

# *Aspergillus niger* ile sucul ortamdan fenol bileşiklerinin biyosorpsiyonu

İlknur GÜLER ŞENTÜRK, Hanife BÜYÜKGÜNGÖR\*

Ondokuz Mayıs Üniversitesi, Çevre Mühendisliği Bölümü, 55139, Kurupelit, Samsun

## Özet

*Alıcı ortam için 1 µg/l gibi düşük konsantrasyonda bile oldukça toksik bir madde olan fenolik bileşiklerin toksisitesinden dolayı Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Örgütü (EPA) ve Avrupa Birliği fenollerini birincil kirletici olarak adlandırmaktadır. Son yıllarda halk sağlığı ve çevre kalitesi konusunda artan ilgi belirli kirleticilerin kabul edilebilir çevresel seviyelere getirilmesi konusunda sınırlamaların getirilmesine yol açmıştır. Bu yüzden atıksulardan fenollü bileşiklerin giderilmesi büyük bir çevresel problem olmaktadır. Özellikle de biyosorpsiyon, atıksu ve sucul çözeltiler, proses atıksuları ve içme sularının büyük hacimlerinden düşük konsantrasyonlu organikler ve diğer kirleticilerin giderimi için iyi bilinen bir tekniktir. Bu amaçla fenol ve klorofenollerin, endüstriyel atıksulardan ileri bir arıtım yöntemi olan biyosorpsiyon yöntemiyle giderimi üzerine farklı parametrelerin etkilerini incelemek amacıyla ayrıntılı bir çalışma yürütülmüştür. Demir-çelik endüstrileri, petrol, pestisit, boya, çözücü, ve diğer kimyasal proses endüstrilerinin en önemli hammaddelerinden olan fenol ve türevlerinin canlı *Aspergillus niger* ile biyosorpsiyonu incelenmiştir. Fenol, 2-klorofenol (2-KF) ve 4-klorofenol (4-KF)'ün biyosorpsiyonu üzerine biyokütle konsantrasyonu, başlangıç pH'ı, başlangıç fenol ve klorofenol konsantrasyonu ve temas süresi gibi deneysel parametrelerin etkileri araştırılmıştır. Arıtım sonucunda fenol ve 2-KF 48 saat içinde dengeye ulaşırken 4-KF 96 saatlik biyosorpsiyon işleminden sonra dengeye ulaşmıştır. Denge sonunda her üç bileşik için de düşük kirletici konsantrasyonlarında % 90'nın üzerinde giderim verimi elde edilmiştir. Ayrıca yapılan izoterm çalışmaları sonucunda fenol, 2-KF ve 4-KF biyosorpsiyon mekanizmasını en iyi tanımlayan modelin Langmuir izoterm modeli olduğu bulunmuştur.*

**Anahtar Kelimeler:** *Biyosorpsiyon, fenol, 2-klorofenol, 4-klorofenol, Aspergillus niger.*

\*Yazışmaların yapılacağı yazar: Hanife BÜYÜKGÜNGÖR. hbuyukg@omu.edu.tr; Tel: (362) 312 19 19 dahili: 1220. Makale metni 29.10.2009 tarihinde dergiye ulaşmış, 30.10.2009 tarihinde basım kararı alınmıştır. Makale ile ilgili tartışmalar 30.06.2010 tarihine kadar dergiye gönderilmelidir.

## **Biosorption of phenol compounds from aqueous solutions by the *Aspergillus niger***

### **Extended abstract**

Most of phenol compounds are recognized as organic contaminants in environmental systems (Bilgili, 2006). Phenols may occur in domestic and industrial wastewater, natural water, and potable water supplies during the chlorination of water and sewage, phenol is readily transformed into chlorophenols. Chlorinated organic compounds are a major source of pollution. Chlorophenols are used extensively in the manufacture of fungicides, herbicides, insecticides, pharmaceuticals, preservatives, glue, paint, fibers, leather, and as intermediates in chemical synthesis (Nadavala et al., 2009). Industrial sources of pollutants such as phenolic resin production (400 mg/L), refineries (50 mg/L), shale dry distillation (200 mg/L) and naphthalenic acid production (12 mg/L), etc. generate large quantities of phenols (Hameed, 2008).

These compounds impart unpleasant taste and odor even at low concentrations in water and can exert negative effects on different biological processes. Also they cause serious environmental problem since biological degradation of phenolics occurs too slowly or does not occur at all. Phenolic compounds are one of them and of great concern because they are toxic and are known to be carcinogenic when present at elevated levels in the environment (Mangrulkar, 2008; Hamdaoui ve Naffrechoux, 2007). The European Union and US Environmental Protection Agency have listed phenol and phenolic compounds on the priority-pollutants list (Gomez et al., 2009) and the 80/778/EC directive lays down a maximum concentration of 0.5 mg/L for total phenols in drinking water (Hamdaoui ve Naffrechoux, 2009). Thus, the removal of phenols from such streams is considered to be necessary before discharging to the environment (Bilgili, 2006).

Different methods designed to remove phenols have been projected. The methods include, biological treatment, reverse osmosis, physicochemical method, solvent extraction, activated carbon, adsorption, chemical oxidation, photodegradation, coagulation flocculation, etc. are commonly used techniques for removing phenols and associated organic substances (Hameed et al., 2008; Radhika and Palanivelu, 2006). Although these wastewaters can be treated effectively by conventional physical and

chemical techniques, such treatments are very complex and expensive (Bódalo vd., 2006).

Biosorption, in particular, is a well-established technique for the removal of low concentrations of organic and other pollutants from large volumes of potable water, process effluents, wastewater, and aqueous solutions. A detailed study was conducted to investigate the effects of the parameters on the removal of phenol and its derivatives via biosorption method which are sophisticated treatment methods.

The aim of this study is to determine the usage potential of the live *A. niger* as biological material for the removal of phenol (Ph), 2-chlorophenol (2-CP) and 4-chlorophenol (4-CP) from aquatic mediums. The effects of experimental parameters such as biomass concentration, the initial pH, initial phenol and chlorophenol concentration and contact time on the biosorption of Ph, 2-CP and 4-CP were investigated.

After the treatment process, it is found out that Ph and 2-CP reached equilibrium in 48 hour, where as 4-CP reached equilibrium following a 96 hour biosorption time. At the end of the equilibrium, 90 % removal efficiency was obtained for each of the three compounds at the low contaminant concentrations. Langmuir and Freundlich isotherm models were analyzed for biosorption of Ph, 2-CP and 4-CP and it was found that Langmuir isotherm model was the best model for the biosorption.

The data obtained in this study show clearly that the initial pH, *A. niger* concentration, the initial phenol and chlorophenol concentration and contact time are very important parameters for the removal efficiency. As a result of a batch system study, it is found out maximum biosorption rate for phenol, 2-CP, and 4-CP at 10 g/L *A. niger* concentration at natural pH were obtained.

The experimental results indicated that the biomass dosage and initial phenol and chlorophenol concentration were important parameters affecting the adsorption capacity that increased with decreasing biomass dosage. Biosorption capacity rose with increasing phenol and chlorophenol concentration. However, it resulted in a reduction of biosorption capacity which suggested inhibitory effect of phenol on biomass activity when phenol concentration was raised above specific concentration.

