastian Garcia Einschlag, InTech.
- [21] Hao, O. J., Hyunook, K. ve Chiang P. (2000). Decolorization of wastewater. Critical reviews in environmental science and technology, 30, 449-505.
- [22] Singh, H. (2006). Mycoremediation-Fungal Bioremediation, pp. 421-471, Wiley Interscience.
- [23] Gupta, V.K., Suhas B.A. (2009). Application of low-cost adsorbents for dye removal- a review. Journal of Environmental Management 90, 2313–2342.
- [24] Siddique, M., Farooq. R. ve Shaheen, A., (2011). Removal of Reactive Blue 19 from Wastewaters by Physicochemical and Biological Processes-A Review, J.Chem.Soc.Pak., Vol. 33, No. 2, 284-293.
- [25] Knapp, J. S., Vantoch-Wood, E. J. ve Zhang, F. (2001). Use of Wood - rotting fungi for the decolorization of dyes and industrial effluents, In: Fungi in Bioremediation, G. M. Gadd(Ed.), pp.253-261, Cambridge University Press.
- [26] Kocaer FO, Alkan U, 2002, Boyar Madde ?çeren Tekstil Atık Sularının Arıtım Alternatifleri, Uluda? Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi, 7, 1.
- [27] Debik, E., Manav, N. ve Coşkun T., (2008). Biyolojik Temel İşlemler Ders Notu, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [28] Robinson, T., Chandran, B. ve Nigam, P. (2001). Studies on the production of enzymes by white-rot fungi for the decolourisation of textile dyes. Enzyme and Microbial technology, 29, 575-579.
- [29] Southern TG (1995) Technical Solutions to the Colour Problem: a Critical Review. In Colour in Dyehouse Effluents, (Editör : P Cooper), Society of Dyers and Colourists, Oxford, UK.
- [30] Khan, A.A., Husain, Q., (2007). Decolorization and removal of textile and non-textile dyes from polluted wastewater and dyeing effluent by using potato (*Solanum tuberosum*) soluble and immobilized polyphenol oxidase, Bioresource Technology 98, 1012-1019.
- [31] O'Brien, A.M., O'Fagain, C., (2000) Dye bleaching and phenol precipitation by phthalic anhydride-modified horseradish peroxidase, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 75, 363-368.
- [32] Durán, N. ve Esposito, E., (2000), "Potential applications of oxidative enzymes and phenoloxidase-like compounds in wastewater and soil treatment: a review", Applied Catalysis B: Environmental, 28, 83-99.
- [33] Altıkatoğlu, M., 2007, Enzim-Dekstran Konjugatları, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- [34] Enaud, E., Trovaslet, M., Bruyneel, F., Billottet, L., Karaaslan, R., Sener, M. E., Coppens, P., Casas, A., ve vd., (2010). A novel azoanthraquinone dye made through innovative enzymatic process. Dyes and Pigments 85 99-108.
- [35] Kirk, T.K. ve Cullen D. (1998). Enzymology and molecular genetics of wood degradation by white-rot fungi. In: Environmentally Friendly Technologies for the Pulp and Paper Industry. (Editörler, Young, R.A. ve Akhtar, M.) John Wiley ve Sons, New York, 273-308.

