



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON
BİRİMİ
SONUÇ RAPORU

F-6

Proje Adı

Manyetik kitosan kil boncuk üzerinde hareketsizleştirilmiş tirozinaz ve yaban turpu peroksidazın sentetik tekstil atıksuyunda renk giderim performansının araştırılması

Proje No	Başlama Tarihi	Bitiş Tarihi	
2021/2-1 M (YLS)	20-05-2021	19-05-2022	
Rapor Türü	Raporun Kapsadığı Dönemin Tarihleri		
Sonuç Raporu	20-05-2021	20-11-2021	
Bilimsel Araştırmalar Birimi Tarafından Sağlanan Destek Miktarı	Gelişme Raporu Döneminde Harcanan	Şimdiye Kadar Harcanan	Kalan
17.847,50 TL	17.800,30 TL	17.800,30 TL	47,20 TL
Destek Sağlayan Diğer Kuruluşların Katkısı	Gelişme Raporu Döneminde Harcanan	Şimdiye Kadar Harcanan	Kalan

SAĞLANAN DESTEKTEN ŞİMDİYE KADAR YAPILAN HARCAMALARIN FASILLARA GÖRE DAĞILIMI

Fasıl	Harcanan	Kalan
TÜKETİME YÖNELİK MAL VE MALZEME ALIMLARI	14.850,30 TL	0,00 TL
HİZMET ALIMLARI	2.950,00 TL	47,20 TL

RAPOR DÖNEMİNE AİT İLGİLİ YAYINLAR

No	Yayın
	Bulunmamaktadır

RAPOR DÖNEMİNE AİT İLGİLİ FİKRİ MÜLKİYETLER

No	Fikri Mülkiyet Adı	Fikri Mülkiyet No	Alındığı Ülke	Tescil Tarihi

Bulunmamaktadır

RAPOR DÖNEMİNDE YAPILAN ÇALIŞMALAR VE ELDE EDİLEN SONUÇLAR

Sonuç Rapor Özeti :

Tekstil endüstrisi, tekstil ürünlerine artan taleplerle sürekli gelişmekte olan en önemli sektörlerin başında gelmektedir. Bu gelişme çeşitli işlemlerde kullanılan boya ve kimyasal maddelerinin oluşturduğu atık su problemini de beraberinde getirmektedir. Su kirliliği ise, canlıları ve yaşam alanlarını olumsuz etkilemektedir. Tekstil atıksuyu kirleticileri arasında bulunan renk tekstil atıksularında en önemli kirlilik problemini oluşturmaktadır. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (SKKY)'nde tekstil sektörü için 280 Pt-Co renk standardı getirilmiş olup, ileride yapılacak revizyonlarla da standardın daha da sıkılaştırılması beklenmektedir. Bu nedenle günümüzde tekstil endüstrisinden çıkan atıksuların deşarj standartlarına uyması için artımda birçok yöntem denenmektedir. Fiziksel veya kimyasal yöntemlerin en büyük dezavantajı çoğunlukla renk çamurda yoğunlaştırılmakta ve renkli moleküller kısmen giderilmektedir. Ayrıca, bu yöntemlerde kullanılan kimyasal maddelerin ve enerjinin yüksek maliyeti ve oluşan çamurların uzaklaştırılması gibi problemleri de bulunmaktadır. Biyolojik antım işlemleri ise mikroorganizmaların ortam şartlarına adaptasyonu hem zaman almakta hem de maliyeti artırmaktadır. Yüksek pH, sıcaklık değerlerinde toksin, ya da kirlenici konsantrasyonlarının yüksek olması gibi durumlarda mikroorganizmalar geri dönüşümsüz olarak zarar görebilmekte ya da metabolik faaliyetleri inaktif hale gelebilmektedir. Fiziko-kimyasal yöntemlerin ise biyolojik yöntemlerden daha güvenilir ve etkili olduğu bildirilmektedir. Fiziko-kimyasal yöntemler arasında bulunan

formlarda kullanılabilir. Hareketsizleştirilmiş enzim proses performansını artıran ve genel maliyeti düşüren endüstriyel uygulamalarda uzun vadeli kolay ve yeniden kullanım avantajlarına sahiptir. Renk gideriminde lakkaz, peroksidaz, mangan peroksidaz, lignin peroksidaz, soya peroksidazı, tirozinaz ve yaban turpu peroksidazı gibi enzimler immobilize edilerek kullanılabilen enzimler arasındadır. İmmobilizasyon için enzimin bir destek materyaline ihtiyacı vardır. İdeal bir destek materyalleri mikrobiyal ataklara dirençli biyoyoumlu ve ucuz olmalıdır. Destek materyalleri arasında en çok tercih edilen klasik destek materyallerinden kitosan; ucuz olması, toksik olmaması, biyoyoumlu olması, doğada çözünebilme özelliği, dayanıklı olması gibi avantajlara sahiptir. Klasik destek materyallerinin nispeten daha düşük verimliliklerinden dolayı yeni destek malzemeleriyle kullanımı tercih edilmektedir. Yeni destek malzemelerinden nanopartiküller, biyokatalitik sistemin verimliliğini genellikle önemli ölçüde arttırmaktadır. Bu tez çalışmasında, Fe₃O₄ manyetik nanopartiküller oluşturulmuştur. Daha sonra kitosan pulları ve kil ile belirli oranlarda karıştırılarak manyetik kitosan kil boncukları elde edilmiştir. Manyetik kitosan-kil boncukları üzerinde hareketsizleştirilmiş peroksidaz ve tirozinaz enzimlerinin sentetik tekstil atıksularındaki renk giderim performansları araştırılmıştır. Yapılan çalışmada optimum pH 10, sıcaklık 35°C, HRT 5 dakika olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda KOİ ve renk giderim verimleri sırasıyla %44 ve %56 olarak elde edilmiştir. Buna karşılık gelen konsantrasyonlar ise 1442 mg/L, 450 Pt-Co'dır. Bu çalışmanın sonuçları, enzim immobilizasyonu işleminin kullanılmasının, tekstil atıksularından renk ve KOİ konsantrasyonunu gidermek için etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir. Anahtar Kelimeler: Peroksidaz, tirozinaz, enzim immobilizasyon, manyetik kitosan kil boncuk, sentetik tekstil atıksu

Rapor içeriği için lütfen eke bakınız.

EK:

Münferit PROJESİ SONUÇ RAPORU 24.07.2023.doc

Demirbaş/Taşınır Alımları

Proje Kapsamında Demirbaş Niteliğinde Taşınır Alınmamıştır.

Proje Yürütücü Unvanı, Adı SOYADI	İmzası	Tarih
Prof.Dr. Kevser CIRIK		24-07-2023



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ KOORDİNASYON
BİRİMİNE

Proje Numarası :	2021/2-1 M (YLS)
Projenin Adı :	Manyetik kitosan kil boncuk üzerinde hareketsizleştirilmiş tirozinaz ve yaban turpu peroksidazın sentetik tekstil atıksuyunda renk giderim performansının araştırılması
Projenin Türü :	Münferit Proje (M)
Proje Yön. Univ.-Adı-Soyadı :	Prof.Dr. Kevser CIRIK
Görev Yeri :	Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi
Bölümü :	Çevre Mühendisliği
Sözleşmeye Göre Projenin	
Başlangıç Tarihi :	20-05-2021
Bitiş Tarihi :	19-05-2022
Alınan Ek Süre :	0 Ay
Sonuç Raporu Tarihi :	24-07-2023
Proje Bütçesi :	17.847,50 TL
Alınan Ek Ödenek :	0,00 TL
Projenin Toplam Bütçesi :	17.847,50 TL
Harcanan Miktar :	17.800,30 TL
Proje Kalan Bütçesi :	47,20 TL
İşyeri Telefon Numarası :	(344)300-1686
Cep Telefon Numarası :	(506)559-0143
Proje Yöneticisinin İş Adresi :	KSU Çevre Mühendisliği Bölümü Avşar Kampüsü Merkez, K.Maraş
Demirbaş[Taşınır Alımları	Proje Kapsamında Demirbaş Niteliğinde Taşınır Alınmamıştır.

Projemin sonuç raporunun kabulünü arz ederim. 24/07/2023

Prof.Dr. Kevser CIRIK
(İmza)

Projemin Sonuç Raporunun, Üniversitemiz BAP/Kütüphane İnternet Sayfasında;

- 1.Yayınlanmasına İzin Vermiyorum. ☐
- 2.Sadece Özetin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. ☐
- 3.Tam Metin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. ☒
4. Tarihinden İtibaren Tam Metin Yayınlanmasına İzin Veriyorum. ☐

Bu belge, güvenli Elektronik İmza ile imzalanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ehd?eK=5637&eD=BSPNK0PRTL&eS=229134> adresinden yapılabilir.

https://bap.koordinasyon.ksu.edu.tr/?act=yazdir&mode=clear&type=sonuc_raporu_teslim_dilekcesi&prid=3143&r=1



**T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM
ÜNİVERSİTESİ**

**MANYETİK KİTOSAN KİL BONCUK ÜZERİNDE
HAREKETSİZLEŞTİRİLMİŞ TİROZİNAZ VE YABAN
TURPU PEROKSİDAZİN SENTETİK TEKSTİL
ATIKSUYUNDA RENK GİDERİM PERFORMANSININ
ARAŞTIRILMASI**

**BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ**

2023 KAHRAMANMARAŞ

**Manyetik kitosan kil boncuk üzerinde hareketsizleştirilmiş
tirozinaz ve yaban turpu peroksidazın sentetik tekstil
atıksuyunda renk giderim performansının araştırılması**

Proje No: 2021/2-1M(YLS)

**Prof. Dr. Kevser CIRIK
Ayşenur GÖKDUMAN**

2023 KAHRAMANMARAŞ

ÖNSÖZ

Bu tez çalışmasının amacı, laboratuvar koşullarında minimum maliyetle yüksek renk konsantrasyonlarına sahip tekstil sularını arıtmada etkili bir yöntem olan enzim immobilizasyonunun tercih edilme nedeni yüksek kaliteli çıkış suyu elde edilebilmesi, hızlı sonuç vermesi, işletiminin kolay olması ve tekrar kullanılabilmesi gibi özelliklerle yeni bir arıtma teknolojisi oluşturulmak istenmesidir. Aynı zamanda bu sistem düşük enerji gereksinimi ve kolay uygulanabilirliği gibi avantajları beraberinde getirmektedir. Böylesi umut vaat eden bir teknoloji ile bir sistem içerisinde sürdürülebilir tekstil atık suyu arıtımı sağlamaktadır.