**Keywords:** Biosorption, phenol, 2-Chlorophenol, 4-Chlorophenol, *Aspergillus niger*.

## Giriş

Halk sağlığı ve su kalitesi açısından dikkat edilmesi gereken bir atık türü de demir-çelik endüstrileri, petrol, petro-kimya, kömür işleme, fenol üretim endüstrileri, reçine üretimi, pestisit, boya, çözücü, ilaç, ahşap koruyucu kimyasallar, kağıt ve kağıt hamuru ve diğer kimyasal proses endüstrilerinin en önemli hammaddelerinden olan fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenoldür (Aksu ve Yener, 1998). Fenoller yüksek toksisitesi, yüksek oksijen ihtiyacı (teorik olarak, 2,4 kg O<sub>2</sub>/kg fenol) ve düşük biyolojik parçalanma özelliğinden dolayı Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Örgütü (EPA) ve Avrupa Birliği tarafından birincil kirletici olarak adlandırılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından fenoller için sulara izin verilebilir konsantrasyon 0.001 mg/L ve izin verilebilecek maksimum konsantrasyon 0.002 mg/L olarak belirlenmiştir. 1 µg/L gibi düşük konsantrasyonda bile içme suyunda önemli tat ve koku problemleri yaratır ve organizmalara zarar verir. Fenollü bileşiklerin çoğu insan sağlığına zarar verici potansiyele sahip oldukları için tehlikeli kirletici olarak sınıflandırılır. Bu sebeple fenolik maddeler alıcı su ortamlarına deşarj edilmeden önce dikkatli arıtım gerektiren çok yaygın organik kirleticiler arasındadır. Bu yüzden, proseslerden ya da atık akımlarından fenollerin imhası ya da giderimi önemli bir çevresel problem olmuştur. Geleneksel olarak biyolojik arıtım, aktif karbon adsorpsiyonu, biyosorpsiyon, iyon değişirme, ozon ile kimyasal oksidasyon ve çözücü ile ayırma atıksudan fenol ve türevlerini gidermek için çok yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir (Hamdaoui ve Naffrechoux, 2007).

Fenolün giderimi için önerilen çeşitli teknikler arasında biyolojik arıtım çevreye dost, pratik ve ekonomik olarak gösterilmektedir. Biyolojik arıtım fenolün tamamen mineralize olmasına ve ürünlerin daha az zararlı bir forma dönüşmesine yol açar. Büyüme için enerji ve karbon kaynağı olarak fenolü kullanma yeteneğinden dolayı fenolün parçalanmasında sayısız mikroorganizma kullanılmaktadır (Hsieh vd., 2008).

Son yıllarda biyolojik arıtım yöntemlerinden birisi olan biyosorpsiyon yöntemiyle fenol ve

klorofenol giderimi konusunda yapılan çalışmaların sayısında artış görülmektedir. Bu nedenle biyolojik materyal olarak *Aspergillus niger* (bir mantar türü) seçilerek endüstriyel atıksularda bulunan fenol ve türevlerinin giderilmesine yönelik bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada endüstriyel atıksularda bulunan fenol ve klorofenol bileşiklerinin biyosorpsiyon yöntemiyle giderilmek istenmesi durumunda biyosorpsiyon işlemi üzerinde etkili olan pH, temas süresi, biyokütle miktarı ve kirletici konsantrasyonu gibi parametrelerin etkisi araştırılmıştır.

## Materyal ve metot

### Mikroorganizma ve yetiştirme koşulları

Deneylerde kullanılan bir fungus türü olan *Aspergillus niger* (RSHMB-04017) Refik Saydam Hıfzısıhha Başkanlığı'ndan temin edilmiştir. *A. Niger*, damıtık suda dekstroz (20 g/L), pepton (10 g/L) ve maya ekstraktı (3 g/L) içeren bir sıvı büyüme ortamına aşılmalıdır. Sıvı besiyerinin 100 mL'si 250 mL'lik erlene konmuştur. Daha sonra *A. niger* sıvı besiyerine ekilmiştir. Ekim işleminden sonra *A. niger* kültürü 125 rpm'e ayarlanmış döner çalkalayıcıya yerleştirilerek 25°C'de 3-4 günlük inkübasyondan sonra kültürlenmiştir (Kapoor ve Viraraghavan, 1998).

### Biyosorpsiyonda kullanılan mikroorganizmanın hazırlanması

Çalışmalar esnasında canlı *A. niger* biyokütle olarak kullanılmıştır. Yumaklar halinde büyüme gösteren *A. niger* kültürü 3-4 günlük inkübasyondan sonra santrifüj işleminden geçirilerek ıslak biyokütle tartıma hazır hale getirilmiştir. Toplanan canlı *A. niger* hücreleri hiç bekletilmeden deneylerde kullanılmıştır.

### Fenol/2-klorofenol/4-klorofenol çözeltilerinin deneysel çalışmalar için hazırlanması

Stok fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenol çözeltileri 1 g/L derişimde olacak şekilde saf kimyasalların tartılıp saf su içerisinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Deneylerde kullanılacak çözeltiler istenilen derişime uygun şekilde, stok çözeltilerinden seyreltme yapılarak elde edilmiştir. Bütün çözeltiler kullanmadan önce +4°C'de karanlıkta bekletilmiştir.

### Analiz yöntemleri

Belli zaman aralıklarında alınan örneklerden, biyosorpsiyon ortamında adsorplanmadan kalan fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenol derişimi mg/L cinsinden, bu bileşiklerin 4- amino-antipirin ile oluşturduğu renkli kompleks yardımıyla spektrofotometrik olarak saptanmıştır (Kargı ve Konya, 2006; APHA, 1995).

### Deneysel çalışmalar

Denge zamanını belirlemek için 28 °C'de canlı *A. niger* biyokütle ile kesikli kinetik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. 250 mL'lik erlenler içerisine konsantrasyonu bilinen çözeltilerden 100 mL alınarak içlerine 0.25 g'lık artışlarla 0.25 ve 1.00 g arasında değişen ıslak biyokütle ilave edilmiştir. Fenol, 2-KF ve 4-KF ile yapılan bütün çalışmalarda maksimum verimlilikten dolayı doğal pH'da (5-6) çalışılmıştır. Çalışma sırasında erlenlerin ağızları, biyosorpsiyon çözeltilerinin buharlaşmasını önlemek amacıyla kapatılmış ve sabit sıcaklık ve karıştırma hızının sağlandığı 125 rpm'e ayarlanmış çalkalayıcıya yerleştirilmiştir. Biyosorpsiyon öncesi kirletici derişimi tayin edilmiştir. Adsorban maddenin çözeltiliye eklendiği an t=0 anı olarak alınmıştır. Biyosorpsiyon sırasında belirli zamanlarda alınan örnekler 0.45 µm'lik selüloz asetat membran filtre ile filtrelenmiştir. Filtreleme işleminden sonra Standart metotlara (Metot 5530) göre direk fotometrik metot kullanarak adsorplanmadan kalan fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenol konsantrasyonları spektrofotometrik (T70 UV/VIS Spectrometer) olarak analiz edilmiştir.