- [36] Bourbannis, R., Paice, M.G., Freiermuth, B., Bodie, E. Ve Borneman, S. (1997a). Lignin oxidation by Laccase Isoenzyme from *Trametes versicolor* and Role of the Mediator ABST in Craft Lignin Depolymerization, *Appl. Environ. Microbiol.* 61,1876-1880.
- [37] Jamal, F., Pandey, P.K. ve Qidwai, T., (2010).Potential of peroxidase enzyme from *Trichosanthes dioica* to mediate disperse dye decolorization in conjunction with redox mediators, *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic.*, 66, 177-181.
- [38] Costa, S. A., Azevedo, H. S., ve Reis, R.L., (2005). Biodegradable Systems in Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Part 17. Enzyme Immobilization in Biodegradable Polymers for Biomedical Applications, Editörler: Reis, L. R., ve Roman, J. S., CRC Press. U.S.
- [39] Demir, S., Gok, S.B., ve Kahraman M. V. (2012). alpha-Amylase Immobilization on Functionalized Nano CaCO₃ by Covalent Attachment. *Starch*, 64, 3-9.
- [40] Madakbaş, S., Danis, O., Demir, S.,KAHRAMAN, M. V., (2013). Xylanase immobilization on functionalized polyaniline support by covalent attachment. *Starch*, 65, 146-150.
- [41] Baştürk, E., , Serap Demir., Danış, Ö. KAHRAMAN, M. V. (2013). Covalent immobilization of alpha-amylase onto thermally cross-linked electrospun PVA/PAA nanofibrous hybrid membranes. *Journal of Applied Polymer Science.* 127, 349-355
- [42] Call, H., Mucke, L., (1997). History, Overview and Applications of Mediated Lignolytic Systems, Especially Laccase-Mediator Systems. *Journal of Biotechnology*, 53, 163-202.
- [43] Fu, Y. ve Viraraghavan, T. (2001). Fungal Decolorization of Dye Wastewater: a Review, *Biosource Technology*, 79, 251-262.
- [44] Kaykıoğlu, G. ve Debik, E., (2006). Color Removal From Textile Wastewater with Anaerobic Treatment Processes, *Journal of Engineering and Natural Sciences*, Review Paper, 59-68.
- [45] Cano, A., Minguillon, C. ve Palet, C. (2006). Immobilization of endo-1,4-β-xylanase on polysulfone acrylate membranes: Synthesis and characterization, *Journal of Membrane Science* 280, 383-388.
- [46] Mercimek, H. A., (2007). *Trametes Versicolor'* in Tekstil Boyalarının Gideriminde Kullanım Olanakları, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
- [47] Zhao, X., Hardin, I.R., Hwang, H.M., (2006). Biodegradation of a model azo disperse dye by the white rot fungus *Pleurotus ostreatus.*, *International Biodeterioration & Biodegradation* 57: 1–6.
- [48] Zhao, X., Hardin, I.R., (2007). HPLC and spectrophotometric analysis of biodegradation of azo dyes by *Pleurotus ostreatus*, *Dyes and Pigments*, 73: 322-325.
- [49] Satar, R. Ve Husain, Q., (2009). Phenol-mediated decolorization and removal of disperse dyes by bitter gourd (*Momordica charantia*) peroxidase, *India Environmental Technology* 30: 1519–1527.
- [50] Ulson de Souza, S.M.A.G., Forgiarini, E., Ulson de Souza, A.A., (2007). Toxicity of textile dyes and their degradation by the enzyme horseradish peroxidase (HRP). *Journal of Hazardous Materials* 147: 1073–1078.

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Mithat ÇELEBİ
Doğum Yeri ve Tarihi : 1981/ Havza
Yabancı Dili : İngilizce
e-posta : celebimithat@gmail.com
 mithat.celebi@yaloa.edu.tr

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Lisans	Kimya Bölümü Fen Edebiyat Fakültesi	Yıldız Teknik Üniversitesi	2004
Yüksek Lisans	Biyomühendislik Bölümü Kimya-Metalurji Fakültesi	Yıldız Teknik Üniversitesi	2007
Doktora	Biyomühendislik Bölümü Kimya-Metalurji Fakültesi	Yıldız Teknik Üniversitesi	Devam ediyor.

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2009 -	Yalova Üniversitesi	Öğretim Görevlisi

PROJELERİ

- 1) "Horseradish" Peroksidaz (HRP) ve Türevleri Kullanılarak Çevre Kirletici Boyaların Giderilmesi. Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu, Araştırmacı, 2007-2010. (29-01-02-GEP01) (APK)
- 2) Biyobozunur Özellikli Doğal Chitosan Polimerinin Protein ve Poliakrilik asitle Konjugatlarının Mikrodalga Destekli Sentezi ve Karakterizasyonu, Yıldız Teknik Üniversitesi Araştırma Fonu, Araştırmacı, 2010-2012 (2009-07-04-GEP01).

YAYINLARI

Selva Onder, Mithat Celebi, Melda Altikatoglu, Arzu Hatipoglu and Huriye Kuzu., Decolorization of Naphthol Blue Black using the Horseradish Peroxidase., Applied Biochemistry and Biotechnology, 163 (3), 433-443, 2011.

Melda Altikatoglu, Mithat Celebi., Enhanced stability and decolorization of Coomassie Brilliant Blue R-250 by dextran aldehyde-modified Horseradish Peroxidase., Artificial Cells, Blood Substitutes, and Biotechnology: An International Journal. 39 (3), 185-190, 2011.

R. S. Önder, M. Çelebi, M. Altıkatoğlu, H. Kuzu, The Effect Of Horseradish Peroxidase (HRP)-Dextran Conjugate On Naphtol Blue Black, Y.T.Ü. Journal of Engineering and Natural Sciences, Sigma, 27, 18-25, (2009).



**İSTANBUL
SANAYİ ODASI**

Meşrutiyet Caddesi No:62 Tepebaşı 34430 - İstanbul Tel: (0212) 252 29 00 Faks: (0212) 249 50 07 e-posta: kobi@iso.org.tr

(Elektronik) ISBN: 978-605-137-137-5 ISBN: 978-605-137-136-8