Bu bilimsel araştırma projesi Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi tarafından proje numarası 2021/2-1M(YLS) ile desteklenmiştir. Destekleri için Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederiz.

Projenin başlama tarihi 20/05/2021 ve bitiş tarihi 19/05/2022'dur.

Proje Yürütücüsü

Prof. Dr. Kevser CIRIK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ÖZET.....	vi
ABSTRACT.....	vii
1.GİRİŞ.....	1
1.2.Önceki Çalışmalar.....	2
1.2.1 Tekstil Endüstrisinin Genel Tanımı.....	2
1.2.2. Tekstil Endüstrisi Atıksu Kaynakları ve Özellikleri.....	2
1.2.2.1. Boyama.....	2
1.2.2.2. Baskı.....	3
1.2.2.3. Haşılama.....	3
1.2.2.4. Haşıl Sökme.....	3
1.2.2.5. Yıkama.....	3
1.2.2.6. Pamuk Merserizasyonu.....	3
1.2.3. Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddeler ve Çevresel Riskleri.....	4
1.2.3.1. Zehirlilik.....	4
1.2.3.2. Atık Sulardaki Ağır Metaller.....	5
1.2.3.3. Yardımcı Kimyasallar.....	5
1.2.3.4. Renk.....	6
1.2.4 Tekstil Atıksularından Renk Giderimi İçin Kullanılan Arıtma Yöntemleri.....	7
1.3. Enzim İmmobilizasyonu.....	8
1.3.1. Destek Materyalleri.....	8
1.3.1 Klasik Destek Materyalleri.....	9
1.3.2 Yeni Destek Materyalleri.....	10
1.3.1.3. Destek Materyallerin Aktive Edilmesinde Kullanılan Bazı Ajanlar.....	10
1.3.1.3.1. Gluteraldehit.....	11
1.3.1.3.2. Polietilemini.....	11
1.3.3. Enzimlerin İmmobilizasyon Yöntemleri.....	11
1.3.3.1. Adsorbsiyon.....	12
1.3.3.2. Kovalent Bağlama.....	12
1.3.3.3. Adsorbsiyon.....	12
1.3.3.4. Çapraz Bağlama.....	13
1.3.3.5. Tuzaklama.....	13
1.3.3.6. Kapsülleme.....	14
2. MATERYAL VE YÖNTEM (METOD)	15
2.1. Simüle edilmiş tekstil atıksuyu bileşimi.....	15
2.2. Deneysel plan.....	16
2.3. Deney Düzenegi.....	16
2.4. Analizler.....	18
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA.....	21
3.1. pH'ın Giderim Verimine Etkisinin Araştırılması.....	21
3.2. Sıcaklığın Giderim Verimine Etkisinin Araştırılması.....	21
SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	23
KAYNAKLAR.....	24

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1. Tekstil endüstrisi atık sularının özellikleri.....	4
Çizelge 2. Boyaların zehirlilik dereceleri.....	5
Çizelge 3. Atık sulardaki ağır metal kaynakları.....	5
Çizelge 4. Boyama işlemlerinde en sık kullanılan yardımcı kimyasallar.....	6
Çizelge 5. Tekstil atıksularında kullanılan arıtma yöntemleri.....	7
Çizelge 6. Simüle atıksu bileşimi.....	15
Çizelge 7. Deneysel plan.....	17

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil.1. Klasik Destek Materyalleri.....	5
Şekil 2. Kitin ve Kitosanın Moleküler Yapısı.....	10
Şekil 3. Yeni Destek Materyalleri.....	10
Şekil 4. İmmobilizasyon Destek Yöntemleri.....	12
Şekil 5. Adsorpsiyon Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu.....	12
Şekil 6. Kovalent Bağlama Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu.....	13
Şekil 7. Çapraz Bağlama Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu.....	13
Şekil 8. Tutuklama Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu.....	14
Şekil 9. Kapsülasyon Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyon.....	14
Şekil 10. Azo boyanın yapısı.....	15
Şekil 11. Deney düzeneği.....	16
Şekil 12. KOİ tayini için oluşturulan korelasyon eğrisi.....	20
Şekil 13. pH'ın giderim verimine etkisi.....	21
Şekil 14. Sıcaklığın giderim verimine etkisi.....	22

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AnMBR	: Anaerobik Membran Biyoreaktör
Fe₃O₄	: Demir (II, III) Oksit
g	: Gram
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
L	: Litre
MKKB	: Manyetik kitosan kil boncuk
mg	: Miligram
mL	: Mililitre
°C	:Santigrat derece
%	: Yüzde

ÖZET

Tekstil endüstrisi, tekstil ürünlerine artan taleplerle sürekli gelişmekte olan en önemli sektörlerin başında gelmektedir. Bu gelişme çeşitli işlemlerde kullanılan boya ve kimyasal maddelerinin oluşturduğu atık su problemini de beraberinde getirmektedir. Su kirliliği ise, canlıları ve yaşam alanlarını olumsuz etkilemektedir. Tekstil atıksuyu kirleticileri arasında bulunan renk tekstil atıksularında en önemli kirlilik problemini oluşturmaktadır. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği (SKKY)'nde tekstil sektörü için 280 Pt-Co renk standardı getirilmiş olup, ileride yapılacak revizyonlarla da standardın daha da sıkılaştırılması beklenmektedir.

Bu nedenle günümüzde tekstil endüstrisinden çıkan atıksuların deşarj standartlarına uyması için arıtımda birçok yöntem denenmektedir. Fiziksel veya kimyasal yöntemlerin en büyük dezavantajı çoğunlukla renk çamurda yoğunlaştırılmakta ve renkli moleküller kısmen giderilmektedir. Ayrıca, bu yöntemlerde kullanılan kimyasal maddelerin ve enerjinin yüksek maliyeti ve oluşan çamurların uzaklaştırılması gibi problemleri de bulunmaktadır. Biyolojik arıtım işlemleri ise mikroorganizmaların ortam şartlarına adaptasyonu hem zaman almakta hem de maliyeti arttırmaktadır. Yüksek pH, sıcaklık değerlerinde toksin, ya da kirleticili konsantrasyonlarının yüksek olması gibi durumlarda mikroorganizmalar geri dönüşümsüz olarak zarar görebilmekte ya da metabolik faaliyetleri inaktif hale gelebilmektedir. Fiziko-kimyasal yöntemlerin ise biyolojik yöntemlerden daha güvenilir ve etkili olduğu bildirilmektedir. Fiziko-kimyasal yöntemler arasında bulunan enzim immobilizasyonu ekstrem koşullarda da çalışabilmektedirler. Enzimler serbest veya hareketsizleştirilmiş formlarda kullanılabilir. Hareketsizleştirilmiş enzim proses performansını artıran ve genel maliyeti düşüren endüstriyel uygulamalarda uzun vadeli kolay ve yeniden kullanım avantajlarına sahiptir. Renk gideriminde lakkaz, peroksidaz, mangan peroksidaz, lignin peroksidaz, soya peroksidazı, tirozinaz ve yaban turpu peroksidazı gibi enzimler immobilize edilerek kullanılabilen enzimler arasındadır. Immobilizasyon için enzimin bir destek materyaline ihtiyacı vardır. İdeal bir destek materyalleri mikrobiyal ataklara dirençli biyoyoumlu ve ucuz olmalıdır. Destek materyalleri arasında en çok tercih edilen klasik destek materyallerinden kitosan; ucuz olması, toksik olmaması, biyoyoumlu olması, doğada çözünebilirlik özelliği, dayanıklı olması gibi avantajlara sahiptir. Klasik destek materyallerinin nispeten daha düşük verimliliklerinden dolayı yeni destek malzemeleriyle kullanımı tercih edilmektedir. Yeni destek malzemelerinden nanopartiküller, biyokatalitik sistemin verimliliğini genellikle önemli ölçüde arttırmaktadır.

Bu tez çalışmasında, Fe_3O_4 manyetik nanopartiküller oluşturulmuştur. Daha sonra kitosan pulları ve kil ile belirli oranlarda karıştırılarak manyetik kitosan kil boncuklar elde edilmiştir. Manyetik kitosan-kil boncuklar üzerinde hareketsizleştirilmiş peroksidaz ve tirozinaz enzimlerinin sentetik tekstil atıksulardaki renk giderim performansları araştırılmıştır. Yapılan çalışmada optimum pH 10, sıcaklık $35^\circ C$, HRT 5 dakika olarak belirlenmiştir. Optimum koşullarda KOİ ve renk giderim verimleri sırasıyla %44 ve %56 olarak elde edilmiştir. Buna karşılık gelen konsantrasyonlar ise 1442 mg/L, 450 Pt-Co'dır. Bu çalışmanın sonuçları, enzim immobilizasyonu işleminin kullanılmasının, tekstil atıksularından renk ve KOİ konsantrasyonunu gidermek için etkili bir yöntem olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Peroksidaz, tirozinaz, enzim immobilizasyon, manyetik kitosan kil boncuk, sentetik tekstil atıksu

ABSTRACT

The textile industry is one of the most important sectors that are constantly developing with increasing demands for textile products. This development brings about the waste water problem caused by dyes and chemicals used in various processes. Water pollution, on the other hand, adversely affects living things and their habitats. Color, which is among the textile wastewater pollutants, constitutes the most important pollution problem in textile wastewater. In the Water Pollution Control Regulation (WPCR), 280 Pt-Co color standards have been introduced for the textile industry, and it is expected that the standard will be further tightened with future revisions.

For this reason, many methods are tried in the treatment of wastewater from the textile industry to comply with the discharge standards. The biggest disadvantage of physical or chemical methods is that the color is often concentrated in the sludge and the colored molecules are partially removed. In addition, there are problems such as the high cost of chemicals and energy used in these methods and the removal of the sludge formed. Biological treatment processes, on the other hand, take time and increase the cost for the adaptation of microorganisms to environmental conditions. Microorganisms can be irreversibly damaged or their metabolic activities may become inactive in situations such as high pH, high temperature and high concentrations of toxins or pollutants. Physico-chemical methods are reported to be more reliable and effective than biological methods. Enzyme immobilization, which is among the physico-chemical methods, can also work under extreme conditions. Enzymes can be used in free or immobilized forms. The immobilized enzyme has long-term easy and reusable advantages in industrial applications, which increases process performance and reduces overall costs. Enzymes such as laccase, peroxidase, manganese peroxidase, lignin peroxidase, soy peroxidase, tyrosinase and horseradish peroxidase are among the enzymes that can be used by immobilizing in color removal. For immobilization, the enzyme needs a support material. An ideal support material should be resistant to microbial attacks, biocompatible and cheap. Chitosan, one of the most preferred classical support materials among support materials; It has advantages such as being cheap, non-toxic, biocompatible, biodegradable, and durable. It is preferred to use conventional support materials with new support materials due to their relatively lower efficiency. Nanoparticles from new support materials generally increase the efficiency of the biocatalytic system significantly.