Tüm deneyler en az iki defa, gerekli durumlarda ikiden daha fazla, tekrar edilerek analiz sonucunda elde edilen verilerin ortalaması alınmıştır. t süre sonunda alınan örneklerde *A. niger*'in biyosorpsiyon kapasitesi aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$q = \frac{V(C_o - C_e)}{m} \quad (1)$$

Burada q; t süre sonunda mikroorganizmanın kirliliği biyosorplama kapasitesini (mg/g), V çözeltili hacmini (L), C<sub>o</sub> çözeltildeki başlangıç

kirletici konsantrasyonunu (mg/L), C<sub>e</sub> t süre sonunda çözeltildeki kirletici konsantrasyonunu (mg/L), m ise mikroorganizma miktarını (g) ifade etmektedir.

Çalışmalarda kullanılan  $q_{eq}$  ifadesi ise denge anında biyokütle üzerine adsorblanan miktarı (mg/g) vermektedir.

### Deneysel sonuçlar

#### pH'nın verime etkisinin incelenmesi

pH denemeleri sentetik olarak hazırlanan 50 mg/L'lik fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenol çözeltileri ile yapılmıştır. Biyokütle ortama katılmadan önce sentetik olarak hazırlanan çözeltilerin pH değerleri NaOH ve H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözeltileri kullanılarak istenilen pH aralığında ayarlanmıştır. Daha sonra, her bir deneme için 100 mL sentetik atıksu karışımındaki oran 10.0 g canlı *A. niger*/L atıksu olacak şekilde hazırlanan biyokütle ile muamele edilmiştir. Hazırlanan karışım 24 saat süresince 125 rpm karıştırma hızında ve 28 °C'de bekletilmiştir. Bekleme süresi sonunda alınan numuneler analiz edilerek en yüksek verimin alındığı pH değeri belirlenmiştir.

Ortam pH'ı mantarın hücre duvarının fonksiyonel gruplarının (karboksil, fosfat ve amino grupları) iyonizasyon durumunu ve fenol ya da klorofenollerin çözünürlüğünü etkiler. Amino grupları, mantarın potansiyel yiyici görevi gören hücre duvarından fenol ve klorofenollerin geçmelerini sağlayacak pozitif yükleri taşıdıkları için biyosorpsiyon çalışmalarında maksimum verimin alındığı pH değerinin belirlenmesi önemli bir aşamadır (Denizli vd., 2005). Literatür araştırmaları da pH'nın, biyokütlenin biyosorpsiyon özelliklerini etkileyen önemli bir faktör olduğunu göstermiştir.

#### Başlangıç pH'sının fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenol biyosorpsiyonu üzerine etkisi

50 mg/L başlangıç konsantrasyonundaki fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenol ile yapılan pH çalışmaları sonucunda elde edilen sonuçlar Şekil 1'de verilmiştir. Şekilden de görüleceği üzere en yüksek verime ve biyosorpsiyon kapasitesine pH ayarlaması yapılmayan sentetik atıksu örneklerinde ulaşılmıştır.

*A. niger*'in fenol bileşiklerini biyosorplama kapasitesi en yüksek verimin alınmış olduğu pH değerine kadar artış göstermiş fakat daha sonraki aşamada pH değerindeki artış ile biyokütlenin kirleticiyi biyosorplama kapasitesi belirgin bir şekilde azalmıştır (Şekil 1). Rao ve Viraraghavan (2002)'in yapmış oldukları çalışmada da benzer sonuçlar bulunmuştur. Ön işlemden geçmiş cansız *A. niger* ile çalışılmış ve başlangıç pH'sı 5.1 iken maksimum fenol giderimi sağlanmıştır. Rao ve Viraraghavan (2002), maksimum verimin alındığı pH değerinin artması ya da azalmasının fenol biyosorpsiyonunda azalmaya sebep olduğunu belirtmiştir.

Yaptığımız çalışmalar sonucunda her üç kirleticinin de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Sentetik atıksuyun doğal pH değeri olan 5–6 arasında en yüksek verime ulaşılmış, bu değerlerin değişiklik göstermesi ile verimin azaldığı belirlenmiştir. pH değerindeki değişiklik ile biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesinin değişmesi farklı pH değerlerinde biyokütle üzerindeki yüzey yükünün farklılık göstermesi ile ilişkilendirilmiştir.

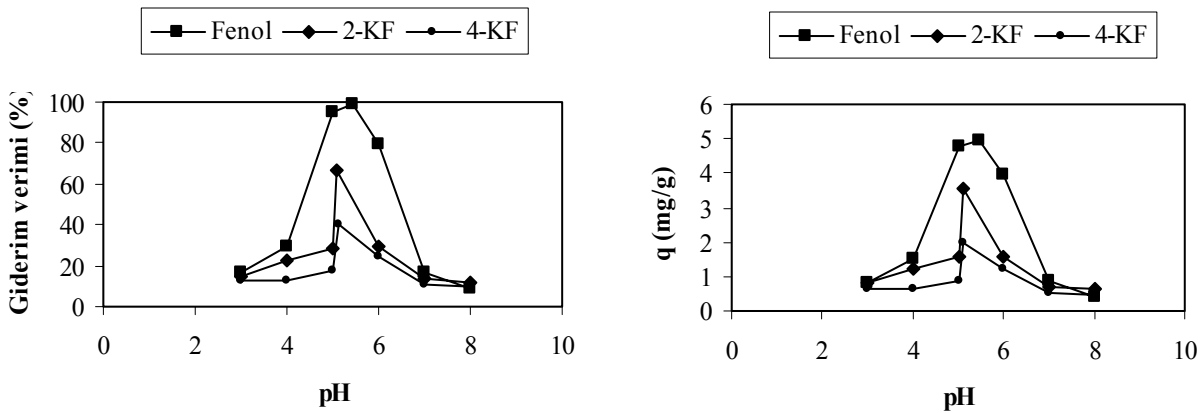
Ladislao ve Galil (2004), pH değerindeki artış ile biyokütlenin denge anındaki sorpsiyon kapasitesindeki azalmanın pH'daki değişimden dolayı olabileceğini ileri sürmüştür ve bunu şu şekilde açıklamıştır. pH değerindeki artış ile hücre üzerindeki tüm yüzey yükü negatif olur ve biyokütle yüzeyinin bağlayıcı bölgeleri ile negatif yüklü fenol ve klorofenol arasındaki elektrotatik çekimin azalmasına yol açar. pH

biyokütlenin yüzey özellikleri ile fenol ve klorofenollerin iyonizasyon derecesini önemli ölçüde etkiler. Yüksek pH'larda fenol ve klorofenol molekülleri üzerinde bulunan elektrik yükleri, kirleticinin hedef bölgelere bağlanmasını ve taşınım prosesini engelleyebilir. Gerçekte, hücre zarından klorofenollerin iyonize formunun difüzyonu ayırma prosesinde hız sınırlayıcı aşama olarak ortaya çıkar.

Denizli ve diğerleri (2005), sucul ortamdan fenollerin gidermek için kurutulmuş *Pleurotus sajor caju*'nun (bir mantar türü) kullanım potansiyelini değerlendirdikleri çalışmada da pH'nın biyosorpsiyon kapasitesi üzerindeki etkisini yukarıda anlatılanlara benzer şekilde açıklamıştır.