In this thesis, Fe_3O_4 magnetic nanoparticles were formed. Then, magnetic chitosan clay beads were obtained by mixing with chitosan flakes and clay in certain proportions. The color removal performances of peroxidase and tyrosinase enzymes immobilized on magnetic chitosan-clay beads in synthetic textile wastewater were investigated. In the study, optimum pH was determined as 10, temperature 35°C, HRT 5 minutes. COD and color removal efficiencies were obtained as 44% and 56%, respectively, under optimum conditions. The corresponding concentrations are 1442 mg/L, 450 Pt-Co. The results of this study show that using the enzyme immobilization process is an effective method to remove color and COD concentration from textile wastewater.

Keywords: Peroxidase, tyrosinase, enzyme immobilization, magnetic chitosan clay beads, synthetic textile wastewater

1.GİRİŞ

Dünyadaki hızlı nüfus artışıyla birlikte tekstil ürünlerine taleplerde artmaktadır. Bu artış oluşan atıksuyu beraberinde getirerek dünyadaki en önemli endüstri kaynaklı atıksularından birini oluşturmaktadır. Üretim endüstrileri arasında en karmaşık yapıya sahip olan tekstil endüstrisi yüksek oranda organik bileşikler toksik kimyasallar içermektedir. Tekstil endüstrilerinde yıkama, ovma, ağartma, merserize etme, boyama, terbiye etme işlemleri olarak adlandırılan yaş proseslerde yumuşatma, keçeleşme önleyici, biyositler, taşıyıcılar, fenoller pestisitler, boyalar ve birçok katkı maddesi kullanılmaktadır (Kozak M., 2018).

Bu kirlilik problemlerinden en önemlisi boyar maddelerdir. Çoğu organik boyalar kanserojenik ve mutajenik özelliklere sahiptir (Weisburger, J.H., 2002). Bu yüzden boyaların arıtılması gerekmektedir. Arıtma yöntemleri tekstil atık suyunun özelliğine göre değişmektedir. Genel olarak atıksular fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak arıtılmaktadır. Son yıllarda diğer yöntemlere oranla daha avantajlı olması nedeniyle enzimler kullanılmaktadır. Serbest enzimlerin yeniden kullanılabilirdiğini arttırmak, daha kararlı ve daha doğru bir şekilde kontrol edilebilmesi, ürünle kontamine olmaması ve üründen ayırma kolaylığı gibi birçok nedenle immobilize edilmiş enzim daha çok tercih edilmektedir. Renk giderimi için yapılan çalışmalarda genellikle peroksidaz, lakkaz, lignin peroksidaz, yaban turpu peroksidazı ve tirozinaz enzimleri kullanılmıştır. Enzimlerin immobilizasyonu için bir destek materyaline ihtiyaç vardır. Destek materyali ucuz biyoyumlu olmalıdır. Kitosan biyoyumluluk, hidrofiliklik, mekanik stabilite, yenilenebilirlik ve seçilen bir biyotransformasyona uygun farklı geometrik konfigürasyonlarda hazırlanma kolaylığı gibi birçok ilginç özellikleri bulunmaktadır (Aydemir vd., 2015). Destek materyallerinden biri olan nanopartiküller enzim bağlanması için geniş bir yüzey alanı sağlayarak immobilizasyon verimini arttırmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda hibrit (organik-organik, inorganik-inorganik, organik-inorganik) destek malzemelerin kullanımının diğer destek malzemelerine oranla daha avantajlı olduğu düşünülmektedir.

1.2. Önceki Çalışmalar

1.2.1 Tekstil Endüstrisinin Genel Tanımı

Tekstil sektöründe birçok sektör bulunmaktadır. Sentetik elyaf üretimi ve iplik üretimi süreçlerini içermektedir. Tekstil endüstrisi imalat süreçlerinde terbiye, boyama, baskı ve apreleme işlemleri gibi yaş (ıslak) prosesler ile dokuma, örme, eğirme, kurutma, fikse işlemleri gibi kuru prosesler bulunmaktadır. Elyaftan iplik üretimi, iplikten kumaş üretimi ve kumaştan nihai ürün elde edilmektedir.

1.2.2 Tekstil Endüstrisi Atıksu Kaynakları ve Özellikleri

Tekstil ürünleri üretimi her geçen gün artmakta ve buna paralel tekstil endüstrisi atıksu miktarı da artmaktadır. Bu da endüstriyel kirlenmeyi büyük oranda etkilemektedir. Tekstil atıksuları genel olarak miktar ve bileşim yönünden farklıdır. Farklı işletme prosesleri ve uygulanan teknoloji atıksuyun içeriğini oluşturmaktadır. Örneğin, haşılama işleminde açığa çıkan atıksu miktarı az, fakat kirlilik yükü fazla olabilmektedir (TTSD, 2002).

Yıkama, boyama ve ağartma işlemleri çok fazla miktarda su kullanımını gerektirdiği için yüksek hacimli, renkli ve düşük organik madde içeren atıksuların oluşmaktadır. Tekstil endüstrisi atıksularının bileşimi uygulanan işletme koşullarına, ıslak ve kuru proses basamaklarında kullanılan farklı organik kökenli bileşiklere, boyamada ve diğer işlemlerde kullanılan organik ve inorganik formdaki kimyasalların çeşitliliğine bağlı olarak değişmektedir. Bu atıksular genel olarak, çözünmüş organik madde, KOİ, pH, BOİ₅, renk ve tuzluluk gibi birçok kirlilik parametresi yüksek değerler göstermektedir. Endüstrideki farklı teknolojiler paralelinde uygulanan her işlem, açığa çıkan atıksuların standart bir arıtma yöntemi ile arıtılmasını olanaksız hale getirmektedir.

1.2.2.1. Boyama:

Boyama işleminde liflere renk verilmektedir. Boyama sonrasında ve sırasında yüksek oranlarda su kullanılmaktadır. Boyama sonrasında fazla miktarda renkli atıksular oluşmaktadır. Kullanılan kimyasal maddelerin biyolojik parçalanabilirliği zor olmasından dolayı oluşan atıksuyun biyolojik arıtımı zordur.

1.2.2.2. Baskı:

Boyama işleminden tek farkı elyafın sadece belirli kısımlarının boyanmasıdır. Oluşan atıksu renklidir ve inceltici, boyar madde, üre, sülfat ve solventler gibi çeşitli kimyasallar içermektedir

Oluşan atıksu, endüstri atıksuyunun KOİ, renk ve azot parametrelerinin değerini arttırıcı özellik taşımaktadır.

1.2.2.3. Haşılama:

Dokuma öncesindeki hazırlık işlemidir. Pamuk elyafının üzerlerinin; nişasta, modifiye nişasta, polivinil asetat, karboksimetil selüloz ve sakız gibi maddelerle kaplanması sonucunda elyaflarına dokuma sırasında sağlamlık kazandırmaktadır. Açığa çıkan atıksu miktarının az olmasına rağmen kirletici yükü yüksektir.

1.2.2.4. Haşıl Sökme:

Haşılamadan sonra kumaşa boyama, ağartma işlemi için uygulanmaktadır. Haşılamada kullanılan maddelerin çoğu suda çözünmediği için, haşıl sökme işlemleri yüzey aktif maddeler, asitler, alkiler kullanılarak yapılır. Haşıl maddesi olarak nişastanın kullanıldığı zamanlarda yıkama işleminde enzimler kullanılmaktadır.

1.2.2.5. Yıkama:

Kumaş ve elyaf üzerindeki vaks, yağ ve pamuğun selüloz olmayan diğer bileşenleri deterjan veya gliserol eterler gibi sabun çözeltileri ve yıkama solventleriyle gidermesi işlemdir. Oluşan atıksu yüksek KOİ ve katı madde içeriğine sahiptir. Yünün yıkanması işlemi ise tekstil endüstrisinde kirlilik yükü en fazla olan basamaktır.

1.2.2.6. Pamuk Merserizasyonu

Bu işlemde genellikle kumaş yüzeyinde bir parlaklık elde etmek, boyutsal stabiliteyi sağlamak, daha yüksek mukavemet elde etmek, selüloz liflerinin düzgün şekilde şişmesini sağlamak, iç yüzeydeki artış nedeniyle daha iyi boya tutmak amacıyla uygulanmaktadır. Merserizasyon işleminde en yaygın kullanılan maddelerden biri pH'ı arttırmak için eklenen kimyasal kostik sodadır. Oluşan atıksuların BOİ ve katı madde içeriği düşüktür.

Tekstil endüstrisinde oluşan atıksular ve özellikleri Çizelge 1'de verilmiştir.

Çizelge 1. Tekstil endüstrisi atık sularının özellikleri (Bisschops, I. vd., 2003)

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), çözülmüş katı madde (ÇKM)
Ağartma	Hipoklorit, Klor, kostik soda, hidrojen peroksit (H ₂ O ₂), NaOH, asitler, yüzey aktif maddeler, NaSiO ₃ , sodyum fosfat, kısa kumaş fiberi	AKM, alkali
Merserizasyon	Kostik soda	Yüksek pH, düşük KOİ, yüksek ÇKM
Boyama	Çeşitli Boyalar, mordanlar, indirgeyici ajanlar, asetik asit, 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
Apres (Bitim)	İnorganik tuzlar, toksik bileşikler	Zayıf alkali, düşük BOİ

1.2.3 Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddeler ve Çevresel Riskleri

1.2.3.1. Zehirlilik

Boyar maddelerin, canlılar üzerinde toksik etki oluşturduğu bildirilmektedir (Işık ve Sponza, 2004). Besin zinciriyle sucul canlıların yanı sıra insan vücuduna kadar ulaşabildiği rapor edilmiştir (Chung ve Stevens, 1993). Boyar maddelerin sucul ortam sedimentlerinde indirgendiği ve kanserojen özellikli aromatik aminler üreterek ekosisteme yayıldığı bilinmektedir. Toksik etki göstermelerinin araştırıldığı çalışmalarda, suda yaşayan canlılardan (balık, alg, bakteri vb.) insanlara kadar uzanan geniş çaplı testler yapılmış ve boyar maddelerin akut toksisitelerinin genellikle düşük olduğu bulunmuştur. İnsanlarda boyar maddelere karşı akut hassasiyet reaksiyonlarıyla sıklıkla karşılaşmaktadır ve özellikle bazı dispers boyar maddelerin egzama gibi alerjik reaksiyonlara neden olduğu bilinmektedir.

Düşük konsantrasyon değerlerinde bile kolaylıkla fark edilebilen bu boyalar, çevre ve canlı sağlığına olumsuz etkileri olmaktadır. Boyaların hepsi için zehirlilik (toksisite), biyobozunurluğu, su toksisitesi ve maruz kalma durumunda etkisi gibi bilgileri içeren güvenlik bilgi kartları hazırlanmalıdır. Zehirlilik değeri genellikle fare üzerinde gerçekleştirilen denemelerle belirlenip bu denemelerde hayvan gruplarındaki fert sayısının yarısının ölümüne yol açan doz zehir dozu olarak belirlenir. Vücut ağırlığı

başına alınan miktar olarak (mg/kg) olarak gösterilir ve ölümcül doz (50), LD50 olarak bilinmektedir (Barclay, S. vd., 2000). Tekstilde kullanılan boyaların zehirlilik derecesi Çizelge 2.2’de verilmiştir.

Çizelge 2. Boyaların zehirlilik dereceleri (Barclay, S. vd., 2000)

LD50 (mg/kg)	Sınıflandırma	Boya Sayısı	Boya (%)
<25	Çok zehirli		
25 – 200	Zehirli	44	1
200 – 2.000	Zararlı	314	7
> 2.000	Sınıflandırılmadı	4.103	92
Toplam		4.103	100

1.2.3.2. Atık Sulardaki Ağır Metaller

Atık sulardaki çoğu ağır metaller yünün boyanmasından kaynaklanmaktadır. Boyalarda ağırlıkça %3’ten %4’e varan ağır metaller bulunmakta olup bunların kaynağı önceden metallendirme işlemidir. Bu ön metallendirme işleminde bazik boyaların hazırlanması için çinko tuzlarının kullanımı, boyaların yükseltgenmesi ve tutunması için de dikromatların kullanımı ve yün boyamada görev alan krom bileşikleri kullanılmaktadır (Barclay, S. vd., 2000). Tekstil atıksularında bulunan ağır metaller Çizelge 3’de verilmiştir.

Çizelge 3. Atık sulardaki ağır metal kaynakları (EPA, 1996)

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

1.2.3.3. Yardımcı Kimyasallar

İplik üzerinde boyanın adsorbe olması ipliğine ve boyanın tipine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Adsorpsiyon derecesi zaman, sıcaklık, pH ve yardımcı kimyasallar gibi çeşitli faktörlerle değişmektedir. Boyama işleminde sıkça kullanılan yardımcı kimyasallar Çizelgede gösterilmektedir. Tek bir boyama işlemi için farklı kimyasal boyaların birlikte kullanılabilir olması çıkış suyunu daha da karmaşık hale getirmektedir. Çıkış sularındaki kimyasal yük, prosesin kimyasının yanı sıra boyama işleminin kesikli ya da sürekli olmasına bağlı olarak da farklılıklar göstermektedir (Kocaer, F.O. vd., 2002).

Çizelge 4. Boyama işlemlerinde en sık kullanılan yardımcı kimyasallar (Kocaer, F.O. vd., 2002)

Kimyasal Madde	Bileşim	Fonksiyon
Tuzlar	Sodyum klorür	Sodyum sülfat elyafın zeta potansiyelini nötralize edici, yavaşlatıcı
Asitler	Asetik asit, Sülfürik asit	pH kontrolü
Bazlar	Sodyum hidroksit Sodyum karbonat	pH kontrolü
Tamponlar	Fosfat	pH kontrolü
Kompleks yapıcılar	EDTA	Kompleks yapma, yavaşlatıcı
Dispersiyon ajanları ve yüzey aktif maddeler	Anyonik, katyonik ve noniyonik	Boyalı dağıtma, boyaların uygulamasını kolaylaştırma
Okside edici maddeler	Hidrojen peroksit, Sodyum nitrit	Boyalı çözünemez yapma
İndirgeyici maddeler	Sodyum hidrosülfid, Sodyum sülfid	Boyalı çözünebilir yapma, reaksiyona girmemiş boyanın uzaklaştırılması
Taşıyıcılar	Fenil fenoller Klorlu benzenler	Adsorbsiyonun artırılması

1.2.3.4. Renk

Tekstil atık suları bağlanmayan boya kalıntıları içerdikleri için renkli olmaktadır ve görüntü kirliliği neden olmaktadır. Alıcı ortama boşaltılan renkli atıksular estetik açıdan rahatsız edici olmasının yanında, sudaki ışık geçirgenliğini de etkileyerek ışık geçirgenliğinin azalması ise suda biyolojik hareketliliğin azalmasına veya tamamen durmasına sebep olmaktadır. Atık sudaki renk problemi sudaki canlı yaşamını olumsuz etkilemektedir (Demir A., 2000).

Atık sularındaki rengi önlemek için yasa yapıcılar bazı kısıtlamalar getirmiştir. Deşarj edilen alandaki renk parametresi 280 birimden (Pt-Co) fazla ölçülürse işletme gerekli

önlemleri alması ve düzenlemelere uyması konusunda yaptırım uygulanması kararı alınmıştır. Bu kısıtlamaları içeren kurallar Resmi Gazete’ de yayınlamıştır.

1.2.4 Tekstil Atıksularından Renk Giderimi İçin Kullanılan Arıtma Yöntemleri

Çizelge 5. Tekstil Atıksularında Kullanılan Arıtma Yöntemleri

Fiziksel Arıtma Yöntemleri	KİMYASAL ARITMA YÖNTEMLERİ	BİYOLOJİK ARITMA YÖNTEMLERİ
Membran filtrasyon İyon değişimi Radyasyon Adsorpsiyon	Oksidasyon Koagülasyon Flokülasyon	Bakteriyel arıtım Mantarlarla arıtma Alglerle arıtma

Kullanılan fiziksel ve kimyasal yöntemler genellikle membran filtrasyon, iyon değişimi, radyasyon, oksidasyon, koagülasyon, flokülasyon ve adsorpsiyondur. Fiziksel yöntemlerin basit ekipman kullanımı, yüksek KOİ giderimi, gibi avantajlarının yanı sıra yüksek yatırım ve işletme maliyeti, yüksek temizleme ihtiyacı, yüksek çamur üretimi, tüm boya türlerinde etkili olmayışı ve düşük renk giderme verimi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Biyolojik arıtma proseslerinde mantarlarla, bakterilerle ve alglerle giderim yapılmaktadır. Bunların çözünmeyen boyalarda kullanılabiliyor olması, renk gideriminde spesifik olmaması ve genellikle iyi sonuç veriyor olması gibi avantajları bulunmaktadır. Bunun yanı sıra yüksek sermaye maliyeti, büyük hacimde çamur üretimi, büyük enerji ihtiyacı, istenmeyen yan ürün oluşumu gibi dezavantajları bulunmaktadır. Tekstil endüstrisinde renk giderim işlemi için kullanılan yöntemler arasında en ideal yöntem biyolojik arıtma yöntemi olarak görülse de bazen mikrobiyal remediasyon sırasında ortama inoküle edilen mikroorganizmalar ortamda var olan popülasyonla rekabette zayıf kalmaktadır. Ayrıca mikroorganizmaların düşük büyüme hızı maliyeti arttırmaktadır. Ekstrem koşullarda da mikroorganizmalar zarar görebilmekte ya da inaktif hala gelebilmektedir. Bu gibi dezavantajlarından dolayı son yıllarda enzimatik sistemlerle arıtım tercih edilmeye başlamıştır. Enzimler ile arıtım ekstrem koşullara dayanıklılık, kısa sürede renk giderimi, istenmeyen toksik yan ürünlerin oluşumunu en aza indirebilme özellikleri ile dikkat çekmektedir. Enzimler arıtmadan sonra ortamda doğal olarak bulunan mikrobiyal popülasyonda degrede edilebilmektedir. Biyolojik arıtım yöntemlerinde ise çamur uzaklaştırılmasında ek bir işlem gerekmektedir.

Son yıllarda renk gideriminde peroksidaz, lignin peroksidaz, mangan peroksidaz, lakkaz, yaban turpu peroksidaz ve tirozinaz enzimleri kullanılmaktadır. Yaban turpu peroksidaz enziminin hidrojen peroksit varlığında aromatik azo boya ları etkili bir şekilde parçaladığı bilinmektedir (Husain, Q., 2006) (Novotny, C. vd., 2001).Renk gideriminde kullanılan enzimlerden biri olan tirozinaz ise, iki bakır iyonlu bir tip üç bakır metal enzimidir. Ayrıca farmasötik, atık su arıtımı ve gıda endüstrilerindeki geniş uygulama alanı nedeniyle en çok çalışılan enzimlerden biridir (Guan Y. vd., 2016).

1.3.Enzim İmmobilizasyonu

Enzimlerin biyoteknolojik uygulamalarda kullanılabilmeleri için uzun süre kararlı olmaları gerekmektedir. Bazı biyoteknolojik uygulamalarda (yüksek sıcaklık) enzimler aktivitelerini yitirebilmektedir. Bu durumu engellemek ve enzimin daha kararlı hale gelebilmesi için enzimler bir desteğe tutundurulması (immobilizasyonu) gerekmektedir (Çelebi M., 2013).