#### Temas süresi ve biyokütle konsantrasyonunun fenol biyosorpsiyonu üzerine etkisi

2.5 ile 10.0 g/L arasında değişen farklı biyokütle konsantrasyonları kullanılarak fenol biyosorpsiyonu üzerine biyokütle konsantrasyonunun etkisi araştırılmış ve sonuçlar Şekil 2'de verilmiştir. Sonuçlar biyosorpsiyon verimliliğinin çözültideki biyokütle konsantrasyonundaki artışa büyük oranda bağlı olduğunu göstermektedir. Bu beklenen bir sonuçtur, çünkü çözültideki biyokütle miktarı arttıkça fenol bileşiğinin bağlanma noktaları da artacaktır. 10.0 g/L biyokütle konsantrasyonunda fenolün maksimum biyosorpsiyon verimine ulaşması sağlanmıştır. Bu yüzden daha sonraki çalışmalar için optimum biyokütle miktarı 10.0 g/L olarak belirlenmiştir.



Şekil 1. Başlangıç pH'sının fenollü bileşiklerin giderim verimi ve biyosorpsiyon kapasitesine etkisi ( $C_o=50$  mg/L,  $T=28^\circ\text{C}$ , karıştırma hızı=125 rpm,  $m=1$  g,  $V=100$  mL)

Temas süresi biyosorpsiyon verimliliğini etkileyen diğer önemli faktörlerden biridir. Şekil 2'den görüldüğü gibi ilk 30 saat biyosorpsiyon verimliliği artarken 48 saatin sonunda biyosorpsiyon verimliliği hemen hemen sabit kalmıştır. Temas süresinin 72 saate artırılması ise biyosorpsiyon prosesinin hızında fark edilir bir değişim göstermemiştir. Bu yüzden daha sonraki çalışmalar için optimum temas süresi 48 saat seçilmiştir.

Şekil 2'den temas zamanına karşı farklı biyokütle konsantrasyonlarında fenol bileşiğinin biyosorpsiyon kapasitesindeki değişim incelendiğinde denge anındaki sorpsiyon kapasitesinin biyokütle konsantrasyonu ile etkilendiği görülmektedir. Görüldüğü üzere biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi canlı *A. niger* konsantrasyonundaki artış ile azalmıştır. Biyokütle konsantrasyonundaki artış ile biyosorpsiyon kapasitesindeki düşüş biyosorpsiyon reaksiyonu süresince doygunluğa ulaşmadan kalan biyokütle üzerindeki bağlayıcı bölgelerden dolayıdır. Benzer sonuçlar Brandt ve diğerleri (1997), Jianlong ve diğerleri (2000) ve Thawornchaisit, ve Pakulanon (2007) tarafından yapılan çalışmalarda da elde edilmiştir.

#### Temas süresi ve biyokütle konsantrasyonunun 2-klorofenol biyosorpsiyonu üzerine etkisi

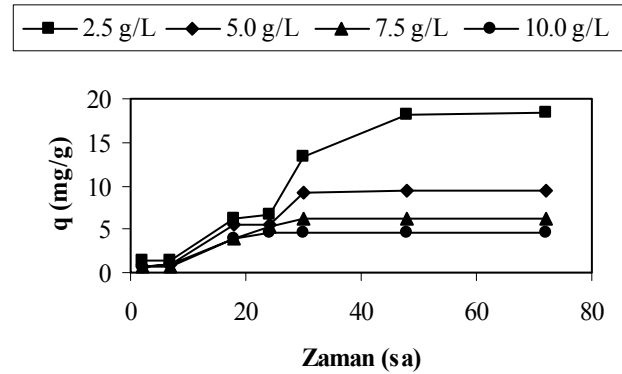
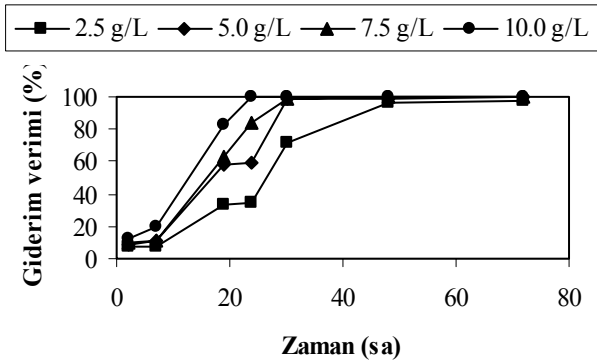
*A. niger* konsantrasyonu ve temas süresinin 2-klorofenol biyosorpsiyonu üzerine etkisi incelenerek elde edilen sonuçlar Şekil 3'de sunulmuştur. Şekil 3'de görüldüğü gibi karışımdaki biyokütle konsantrasyonu arttıkça zamana da

bağlı olarak giderim veriminde artış gözlenmiş ve 48 saat sonunda maksimum değerine ulaşmıştır. Biyokütle konsantrasyonu 10.0 g/L olan karışımda 48 saat sonunda % 99'luk bir verim elde edilmiştir. 96 saat sonunda 2-klorofenolün yükseltgenmesi sonucu karışımda oluşan rengin spektrofotometrik okumalarda hataya sebep olması ve ikinci bir kirlilik oluşmaması amacıyla biyosorpsiyon çalışmasına daha fazla devam edilmemiştir. Bu sebepler ve analiz sonucunda elde edilen değerler göz önünde bulundurularak 2-klorofenol biyosorpsiyonunun 10.0 g/L biyokütle konsantrasyonuna sahip çözeltide 48 saat içinde dengeye ulaştığı kabul edilmiştir.

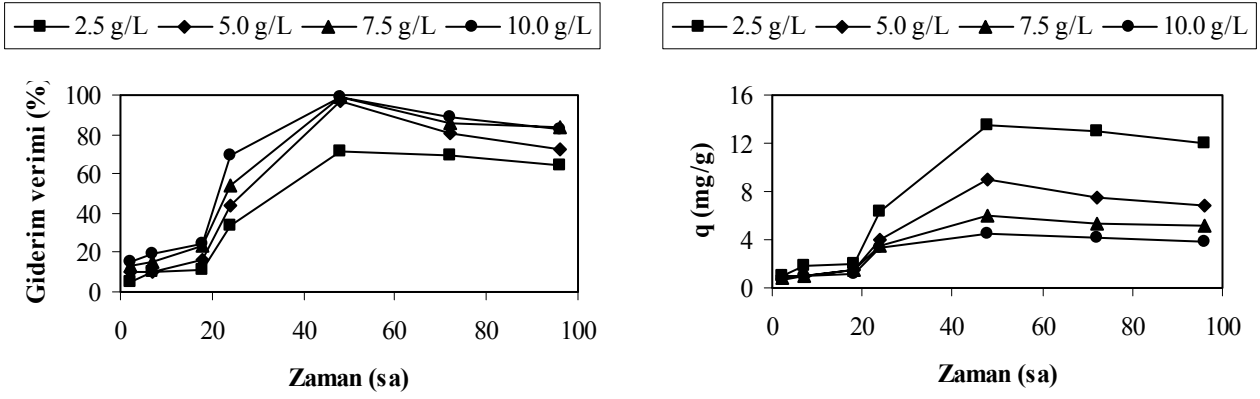
Şekil 3'ten görüldüğü gibi biyosorpsiyonda temas süresi arttıkça biyosorpsiyon kapasitesi artış göstermiş en düşük biyokütle konsantrasyonunda en yüksek biyosorpsiyon kapasitesine ulaşılmıştır. Fakat 48 saatten sonra giderim verimindeki azalmayla birlikte dört farklı biyokütle konsantrasyonuna sahip karışımın biyosorpsiyon kapasitesi de azalmaya başlamıştır.