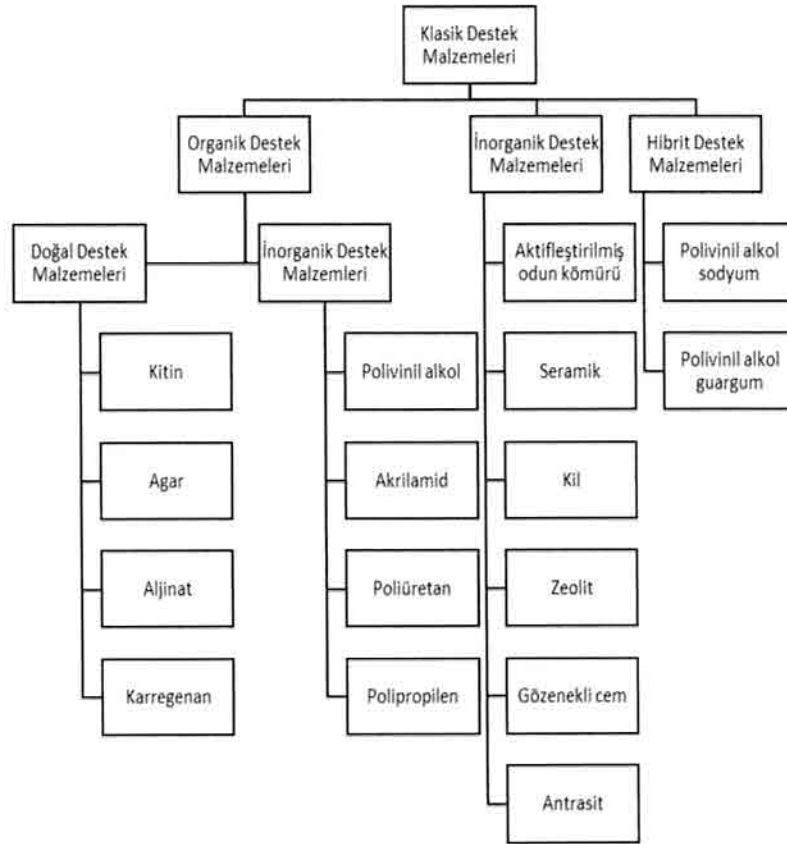
İmmobilizasyon, enzimlerin destek görevi gören malzemeler yardımıyla suda çözünmeyen hale getirilmesi işlemidir. İmmobilize edilmiş enzimlerin serbest (bir destek malzemesine tutturulamayan) enzimlere göre avantajları,

- Tekrar tekrar kullanılabilmesi,
- Ürün immobilize edilmiş enzimle kontamine olmaması,
- İmmobilize enzimler çok daha doğru bir şekilde kontrol edilebilmesi,
- Tepkimeyi durdurmak için tepkime solüsyonundan enzimi çıkarma kolaylığı,
- Kesikli proseslerde defalarca, sürekli proseslerde immobilizasyon potansiyeline bağlı olarak uzun süre kullanılabilmesi,
- Serbest enzimlere oranla yüksek kararlılığa sahip olması,
- Farklı koşullara sahip enzimlerin aynı proseste bir arada kullanılabilmesi,
- Proses koşullarına daha uzun süre dayanmaları gibi birçok avantajları bulunmaktadır.

1.3.1. Destek Malzemeleri

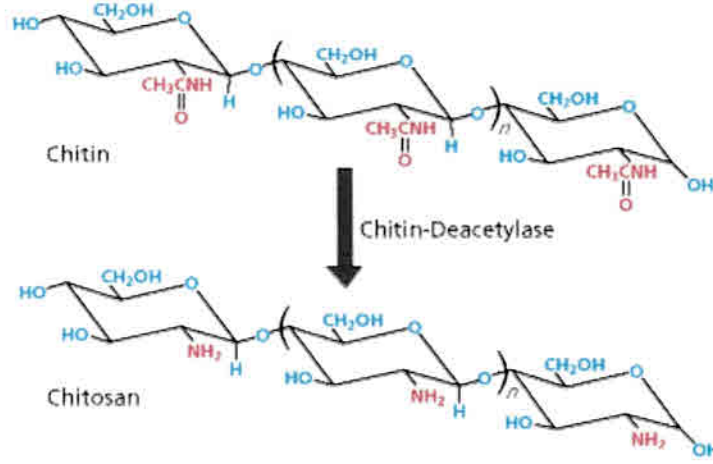
Enzimlere immobilizasyonun yapılabilmesi için bir destek materyaline ihtiyaç vardır. Destek materyal seçilirken, reaksiyon sırasında substratın ve ürünün difüzyonunu en az etkileyen, geniş yüzey alanına sahip olması gerekmektedir (Edet E. vd., 2013). Aynı zamanda materyalin maliyetinede dikkat edilmelidir aksi takdirde enzimden bile daha yüksek maliyetli olması durumunda immobilizasyonda hedeflenen verim elde edilemeyecektir (Emese B., 2012).

1.3.1.1. Klasik Destek Malzemeleri



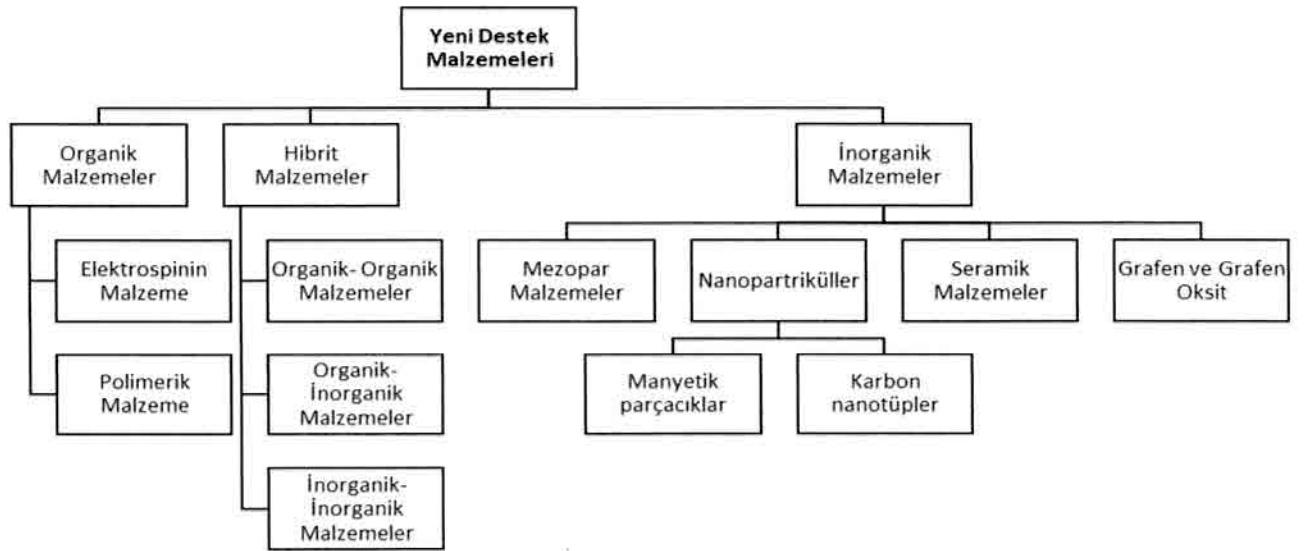
Şekil 1. Klasik Destek Malzemeleri (Zdarta J. vd., 2018)

Şekil 1’ de gösterilen klasik destek materyalleri arasında en çok kullanılanları, doğal polimerlerden olan aljinat, kitosan ve karregenandır. Kitosan, en yaygın olarak kullanılan organik destek materyallerinden biridir. Özellikle kitinin çeşitli derecelerdeki (% 40-98) alkali deasetilasyonu ile elde edilen dönüştürülmüş bir oligosakkarit olan kitosan, immobilizasyondaki avantajları nedeni ile ön plana çıkmaktadır (Şekil 2). Ucuz olması, biyo uyumlu olması, doğada çözünebilmesi, dayanıklılıklarının yüksek olması ve farklı fiziksel özelliklerde materyallerin hazırlanmasına uygun olmaları gibi daha birçok avantajları bulunmaktadır (Biro vd.,2008).



Şekil 2. Kitin ve Kitosanın Moleküler Yapısı (Özçömlekçi E., 2006)

1.3.1.2. Yeni Destek Malzemeleri



Şekil 3. Yeni Destek Malzemeleri

Klasik destek malzemelerindeki uygulanma sınırlamalar ve nispeten düşük verimliliklerinden dolayı yeni destek malzemelerine ilgi artmaktadır (Şekil 3.). Yeni destek malzemelerinden biri olan nanopartiküller üzerinde birçok çalışmalar bulunmaktadır. Nanopartiküller, enzim bağlanması için geniş bir yüzey alanı sağlayarak immobilizasyon veriminin arttırmaktadır. Diğer inorganik malzemelere göre en büyük avantajı, difüzyon sınırlamalarını en aza indirebilmesidir. Ayrıca nano yapı taşıyıcılar üzerinde hareketsizleştirilmiş enzimler daha sağlam ve kararlılırlar.

1.3.1.3. Destek Materyallerin Aktive Edilmesinde Kullanılan Bazı Ajanlar

1.3.1.3.1 Glutaraldehit

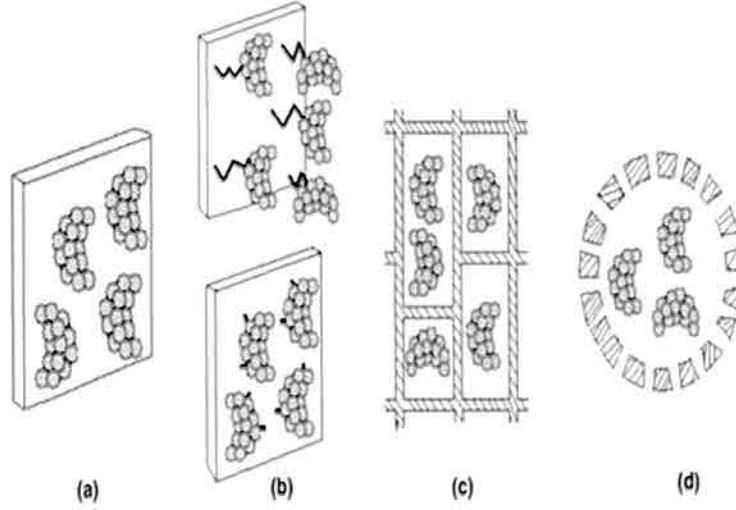
Çok sayıda aktive edici ajan ve metot bulunmasına rağmen glutaraldehit, ucuz olması ve etkili bir çapraz bağlayıcı olması nedeniyle immobilizasyon çalışmalarında çok yaygın olarak kullanılmaktadır (Elnashar vd., 2014). Glutaraldehitin en önemli avantajı hem enzimler hem de destek malzemelerinden biri olan kitosan yüzeyi üzerinde bağlanan uygun amino gruplarının bulunmasıdır (Barbosa vd., 2014). Glutaraldehit kitosanın serbest amino gruplarına bağlandığında önce Schiff bazı yapısını oluşturur. Bu yapı, glutaraldehitin serbest aldehit gruplarına sahip olan kitosan boncukların enzimlerle reaksiyonunu kolaylaştırmaktadır. Glutaraldehit ile aktive edilen kitosan yüzeylere enzimin kovalent immobilizasyonu gerçekleştirilebilmektedir (Bisschops vd., 2003). Glutaraldehit ile destek arasındaki bağların etkisiyle destek materyalde renk değişikliği oluşmaktadır. Bu renk oluşumu aktivasyonun derecesi ile ilgili bir ön bilgi vermektedir. Sarı renk düşük, portakal rengi orta kararlılıkta ve kahverengi ise yüksek aktivasyon kararlılığını ifade etmektedir.

1.3.1.3.2. Polietilenimin

Sentetik ve katyonik bir polimer Polietilenimin (PEI), olan iskeletinde primer, sekonder ve tersiyer amin grupları bulunmaktadır. PEI enzimlerin destek malzeme yüzeyinden ayrılmaması, enzimlerle reaksiyon gerçekleştirmeden önce jel yüzeylerin çapraz bağlanması amacıyla kullanılmaktadır. PEI hem destek malzemesi olarak hem de enzimlerin destek malzemesinden uzaklaşarak substratıyla daha serbest ilişki kurmasını sağlayan bir uzatıcı kol olarak kullanılmaktadır (Okazaki vd., 2002)

1.3.2. Enzimlerin İmmobilizasyon Yöntemleri

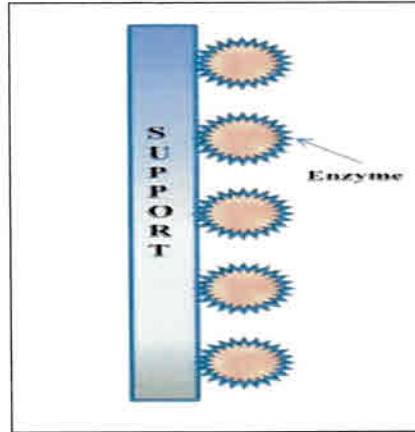
- Adsorpsiyon (a)
- Kovalent Bağlama (b)
- Çapraz bağlama
- Tuzak (c)
- Kapsülleme (d)



Şekil 4. İmmobilizasyon Destek Yöntemleri (Uygun, M. vd., 2006)

1.3.2.1. Adsorpsiyon

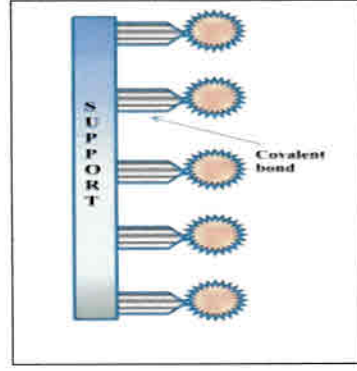
Enzim moleküllerinin taşıyıcıların yüzeyine adsorblanmaları esasına dayanır (Şekil 5.). Bu metot hem basit hem de ucuz bir metottur. Bunun yanısıra enzim sızması ve az verim elde etme gibi dezavantajları bulunmaktadır.



Şekil 5. Adsorpsiyon Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu

1.3.2.2. Kovalent Bağlama

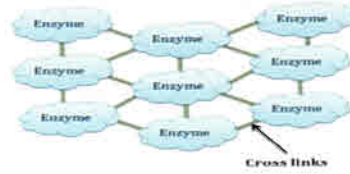
Bir ajan aracılığıyla enzimin destek materyaline immobilize edilmesidir (Şekil 6.). Enzimler taşıyıcıdan sızmaz ve ayrılmaz. Taşıyıcıyı yüzeyinde tutunan enzimler substrat ile kolaylıkla temasa geçebilir. Enzim ve taşıyıcı arasındaki güçlü etkileşimden dolayı enzim kararlılığı kolaylıkla artar.



Şekil 6. Kovalent Bağlama Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu

1.3.2.3 Çapraz Bağlanma

Çapraz bağlanma metodu ikili ya da çoklu fonksiyona sahip ajanlar aracılığıyla enzim molekülleri arasında kovalent bağların oluşumuna dayanmaktadır. Bu sayede bir destek materyal olmaksızın makro partiküller hazırlanabilmektedir (Şekil 7.). Enzimlerin taşıyıcılara immobilizasyonu sırasında doğal aktivitelerinin %50 kadarı kaybedilmektedir. Oysaki çapraz bağlı enzim kristalleri ile aktivite kaybı engellenebilmektedir.



Şekil 7. Çapraz Bağlama Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu

1.3.2.4. Tuzaklama

Enzimler yapay ya da doğal polimer kafesleri içinde fiziksel olarak tutuklanır (Şekil 8.). Polimer kafesler içine substrat girer ve ürün dışarı çıkar. Küçük ölçekte çalışması kolaydır. Ama endüstriyel proseslerde pek verimli değildir.



Şekil 8. Tutuklama Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyonu

1.3.2.5. Kapsülleme

Enzim molekülleri seçici yarı geçirgen özellikte küresel bir membran içerisinde kapsüllenmektedir (Şekil 9). Basit bir yöntem olması, ucuz olması ve ortamdan kolaylıkla uzaklaştırılabilir olması gibi avantajlarının yanı sıra yan ürün oluşumu ve sadece küçük molekülerde kullanılması gibi dezavantajları bulunmaktadır.



Şekil 9. Kapsülasyon Yöntemi ile Enzim İmmobilizasyon

Literatürde enzim immobilizasyonu yöntemi tekstil atıksularında renk giderimi için kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Literatür incelendiğinde, manyetik kitosan kil boncuklarının üzerine immobilize edilmiş tirozinaz ve peroksidaz enzimlerinin renk giderim verimine etkisi daha öncesinde araştırılmamıştır. Bu tez çalışmasında kullanılacak manyetik kitosan kil boncukları, ucuz ve renk giderim performansında yüksek olmasından dolayı tercih edilmektedir. Gerçekleştirilecek çalışmalarla ilgili konuda bilgi ve tecrübe birikimi artacaktır. Böylece ileride enzim immobilizasyon konusuyla ilgili kurulacak olan pilot ve gerçek ölçekli sistemler için ön çalışmalar yapılmış olacaktır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM (METOD)

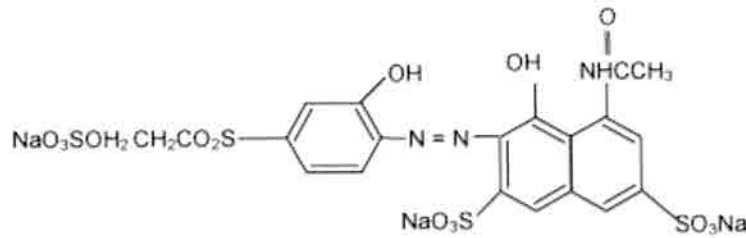
2.1. Simüle edilmiş tekstil atıksuyu bileşimi

Bu çalışma boyunca kullanılan sentetik tekstil atıksuyu Çizelge 6'da verilmiştir. Kolayca biyolojik olarak parçalanabilen karbon kaynağı sağlamak için ortama glikoz ilave edildi ve aynı zamanda azo boya remazol parlak mor 5R'nin (RBV-5R) indirgeyici bölünmesi için elektronlar sağlanmıştır.

Çizelge 6. Simüle atıksu bileşimi (Cırık K., 2010)

Kimyasal Maddeler	Miktar (mg/L)
NH ₄ Cl	80
H ₃ BO ₃	0.04
MnCl ₂ .4H ₂ O	0.5
ZnCl ₂	0.05
K ₂ HPO ₄	35
KH ₂ PO ₄	30
CaCl ₂ .2H ₂ O	367
MgCl ₂ .6H ₂ O	500
CuCl ₂ .2H ₂ O	0.038
FeCl ₃ .6H ₂ O	5
NiCl ₂ .6H ₂ O	0.092
CoCl ₂ .6H ₂ O	1
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	0.265
NaCl	127
EDTA	5.4
Remazol brilliant violet 5R	100
Glucose	1000

Bu çalışmada kullanılan boyar madde RBV-5R azo boyadır. Bu çalışmada kullanılan azo boyanın yapısı, Şekil 10'da gösterilmektedir.



Şekil 10. Azo boyanın yapısı (RBV-5R).

2.2. Deney Düzenegi

Deney düzenegi 100 mL'lik 3 farklı reaktör'de yapılmaktadır. Eşit hızla karıştırılarak belirlenen sürelerde (5-10-20-30 dk) numuneler alınır. Deney düzenegi aşağıda Şekil 11'de verilmiştir.



Şekil 11. Deney Düzenegi

2.3. Deneysel Plan

Tez kapsamında laboratuvar ölçekli yapılacak olan çalışmalarda Çizelge 7' deki deneysel plan kullanılmıştır ve bu deneysel plan doğrultusunda yöntemler geliştirilecektir.

Çizelge 7. Deneysel Plan

İŞ PAKETLERİ	ÇALIŞMALAR			
İP.1	Kullanılacak Malzemelerin Tedarik Edilmesi ve Reaktör Kurulumu			
İP.2	Manyetik Kitosan Kil Boncuğun Hazırlanması			
İP.3	Enzimlerin Aktivite Tayini			
		pH	Sıcaklık (°C)	Süre (dk)
İP.4	pH'ın Etkisinin Araştırılması	5	25	0-30
		7		
		10		
İP.5	Sıcaklık Etkisinin Araştırılması	Opt.	25	0-30
			35	
			45	

İş Paketi 1: Bu iş paketinde çalışmada kullanılacak olan malzemelerin tedarik edilmesi ve reaktör kurulumu gerçekleştirilmiştir.

İş Paketi 2: Bu tez çalışmasında, manyetik kitosan-kil boncuklar üzerinde hareketsiz hale getirilecek tirozinaz ve peroksidaz enzimleriyle, sentetik tekstil atıksuyun renk giderim performansları karşılaştırılmıştır. Bunun için öncelikle Fe_3O_4 nanopartiküller $Fe_2+(FeSO_4 \cdot 7H_2O)$ ve $Fe_3+(FeCl_3 \cdot 6H_2O)$ iyonlarının amonyak solüsyonunda birlikte çökeltmesi ile hazırlanmıştır. (Yuanbi Z. vd.,2008).

Manyetik kitosan-kil boncuklarını hazırlamak için 2 gr kitosan pulları asetik asit (100 ml) içinde çözülüp, 1gr kil ve 1gr manyetik Fe_3O_4 kitosan çözeltisine ekleyerek oda sıcaklığında manyetik karıştırma ile çalkalanmıştır.10 dakika sonra viskoz çözelti, hava kabarcıklarını çıkarmak için ultrasonik bir banyoya yerleştirilip manyetik kitosan-kil solüsyonu bir şırıngadan soğuk TPP solüsyonuna (pH 8.2) damlatılıp 4 saat karıştırılmıştır. Daha sonra boncuklar nötr hale gelene kadar deiyonize su ile yıkayıp daha sonra kullanılmak üzere deiyonize suda saklanmıştır.