#### Temas süresi ve biyokütle konsantrasyonunun 4-klorofenol biyosorpsiyonu üzerine etkisi

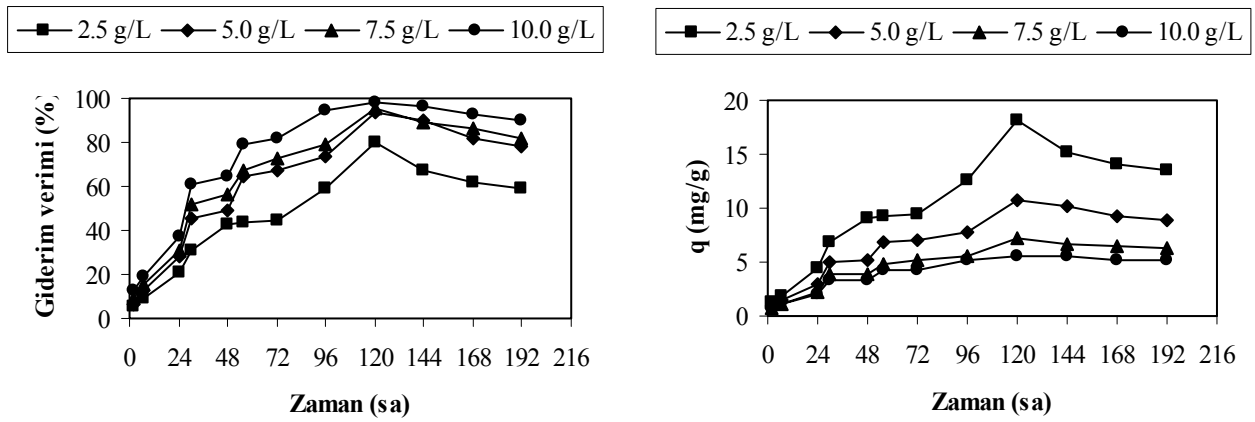
Şekil 4 incelendiğinde 4-klorofenol giderim veriminin 120 saat süresince arttığı ve bu süre sonunda maksimum verime ulaşıldığı fakat 120 saatten sonra biyokütlenin kirleticiyi geri salması sonucunda verimin tekrar azalma eğilimine geçtiği görülmüştür. Aynı zamanda biyosorpsiyona 96 saatten daha fazla devam edildiğinde 7.5 g/L ve 10.0 g/L biyokütle konsantrasyonuna sahip örneklerde 2-klorofenol örneklerinde de



Şekil 2. Giderim verimi ve biyosorpsiyon kapasitesine temas zamanı ve biyokütle konsantrasyonunun etkisi ( $C_0=48$  mg fenol/L,  $pH=5-6$  arası,  $T=28^\circ C$ , karıştırma hızı=125 rpm)



Şekil 3. Giderim verimi ve biyosorpsiyon kapasitesine temas zamanı ve biyokütle konsantrasyonunun etkisi ( $C_0=47$  mg 2-KF/L,  $pH=5-6$  arası,  $T=28^\circ C$ , karıştırma hızı=125 rpm)



Şekil 4. Giderim verimi ve biyosorpsiyon kapasitesine temas zamanı ve biyokütle konsantrasyonunun etkisi ( $C_0=55$  mg 4-KF/L,  $pH=5-6$  arası,  $T=28^\circ C$ , karıştırma hızı=125 rpm)

olduğu gibi pembe bir rengin oluştuğu görülmüştür. Biyosorpsiyon prosesinin endüstriye uyarlanacağı düşünülerek hem uzun çalışma sürelerinde oluşacak işletme maliyetini göz önünde bulundurmak hem de renk oluşumunu önlemek amacıyla Şekil 4'de görülenin aksine biyosorpsiyonun 10.0 g/L biyokütle konsantrasyonuna sahip karışımda 120 saat sonunda değil 96 saatte dengeye ulaştığı kabul edilmiştir. Daha sonraki çalışmalar için de en uygun biyokütle konsantrasyonu 10.0 g/L, denge zamanı ise 96 saat seçilmiştir.

Fenol, 2-KF ve 4-KF ile yapılan çalışmalar sonucunda biyokütle konsantrasyonu arttıkça biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı görülmüştür. Elde ettiğimiz sonuçlara benzer şekilde Thawornchaisit ve Pakulanon (2007), beklenenin aksine kurutulmuş aktif çamur üzerine fenolün biyosorpsiyon kapasitesinin biyokütle kon-

santrasyonunun artması ile azaldığını belirtmiştir. Çamur konsantrasyonu 0.5 g/L'den 10.0 g/L'ye arttığı zaman biyosorpsiyon kapasitesi 94 mg/g'dan 5 mg/g'a düşmüştür. Biyokütle konsantrasyonundaki artış ile biyosorpsiyon kapasitesindeki azalma Brandt ve diğerleri (1997) ve Jianlong ve diğerleri (2000)'nin yapmış oldukları çalışmalarda da gözlemlenmiştir.

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde fenol ve 2-klorofenolün 48 saat sonunda, 4-klorofenolün ise 96 saat sonunda dengeye ulaştığı tespit edilmiştir. Literatürde çeşitli biyolojik materyaller ile fenolik bileşiklerin adsorpsiyonu incelendiğinde adsorpsiyon hızlarının çok geniş bir aralıkta değiştiği ve bu çalışmada elde edilen sonuçlar ile benzerlik gösterdiği görülmektedir. Örneğin Denizli ve diğerleri (2005), sucul ortamdaki fenol ve klorofenollerin gidermek için kurutulmuş *Pleurotus sajor caju* ile yaptıkları

çalışmada bütün fenol ve klorofenollerin 4 saat içinde doygunluk seviyesine ulaştığını bildirmektedir. Yenkie ve Natarajan (1993), adsorban madde olarak granül aktif karbon kullandıkları fenol adsorpsiyonu kinetik çalışmalarında adsorpsiyonun 4 saatte dengeye ulaştığını bildirmiştir. Ravi ve diğerleri (1998), aktif karbon üzerine fenol ve kresolün adsorpsiyonunu araştırmış ve adsorpsiyonun 20 saatte dengeye ulaştığı belirlenmiştir. Rao ve Viraraghavan (2002), 1000 µg/L konsantrasyondaki fenölü gidermek için ön işlemde geçmiş ölü *A. niger* hücreleri ile çalışmış ve biyosorpsiyon 24 saat içinde dengeye ulaşmıştır. Furuya ve diğerleri (1997), granül aktif karbon üzerine klorofenol adsorpsiyonu çalışmış ve adsorpsiyon 2 haftada dengeye ulaşmıştır.

Genel anlamda adsorpsiyon hızını belirleyen birkaç parametre vardır. Su ortamındaki karıştırma hızı, biyokütlenin yapısal özellikleri ve yüzey kimyası (gözeneklilik, yüzey alanı vb.), adsorplayıcı maddenin miktarı, adsorplanan maddenin özellikleri (moleküler boyut ve çözünübilirlik), adsorplanan maddenin başlangıç konsantrasyonu ve elbette aktif adsorpsiyon bölgeleri için adsorplanmak istenen maddeler ile rekabet edebilecek diğer türlerin varlığı (Denizli vd., 2005). Tüm bu parametreler göz önüne alındığında kullanılan biyokütle ve adsorplanmak istenen kirleticiye bağlı olarak biyosorpsiyon çalışmalarında kirleticilerin dengeye ulaşma sü-

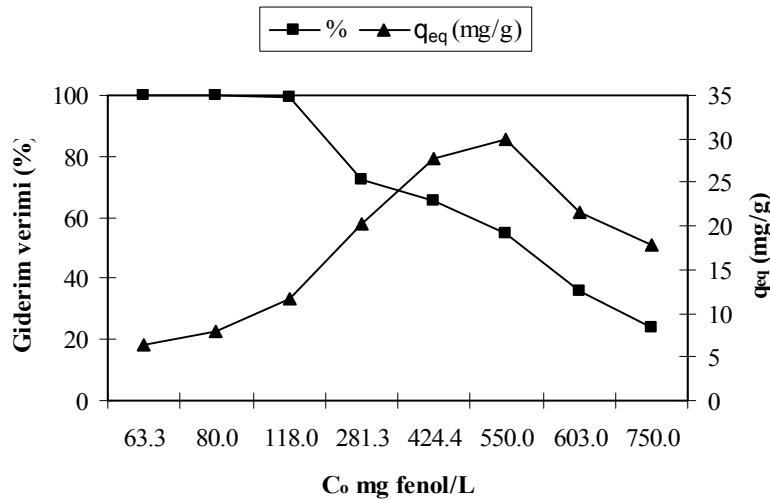
relerinin farklılık göstermesinin sebebi daha iyi anlaşılmaktadır.

### Başlangıç konsantrasyonunun fenol biyosorpsiyonuna etkisi

Fenol konsantrasyonundaki artışın biyosorpsiyon işlemine etkisini değerlendirmek amacı ile yapılmış olan çalışmaların sonuçları Şekil 5'te iki farklı şekilde verilmektedir.

Şekil 5'ten de görüldüğü gibi biyosorpsiyon kapasitesi fenol konsantrasyonunun artması ile artmıştır. Biyokütlenin maksimum yükleme kapasitesi 550 mg/L'lik başlangıç fenol konsantrasyonunda canlı *A. niger* için 30 mg/g olarak bulunmuştur. Fakat fenol konsantrasyonu 550 mg/L'nin üzerine artırıldığı zaman biyokütlenin kimyasal bağlanma bölgeleri olarak kullanılan hücre duvarı ve/yada diğer hücre bileşenlerine fenölün muhtemel sınırlayıcı etkisinden dolayı biyosorpsiyon kapasitesinde azalma görülmüştür.

Bu çalışmaya benzer şekilde Thawornchaisit ve Pakulanon (2007) yaptıkları çalışmada biyokütle olarak kullanılan aktif çamur konsantrasyonu ne olursa olsun fenol konsantrasyonu 4' den 110 mg/L ye arttığı zaman biyosorpsiyon kapasitesinin arttığını belirtmiştir. Fenol moleküllerindeki artıştan dolayı biyokütle ve fenol molekülleri arasındaki çarpışma olasılığının artması böyle bir sonucu ortaya çıkarmıştır. Fa-



Şekil 5. Başlangıç fenol konsantrasyonunun giderim verimi ve biyosorpsiyon kapasitesine etkisi (biyokütle kons., 10 g/L; temas zamanı, 48 h; karıştırma hızı, 125 rpm; doğal pH)



kat fenol konsantrasyonunun 110 mg/L'nin üzerine çıkması biyosorpsiyon kapasitesinin azalmasına sebep olmuştur. 110 mg/L üstündeki fenol konsantrasyonunda sorpsiyon kapasitesindeki azalma fenolün biyokütleye toksik etkisinin olabileceğini göstermiştir.

Aksu ve Yener (2001) ve Aksu ve Akpınar (2000) tarafından yapılan çalışmalarda ise sorpsiyon kapasitesi üzerine fenolün sınırlayıcı etkisi gözlemlenmemiştir. Toksik etkinin aksine, fenol konsantrasyonu 500 mg/L'den daha yüksek olduğu zaman biyokütlenin hücre yapısındaki bağlanma bölgeleri doygunluğa ulaştığı için bu konsantrasyonun üzerinde biyosorpsiyon kapasitesinin azaldığı bildirilmiştir. Bu durum bizim çalışmalarımızda elde ettiğimiz sonucun muhtemel sebebi olabilir.

#### Başlangıç konsantrasyonunun 2-klorofenol ve 4-klorofenol biyosorpsiyonuna etkisi

2-klorofenol ve 4-klorofenol konsantrasyonundaki artışın biyosorpsiyon işlemine etkisini değerlendirmek amacı ile yapılmış olan çalışmaların sonuçları ise sırasıyla Şekil 6 ve Şekil 7'de verilmektedir.

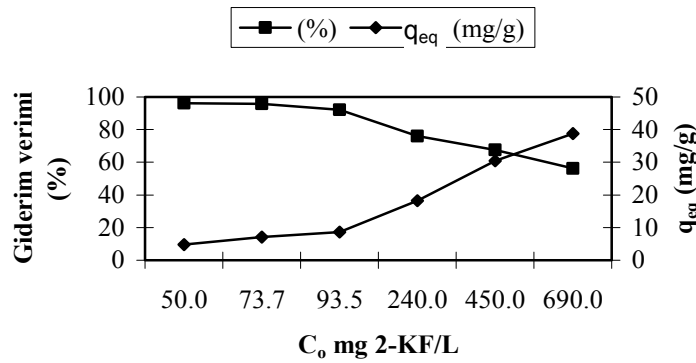
Şekil 6'dan görüldüğü gibi başlangıç 2-KF konsantrasyonu 50 mg/L iken giderim verimi en üst seviyeye ulaşmış ve % 96 verim alınmıştır. Başlangıç konsantrasyonu yaklaşık 100 mg/L'ye kadar arttığında canlı biyokütlenin giderim verimi hala % 90 seviyelerindedir. Fakat konsantrasyon arttıkça giderim veriminde azalma gözlemlenmiş ve en son % 56.23'e kadar düşmüştür. 2-KF biyosorpsiyon kapasitesi ise başlangıç

konsantrasyonunun artması ile artmıştır. Şekil 6'da görüldüğü gibi en düşük verimin alındığı konsantrasyonda biyosorpsiyon kapasitesi en yüksek seviyeye çıkmıştır. Bu konsantrasyonda 38.80 mg/g olan biyosorpsiyon kapasitesi başlangıç konsantrasyonu 50 mg/L iken 4.81 mg/g'dır.