Tirozinaz ve peroksidaz enzimleri, glutaraldehit ile kovalent olarak manyetik kitosan-kil kompozit boncuklar üzerinde immobilize edilmiştir. (Chang TMS., 1971). Yeterli kompozit (1 g) glutaraldehit içine yerleştirilip ve 4 saat boyunca 150 rpm'de ve 30°C'de çapraz bağlandıktan sonra boncuklar, fazla glutaraldehydi uzaklaştırmak için birkaç kez deiyonize su ile yıkanmıştır. 2.5 ml enzim çözeltisine (2 mg/ml) bir miktar

boncuk (0.05g) ilave edilip ve hareketsizleştirme reaksiyonu, 25°C'de 4 saat boyunca bir döner çalkalayıcıda gerçekleştirilmiştir. Boncuklar 0.05 M asetat tamponla yıkanıp ve tekrar kullanılabilecek kadar 4° C'de asetat tamponunda saklanmıştır.

İş Paketi 3: Tirozinaz ve peroksidazın aktivitesi, 25°C'de 0.05 M sodyum asetat tamponunda (pH 4.0) substrat olarak 1 mM ABTS ile $\lambda_{maks}= 420$ nm'de spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. (Bourbonnais vd., 1992). Bir birim enzim aktivitesi, dakikada 1 μ mol ABTS'yi oksitlemek için gereken enzim miktarı olarak tanımlayıp hareketsizleştirilmiş enzimin aktivite geri kazanımı aşağıdaki formülden hesaplanmıştır:

$$R (\%) = \left(\frac{A_i}{A_f} \right) * 100$$

Denklem 1

Burada R, immobilize enzimin (%) aktivite geri kazanımıdır, A_i , immobilize enzimlerin aktivitesidir ve A_f , destek üzerinde immobilize edilenle aynı miktarda serbest enzimin solüsyondaki aktivitesidir. Çözeltilerin protein içeriği, protein standardı olarak sığır serum albümini (BSA) kullanılarak Bradford deneyine (Bradford 1976) dayalı olarak Bio-Rad Protein Deneyi (Bio-Rad, ABD) ile belirlenmiştir.

İş Paketi 4: Bu iş paketinde pH' ın giderim üzerindeki etkisi 5-7-10 pH aralığında belirli aralıklarla numune alınarak araştırılmıştır.

İş Paketi 5: Termal stabilitenin belirlenmesi için hareketsizleştirilmiş enzimler, asetat tamponunda (0.05 M, pH 5.0) 120 dakika süreyle 60 ve 70°C'de inkübe edildikten sonra kalan enzim aktiviteleri ölçülerek incelenmiştir. Sıcaklığın giderim üzerindeki etkisi, 25-35 ve 45°C sıcaklıklarda belirli aralıklarla numune alınarak ölçülerek hesaplanmıştır.

2.4. Analizler

Tez kapsamında gerçekleştirilmesi hedeflenen tüm analizler amaçları ve yöntemleri ile birlikte aşağıda verilmiştir.

Tekstil endüstrisi atıksuyu arıtılabilirlik çalışmaları boyunca sistem performansını değerlendirmek amacıyla; pH, sıcaklık ve renk, parametreleri anlık olarak takip edilmiştir.

pH, Sıcaklık ölçümü: pH ve sıcaklık ölçümleri WTW marka prob (WTW Multi 340i, Weilheim, Almanya) ile gerçekleştirilmiştir.

Renk Analizi: Proje kapsamında Pt-Co ve RES olmak üzere 2 farklı renk ölçüm metodu kullanılmıştır. Renk analizleri HACH DR 5000 (Loveland, CO., ABD) spektrofotometrede gerçekleştirilmiştir. Analizi yapılacak tüm sıvı numuneler analiz öncesinde Hermle Z 200A marka santrifüj cihazında (Labortechnik, Wehingen, Almanya) 4000 rpm’de 10 dk santrifüj edilecek ve santrifüj edilip faz ayrımının sağlandığı numuneler Pt-Co ve RES metodu ile analiz edilmiştir.

Pt-Co metodu ile renk analizi: Belirlenen zaman aralıklarında alınan 10 ml atıksu numuneleri HACH-DR 5000 spektrofotometreye yerleştirilerek 125 nolu program seçilmiştir. Kör numune olarak saf su içeren küvet numune haznesine konularak cihaz sıfırlanmıştır. Sıfırlanma işlemi sonrasında kör hazneden çıkarılarak numune konulacak ve okuma işlemi tamamlanmıştır.

RES metodu ile renk ölçümü: Santrifüj işleminden geçirilmiş numune 1 inç’lik numune küvetlerine konulmuştur. Numunelere benzer şekilde kör numunesi olarak numune küvetine saf su konularak spektrofotometreye yerleştirilmiştir. Kör numune cihaza yerleştirildikten sonra sıfırlama işlemi gerçekleştirilmiştir. RES analizlerinin yapılacağı farklı dalga boyları (436 nm, 525 nm ve 620 nm) seçilerek ölçüm yapılmıştır. Farklı dalga boylarında elde edilen ABS değerleri kaydedilerek aşağıdaki formüle göre RES değerleri hesaplanmıştır (EN ISO 7887).

$$\alpha(\lambda) = \frac{A}{d} \times f$$

Denklem 2

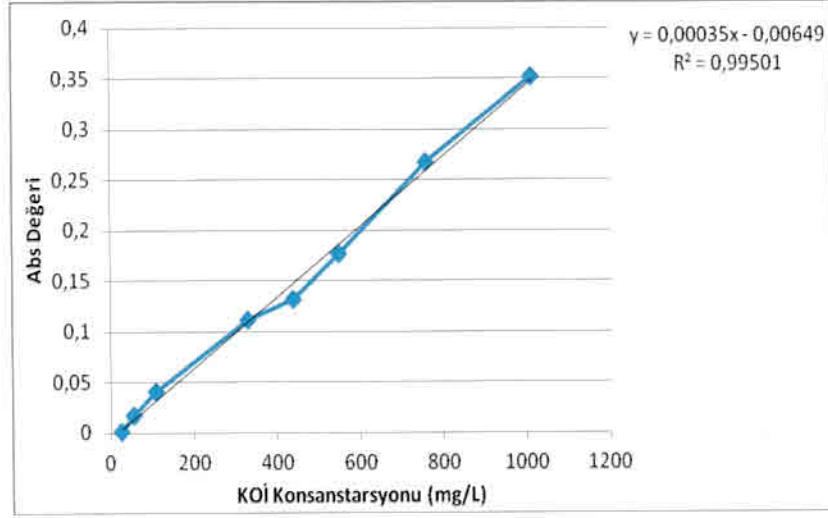
A: λ dalga boyunda su numunesinin absorbansı: Küvet kalınlığı (mm) f: Spektral Absorpsiyon değerini m^{-1} biriminde elde etmek için faktör, $f=10000$

$\alpha(\lambda)$: Spektral Absorpsiyon katsayısı (m^{-1})

Kimyasal oksijen ihtiyacı tayini (KOİ, mg/L): 2,5 ml alınan numune üstüne 1,5 ml parçalama çözeltisi (15,324 gr $K_2Cr_2O_7$, 49,95 gr $HgSO_4$ ve 250,5 gr H_2SO_4 balon jojeye eklenerek 1000 ml ye tamamlanmış) ve 3,5 ml sülfirik asit-civa sülfat çözeltisi (10,12 gr Ag_2SO_4 balon joje içerisinde 1000 ml’ ye H_2SO_4 ile tamamlanmış) eklenerek termoreaktörde (ECO 16 Thermoreaktör, Velp Scientifica, Milano, İtalya) 150 °C’ de 2

saat bekledikten sonra 600 nm’ de HACH-DR 5000 marka spektrometrede (Hach-Lange, Dusseldorf, Germany) 600 nm’ de absorbans değeri okutulmuştur. Sonuçların okunmasında 0-1000 mg/L aralığında potasyum hidrojen ftalat ile yapılan korelasyon eğrisi kullanılmıştır. (Şekil 12)

KOİ tayini için kullanılan korelasyon eğrisi ve denklemi:



Şekil 12. KOİ tayini için oluşturulan korelasyon eğrisi

Korelasyon eğrisi sonucu elde edilen denklem ise;

$$x = [y + 0,00649] / 0,00035$$

Denklem 3

olarak ifade edilmiştir. Burada ;

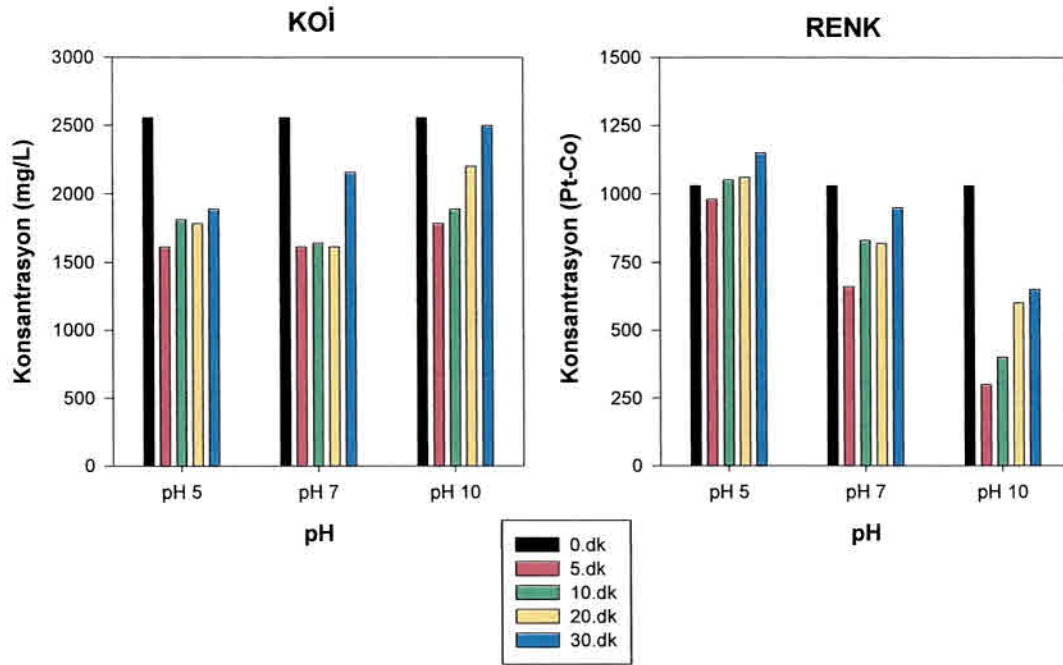
x: Kimyasal oksijen ihtiyacı konsantrasyonu (mg/L)

y: Spektrofotometrede okunan Abs değerini ifade etmektedir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1. pH'ın Giderim Verimine Etkisinin Araştırılması

Bu aşamada sentetik tekstil atıksuyunun immobilize enzim ile reaksiyona girdiğinde pH'ın arıtım verimine etkisi incelenmiştir. pH ortamın asit bazlığını belirleyen bir parametredir. Enzimlerin genellikle optimum pH değeri 5-10 arasındadır. Bunun yanı sıra bazı enzimler daha asidik veya bazik ortamda maksimum verime ulaşabilirler (Morellon S. ve ark., 2022). Han F. ve ark., (2020) yaptıkları çalışmada pepsin enziminin pH 2'de maksimum giderim verimine ulaştığını gözlemlemişlerdir. Yapılan çalışma göz önüne alınarak optimum pH'ın belirlenmesi için pH değerleri 5-7-10 olarak seçilmiştir.