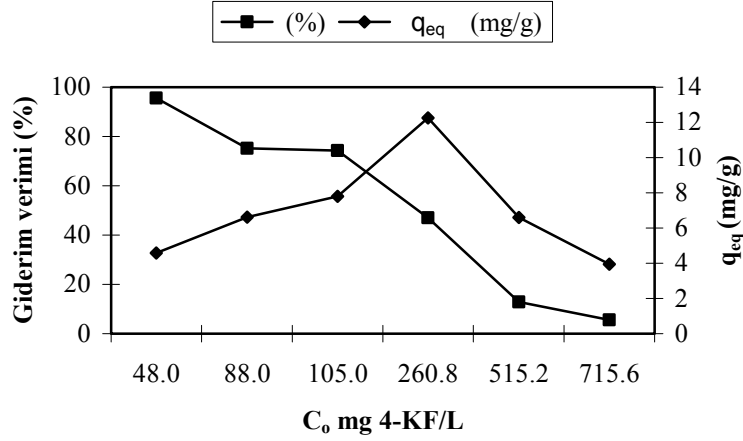
Şekil 7'de görüldüğü gibi biyokütlenin 4-KF bileşiğini giderim verimi başlangıç konsantrasyonunun artması ile azalmaktadır. Başlangıç 4-KF konsantrasyonu 48.0 mg/L'den 260.0 mg/L'ye arttığı zaman giderim verimi yarı yarıya azalarak % 47 seviyesine düşmüştür. Konsantrasyon 715.60 mg/L olduğunda ise biyokütle sadece % 5.52'lik bir giderim sağlayabilmiştir.

Biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesi ise verimin aksine 4-KF konsantrasyonundaki artış ile belirli bir sınır değere kadar artmakta daha sonra Şekil 7'de görüldüğü gibi azalmaktadır.

Başlangıç konsantrasyonu sıvı ve katı safhalar arasında klorofenollerin kütle transfer direncinin üstesinden gelecek önemli bir sürücü güç sağlar. Bu yüzden klorofenollerin başlangıç konsantrasyonunun artması sorpsiyon prosesini artırır (Aksu ve Yener, 2001). Aksu ve Yener (1998), Ladislao ve Galil (2004), Denizli ve diğerleri (2005) yaptıkları çalışmalar sonucunda benzer sonuçlar bildirmektedir. Ortak görüş; fenol ya da klorofenol konsantrasyonundaki artış ile biyokütlenin biyosorpsiyon kapasitesindeki artışın, kirletici ve biyokütle arasındaki temas olasılığının daha fazla olmasından dolayı olabileceğidir.



Şekil 6. Başlangıç 2-KF konsantrasyonunun giderim verimi ve biyosorpsiyon kapasitesine etkisi (biyokütle kons., 10 g/L; temas zamanı, 48 h; karıştırma hızı, 125 rpm; doğal pH)



Şekil 7. Başlangıç 4-KF konsantrasyonunun giderim verimi ve biyosorpsiyon kapasitesine etkisi (biyokütle kons., 10 g/L; temas zamanı, 96 h; karıştırma hızı, 125 rpm; doğal pH)

Aksu ve Yener (1998), fenol, o-klorofenol ve p-klorofenol konsantrasyonunda 500 mg/L'ye kadar olan artışın biyosorpsiyon kapasitesini artırdığını bildirmiştir. Başlangıç kirletici konsantrasyonu 25 mg/L'den 500 mg/L'ye arttığı zaman kuru biyokütle üzerindeki yükleme kapasitesi fenol için 37.1'den 210.3 mg/g'a; o-klorofenol için 36.2'den 239.1 mg/g'a; p-klorofenol için 38.9'dan 247.3 mg/g'a çıkmıştır. Genel olarak kirletici konsantrasyonunun artması her kirletici için biyosorpsiyon veriminde azalmaya sebep olmuştur. Başlangıç kirletici konsantrasyonu daha düşük olduğunda biyosorpsiyon veriminin daha yüksek çıkması dikkat çekmiştir.

### Adsorpsiyon izoterminin modellenmesi

Biyosorpsiyon izotermelerini modellemek için farklı izoterm eşitlikleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında oldukça sık kullanılan iki klasik adsorpsiyon modeli Langmuir ve Freundlich izotermeleridir. Bu çalışmada, biyosorpsiyonun dengeye ulaştığı anda farklı fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenol konsantrasyonlarıyla çözeltide kalan konsantrasyon arasındaki ilişkiyi tanımlayabilmek için bu iki model kullanılmıştır. Yapılan modellemeden sonra elde edilen korelasyon katsayıları ve izoterm sabitleri ise Tablo 1'de verilmiştir.

Korelasyon katsayı değerleri ( $R^2$ ) incelendiğinde her üç kirletici için de  $R^2$  değerinin  $>0.9$  ol-

ması sebebiyle Langmuir izoterm modelinin biyosorpsiyonu daha iyi açıkladığı görülmektedir. Freundlich izoterm modeli korelasyon katsayıları ise çok farklılık göstermektedir. *A. niger* üzerine 2-klorofenol biyosorpsiyonunu Freundlich izoterm modeli açıklayabiliyorken 4-klorofenol biyosorpsiyonu çok düşük olan korelasyon katsayısı nedeni ile Freundlich izotermi ile açıklanamamaktadır.

Tablo 1. Sabit sıcaklıkta fenol ve türevlerinin izoterm parametreleri

Langmuir	$Q^0$	$b$	$R^2$
Fenol	19.011	0.052	0.9652
2-Klorofenol	40.984	0.031	0.9628
4-Klorofenol	4.274	0.028	0.9312
Freundlich	$K_F$	$n$	$R^2$
Fenol	11.160	7.570	0.9918
2-Klorofenol	4.003	2.518	0.9918
4-Klorofenol	6.090	63.291	0.0072

Tablo 1'de görülen  $b$  değeri adsorplanabilen maksimum miktarı göstermektedir. Bu durumda Langmuir izoterm modeline göre adsorpsiyon kapasitesi sıralandığında fenol  $>$  2-klorofenol  $>$  4-klorofenol şeklinde bir sıralama yapılabilir.

$n$  katsayısının büyüklüğü adsorpsiyonun uygunluğu hakkında bilgi vermektedir. Genelde  $n$  değerinin 2–10 arasında olması adsorban madde- nin elverişli olduğunu gösterir. 1–2 arasında

adsorban maddenin kirleticiyi adsorplaması biraz zordur. n değeri 1'den daha küçük ise adsorpsiyon karakteristiği zayıftır (Hamdaoui ve Naffrechoux, 2007). Bu bilgiye göre Tablo 1 incelendiğinde adsorban madde olarak kullanılan *A. niger*'in fenol, 2-klorofenol ve 4-klorofenolü adsorplama kapasitesinin iyi olduğu söylenebilir.

## Sonuçlar

Fenollü bileşikler içeren atıksular alıcı ortamda ciddi bir kirlilik yaratmaktadır. Bu yüzden bu tür atıksulardan fenollerin uygun bir yöntemle giderilmesi gerekmektedir. Bu nedenle biyolojik materyal olarak *Aspergillus niger* seçilerek endüstriyel atıksularda bulunan fenol ve klorofenollerin giderilmesine yönelik bir çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmada biyosorpsiyon işleminde etkili olduğu düşünülen çeşitli parametrelerin etkisi araştırılarak aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir.