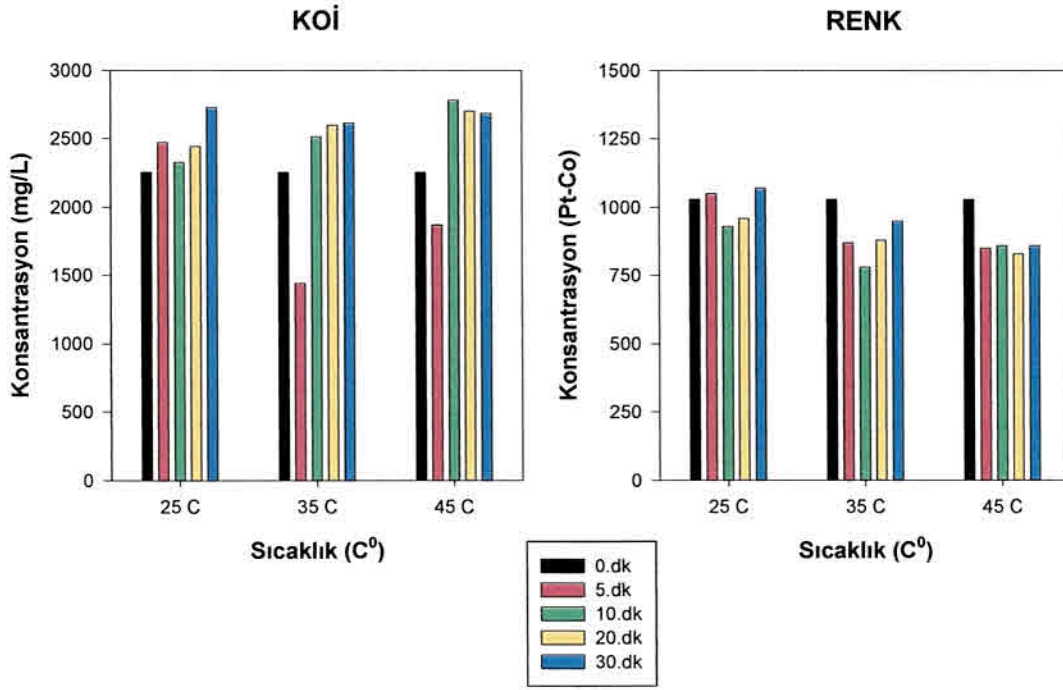
Şekil 13. pH'ın giderim verimine etkisi

Giriş KOİ ve renk değerleri sırasıyla 2556 mg/L, 1030 Pt-Co'dır. KOİ ve renk bakımından bütüncül olarak değerlendirildiğinde arıtım verimleri pH 10'da 5.dk'da %30 ve %61 iken buna karşılık gelen KOİ ve renk değeri 1785 mg/L, 400 Pt-Co olarak gözlemlenmiştir. Tirozinaz enzimi arıtım performansı beklenilenin altında olduğundan sonuç kısmında veriler belirtilmemiştir.

3.2. Sıcaklığın Giderim Verimine Etkisinin Araştırılması

Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde Çelebi M. ve ark., (2013) immobilize peroksidaz enzim kullanılarak farklı sıcaklıklarda 60 dakika boyunca R-aktif Blue 19 boyasının giderim verimini incelemiş ve boya giderme veriminin maksimum 30-

50°C’de olduğu sonucunu elde etmişlerdir. Benzer şekilde Sökmen B., ve ark., (2018) immobilize tirozinaz enzimine sıcaklığın etkisini incelemişlerdir ve 35-50°C’de arıtım veriminin %47’ye ulaştığını gözlemlemişlerdir. Bu bilgilerden yola çıkarak peroksidaz enziminin maksimum arıtım veriminin hangi sıcaklıklarda gerçekleşeceğini belirlenmesi adına Şekil 14’de 25-35 ve 45 °C’de KOİ ve renk giderim verimleri test edilmiştir.



Şekil 14. Sıcaklığın giderim verimine etkisi

Giriş KOİ ve renk değerleri sırasıyla 2556 mg/L, 1030 Pt-Co’dır. KOİ ve renk bakımından bütüncül olarak değerlendirildiğinde arıtım verimi 35°C sıcaklıkta 5.dk’da %44 ve %56 iken buna karşılık gelen KOİ ve renk değeri 1442 mg/L, 450 Pt-Co olarak gözlemlenmiştir. Tirozinaz enzimi arıtım performansı beklenilenin altında olduğundan sonuç kısmında veriler belirtilmemiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı; laboratuvar şartlarında enzim manyetik kil boncuğa immobilize edilerek değişen işletme koşullarında tekstil atıksuyuna uygulanıp fizikokimyasal olarak arıtımının incelenmesidir. Sistem birbirinden ayrı birkaç reaktör kurularak belirli çalışma parametreleri incelenmiştir. Arıtılabilirlik çalışmaları sonuçları; immobilize enzim farklı sıcaklık, pH ve hidrolik bekletme sürelerinde işletilerek tekstil atıksuyu arıtılabilirliği test edilmiştir ve elde edilen sonuçlar aşağıda özetlenmektedir.

- ❖ Laboratuvar koşullarında yeni bir yöntem olan enzim immobilizasyonu elde edilmiştir.
- ❖ Reaktör için optimum koşullar sıcaklık (35°C), hidrolik bekleme süresi (5 dakika) ve pH 10 olarak belirlenmiştir.
- ❖ Optimum koşullarda, en yüksek giderim verimliliği KOİ için %44 ve renk için %56 olarak belirlenmiştir.
- ❖ Bu çalışma fizikokimyasal arıtım için alternatif bir arıtma tekniği sunmaktadır.

KAYNAKÇA

Aydemir, T., & Güler, S. (2015). Characterization and immobilization of *Trametes versicolor* laccase on magnetic chitosan–clay composite beads for phenol removal. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 43(6), 425-432.

Barbosa, O., Ortiz, C., Berenguer-Murcia, Á., Torres, R., Rodrigues, R. C., & Fernandez-Lafuente, R. (2014). Glutaraldehyde in bio-catalysts design: A useful crosslinker and a versatile tool in enzyme immobilization. *Rsc Advances*, 4(4), 1583-1600.

Bisschops, I., & Spanjers, H. (2003). Literature review on textile wastewater characterisation. *Environmental technology*, 24(11), 1399-1411.

Bourbonnais, R., & Paice, M. G. (1992). Demethylation and delignification of kraft pulp by *Trametes versicolor* laccase in the presence of 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonate). *Applied Microbiology and biotechnology*, 36, 823-827.

Celebi, M., Kaya, M. A., Altikatoglu, M., & Yildirim, H. (2013). Enzymatic decolorization of anthraquinone and diazo dyes using horseradish peroxidase enzyme immobilized onto various polysulfone supports. *Applied biochemistry and biotechnology*, 171, 716-730.

Chang, T. M. (1971). Stabilisation of enzymes by microencapsulation with a concentrated protein solution or by microencapsulation followed by cross-linking with glutaraldehyde. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 44(6), 1531-1536.

Edet, A. E., Patrick, E. E., & Eseyin, A. O. (2013). Hematological parameters of alloxan-induced diabetic rats treated with ethanol extracts and fractions of *Nauclea lafilioia* leaf. *European Scientific Journal*, 9(27).

Han, F., (2020). Ferrosen küpeli çitosanın enzim immobilizasyonu Doktora Tezi. Medeniyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, 47.s.

Iwai, Y., Ishida, M., Tanaka, Y., Okazaki, T., Honjo, T., & Minato, N. (2002). Involvement of PD-L1 on tumor cells in the escape from host immune system and tumor immunotherapy by PD-L1 blockade. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(19), 12293-12297.

Kozak, M., Cırık, K., Dolaz, M., & Başak, S. (2021). Evaluation of textile wastewater treatment in sequential anaerobic moving bed bioreactor-aerobic membrane bioreactor. *Process Biochemistry*, 105, 62-71.

Morellon-Sterling, R., Tavano, O., Bolivar, J. M., Berenguer-Murcia, Á., Vela-Gutiérrez, G., Sabir, J. S., Fernandez-Lafuente, R., (2022). A review on the immobilization of pepsin: A Lys-poor enzyme that is unstable at alkaline Ph values. *International Journal of Biological Macromolecules*, 235, 432-437.

Pekdemir, M., Yılmaz, S., Dündar, D. Ö., & Uygun, M. (2006). Acil servisten istenen idrar kültür ve antibiyogramlarının analizi. *Turkish Journal of Emergency Medicine*, 6(4), 154-157.

Sökmen, B., Yılmazoğlu, B., (2017) Tirozinaz enziminin giresun yöresinde yetişen yenilebilir kanlıca mantarından saflaştırılması ve karakterizasyonu. *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, Trabzon*, 8, 10-23.

Sunna, Ç., (2021). Lipaz ve peroksidaz enzimlerinin ko-immobilizasyonu ve endüstriyel atıkların arıtılmasında kullanılmasının araştırılması. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 58, 72-81.

Yuanbi, Z. H. A. O., Zumin, Q. I. U., & Huang, J. (2008). Preparation and analysis of Fe₃O₄ magnetic nanoparticles used as targeted-drug carriers. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 16(3), 451-455.

Zheng, Y., Tabbaa, Z. M., Khan, Z., Schoolmeester, J. K., El-Nashar, S., Famuyide, A., ... & Daftary, G. S. (2014). Epigenetic regulation of uterine biology by transcription factor KLF11 via posttranslational histone deacetylation of cytochrome p450 metabolic enzymes. *Endocrinology*, 155(11), 4507-4520.