- ❖ Her üç bileşik için de pH ayarlaması yapılmayan örneklerde maksimum biyosorpsiyon kapasitesine ulaşılmıştır.
- ❖ 10.0 g/L mikroorganizma konsantrasyonu ile en yüksek verimin elde edildiği görülmüştür.
- ❖ Kinetik çalışmaları sonucunda fenol ve 2-klorofenolün 48 saat sonunda, 4-klorofenolün ise 96 saat sonunda dengeye ulaştığı tespit edilmiştir.
- ❖ Başlangıç fenol ya da klorofenol konsantrasyonu arttıkça denge anındaki giderim veriminin azaldığı biyosorpsiyon kapasitesinin ise arttığı belirlenmiştir.
- ❖ Genel olarak biyosorpsiyonun, Langmuir izoterm modeline daha iyi uyduğu belirlenmiştir.
- ❖ Bütün deney sonuçları değerlendirildiğinde canlı *A. niger*'in seçilen bileşiklerin biyosorpsiyonunda verimli bir şekilde kullanılabilceği görülmüştür.

## Kaynaklar

Aksu, Z. ve Akpınar, D., (2000). Modelling of simultaneous biosorption of phenol and nickel(II) onto dried aerobic activated sludge, *Separation and Purification Technology*, **21**, 87-99.

- Aksu, Z. ve Yener, J., (1998). Investigation of the biosorption of phenol and monochlorinated phenols on the dried activated sludge, *Process Biochemistry*, **33**, 6, 649-655.
- Aksu, Z. ve Yener, J., (2001). A comparative adsorption/biosorption study of mono-chlorinated phenols onto various sorbents, *Waste Management*, **21**, 695-702.
- APHA, (1995). Standard Methods for Examination of Water and Wastewater, 16th ed., American Public Health Association, Washington D.C.
- Bilgili, M.S., (2006). Adsorption of 4-chlorophenol from aqueous solutions by xad-4 resin: Isotherm, kinetic, and thermodynamic analysis, *Journal of Hazardous Materials*, **B137**, 157-164.
- Bódalo, A., Gómez, J.L., Gómez, E., Hidalgo, A.M., Gómez, M. ve Yelo, A.M., (2006). Removal of 4-chlorophenol by soybean peroxidase and hydrogen peroxide in a discontinuous tank reactor, *Desalination*, **195**, 51-59.
- Brandt, S., Zeng, A.P. ve Decker, W.D., (1997). Adsorption and desorption of pentachlorophenol on cells of *Mycobacterium chlorophenolicum* PCP-1, *Biotechnology Bioengineering*, **55**, 480-489.
- Denizli, A., Cihangir, N., Tüzmen, N. ve Alsancak, G., (2005). Removal of chlorophenols from aquatic systems using the dried and dead fungus *Pleurotus sajor caju*, *Bioresource Technology*, **96**, 59-62.
- Furuya, E.G., Chang, H.T., Miura, Y. ve Noll, K.E., (1997). A fundamental analysis of the isotherm for the adsorption of phenolic compounds on activated carbon, *Separation and Purification Technology*, **11**, 69-78.
- Gomez, M., Matafonova, G., Gomez, J.L., Batoev, V. ve Christofi, N., (2009). Comparison of alternative treatments for 4-chlorophenol removal from aqueous solutions: Use of free and immobilized soybean peroxidase and K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> excilamp, *Journal of Hazardous Materials*, **169**, 46-51.
- Hamdaoui, O. ve Naffrechoux, E., (2007). Modeling of adsorption isotherms of phenol and chlorophenols onto granular activated carbon Part I. Two-parameter models and equations allowing determination of thermodynamic parameters, *Journal of Hazardous Materials*, **147**, 381-394.
- Hamdaoui, O. ve Naffrechoux, E., (2007). Modeling of adsorption isotherms of phenol and chlorophenols onto granular activated carbon Part II. Models with more than two parameters, *Journal of Hazardous Materials*, **147**, 401-411.
- Hamdaoui, O. ve Naffrechoux, E., (2009). Adsorption kinetics of 4-chlorophenol onto granular activated carbon in the presence of high frequency

- ultrasound, *Ultrasonics Sonochemistry*, **16**, 15-22.
- Hameed, B.H., Chin, L.H. ve Rengaraj, S., (2008). Adsorption of 4-chlorophenol onto activated carbon prepared from rattan sawdust, *Desalination*, **225**, 185-198.
- Hsieh, F.M., Huang, C., Lin, T.F., Chen, Y.M. ve Lin, J.C., (2008). Study of sodium tripolyphosphate-crosslinked chitosan beads entrapped with *Pseudomonas putida* for phenol degradation, *Process Biochemistry*, **43**, 83-92.
- Jianlong, W., Yi, Q., Horan, N. ve Stentiford, E., (2000). Bioadsorption of pentachlorophenol (PCP) from aqueous solution by activated sludge biomass, *Bioresource Technology*, **75**, 157-161.
- Kapoor, A. ve Viraraghavan, T., (1998). Biosorption of heavy metals on *Aspergillus niger*: effect of pretreatment, *Bioresource Technology*, **63**, 109-113.
- Kargı, F. ve Konya, I., (2006). COD, *para*-chlorophenol and toxicity removal from *para*-chlorophenol containing synthetic wastewater in an activated sludge unit, *Journal of Hazardous Materials*, **B132**, 226-231.
- Ladislao, B. ve Galil, N., (2004). Biosorption of phenol and chlorophenols by acclimated residential biomass under bioremediation conditions in a sandy aquifer, *Water Research*, **38**, 267-276.
- Mangrulkar, P.A., Kamblea, S.P., Meshram, J. ve Rayalua, S.S., (2008). Adsorption of phenol and *o*-chlorophenol by mesoporous MCM-41, *Journal of Hazardous Materials*, **160**, 414-421.
- Nadavala, S.K., Swayampakula, K., Boddu, V.M. ve Abburi, K., (2009). Biosorption of phenol and *o*-chlorophenol from aqueous solutions on to chitosan-calcium alginate blended beads, *Journal of Hazardous Materials*, **162**, 482-489.
- Radhika, M. ve Palanivelu, K., (2006). Adsorptive removal of chlorophenols from aqueous solution by low cost adsorbent-Kinetics and isotherm analysis, *Journal of Hazardous Materials*, **B138**, 116-124.
- Rao, J.R. ve Viraraghavan, T., (2002). Biosorption of phenol from an aqueous solution by *Aspergillus niger* biomass, *Bioresource Technology*, **85**, 165-171.
- Ravi, V.P., Jasra, R.V. ve Bhat, T.S.G., (1998). Adsorption of phenol, cresol isomers and benzyl alcohol from aqueous solution on activated carbon at 278, 298 and 323 K, *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, **71**, 173-179.
- Thawornchaisit, U. ve Pakulanon, K., (2007). Application of dried sewage sludge as phenol biosorbent, *Bioresource Technology*, **98**, 140-144.
- Xiaoli, C. ve Youcai, Z., (2006). Adsorption of phenolic compound by aged-refuse, *Journal of Hazardous Materials*, **B 137**, 410-417.
- Yenkie, M.K.N. ve Natarajan, G.S., (1993). Determination of specific surface area of granular activated carbon by aqueous phase adsorption of phenol and from pore size distribution measurements, *Separation Science and Technology*, **28**, 1177-1190.