

1. GİRİŞ

İnsanlık tarihi boyunca, toplumlar doğa ile etkileşim halinde yaşamışlardır. Geçen süreç içerisinde, insanlar doğayı tükenmez kaynak zinciri olarak algılamış, hiçbir önlem almadan yapılan ve işletilen sanayi işletmeleri tüm dünyaya yayılmıştır. Tarım alanlarının açılması ve yeni yerleşim birimlerinde doğayı olumsuz yönde etkilemiştir. İnsan aktiviteleri sonucu meydana gelen aşırı miktardaki organik ve inorganik bileşikler her yıl çevreye bırakılmaktadır. Bunların bir kısmı bilinçli olarak bir takım düzenlemelerle, bir kısmı ise kaza sonucuyla çevreye verilmektedir [1]. Ağır metallerin nehirlerde ve sulu ortamlarda birikmesi hem akuatik yaşamı olumsuz yönde etkilemekte [2], hem de besin zinciri içerisinde insan sağlığını tehdit etmektedir. Ayrıca bazıları, çevrede lipofil özellik kazanarak su, bitki ve hayvanlarda birikip besin zinciri ile insanlara ulaşmaktadır [3 , 4].

Çabuk sanayileşme ve şehirleşme sonucunda toksik metal miktarındaki artma ekosistem için potansiyel bir risk haline gelmiştir. Madencilik ve akımla kaplamanın yer aldığı pekçok endüstride, uranyum, kadmiyum, kurşun, civa ve bakır gibi ağır metaller yüksek seviyede dışarıya verilmektedir. Bu üretim prosesleri sonucu oluşan işlenmemiş atıkların çevre üzerinde ters etkileri vardır [1]. İçeriğinde ağır metal bulunan sanayi atıklarının döküldüğü nehirlerde ve sulu ortamlarda meydana gelen birikim hem akuatik yaşamı hem de insan sağlığını etkilemektedir. Bu birikimin geçen yıllarda arttığı bilimsel olarak da kanıtlanmıştır. Birçok gelişmekte olan ülkenin içme suyundaki ağır metalleri giderme sisteminin bulunmaması sonucu, ağır metallerle kontamine olmuş içme suları ve bu sularla sulanan topraklarda yetişen tarım ürünleri yoluyla toksik düzeylere ulaşan metaller insan sağlığını etkiler hale gelmiştir [3 , 5].

Atık ağır metal oluşumuna neden olan proseslerden bazıları, metal kaplamacılığı, metal cilalama prosesleri, madencilik ve maden cevheri prosesleri, metal prosesleri, pil ve akümülatör üretim prosesleri, termal güç

üretimi (kısmen kömür yakan fabrikalar), nükleer güç üretimi vs. olarak sıralanabilir [1]. Çizelge 1.1 de atık sulara metal bırakan temel endüstriyel sektörleri detaylandırılmıştır [39].

Çizelge 1.1. Atık sulara metal bırakan temel endüstriyel sektörleri [39]

<i>Endüstri</i>	<i>Metaller</i>	<i>Bulunması muhtemel diğer maddeler</i>
Maden prosesleri	Catyonlar: Cu, Zn, Pb, Mn, U... Anyonlar: Cr, As, Se, V,...	Fe, Al Sülfatlar, fosfatlar
Akım ile kaplama prosesleri	Cr, Ni, Cd, Zn	Fe, yüzey aktif maddeler
Metal işleme	Cu, Zn, Mn	Fe, Al, yüzey aktif maddeler
Yanmış kömür güç kaynakları	Cu, Cd, Mn, Zn,...	Fe, Al
Nükleer endüstri	U, Th, Ra, Sr, Eu, Am,...	Fe
Özel prosesler	Hg, Au ve değerli metaller	

Metaller, tüm aerob ve çoğu anaerob mikroorganizmalar için temel minerallerdir. Ancak, suda düşük konsantrasyonlarda bulunmaları halinde bile insan sağlığına zarar verecek hastalıklara, hatta ölüme bile neden olabilirler. Eser miktarda bile sakıncalı olabilen en önemli grubu, ağır metal olarak anılan Cu, Cr, Pb, Ag, Mn, Hg, Zn gibi elementler oluşturmaktadır [6]. İnsan vücudu metalleri işleyemez ve kullanamaz. Bunun sonucu olarak metaller çeşitli organlarda birikmektedir. [1]. Metallerin toksik etkileri her metalin özelliğine göre değişmektedir. Ancak genel olarak metallerin hepsi birden fazla organ ve sistemi etkilemektedir. Toksik ağır metaller; sinirlere ve kemiklere zarar vermekte [7], vital enzim gruplarının fonksiyonlarını bloke etmekte [7] ve kansere neden olmaktadır [8]. Bununla birlikte ağır metaller böbrek işlevselliğinin son bulmasına, karaciğer, beyin ve merkezi sinir sisteminin zarar görmesine de sebebiyet vermektedirler [2]. Dünya Sağlık Teşkilatı (WHO) ve Avrupa Birliği Konseyi (EU), içme sularındaki kabul edilebilir Pb oranını 10µg/l, Zn miktarını 3mg/l olarak tavsiye etmektedir. Metallerin diğer sanayilerde de yer nedeniyle onların çevreden uzaklaştırılıp

bu sanayilerde tekrar kullanımını sağlamak hem ekonomik hem de çevresel kazanç sağlayacaktır.

Çevreden ağır metal uzaklaştırmak için kullanılan geleneksel metodların yeni çevresel sorunlar yarattığı, yetersiz ve pahalı olduğu bilinmektedir. Atık sulardan ağır metalleri uzaklaştırmak için uygulanan oksidasyon, indirgeme, çöktürme, filtrasyon, buharlaştırma, iyon değiştirme, ters osmos gibi elektro kimyasal, fiziksel ve kimyasal metotlar genellikle yüksek işletme masrafları gerektirmeleri ve oluşan katı atık çamurlarının zor işlenir olmasından dolayı ticari olarak pratik değildir. Çok miktarda kimyasal gereksinimi ve önceden öngörülemeyen metal giderimi bu teknikler için söz konusu olan bazı dezavantajlardır. Ayrıca, desorpsiyon için güçlü ve kontamine olmuş kimyasalların kullanımı, oluşan toksik çamurların depolanacağı özel bölgelerin gerekmesi, ikincil çevre kirlenmesine neden olmaktadır. Bu dezavantajlar özellikle kompleks yapıcı organik madde ve düşük metal kontaminasyonu içeren büyük hacimli endüstriyel atık suların işlenmesi sırasında daha belirgin olmaktadır ve proses maliyetini arttırmaktadır [9]. Ayrıca seyreltik çözeltilerden (1-100 mg/L) ağır metallerin uzaklaştırılması açısından da yeni metotların geliştirilmesi önemlidir [1]. Biyoteknolojik yaklaşımlar bu gibi sorunları halletmek için, 1980 lerden sonra ortaya çıkmıştır.

Ağır metallerin ve onların zehirli etkilerinin su arıtım tesislerinin atık sularında ve çamurlarında varlığını sürdürdürebilmesi, ağır metaller için özel olarak tasarlanmış kirlilik kaynağından uzaklaştırma seçeneklerini gündeme getirebilir. Bu özel işlem, çok miktarda atık su işleneceğinden ucuz olmalıdır. Ayrıca diğer geleneksel yöntemlerin etkisiz kaldığı, seyreltik çözeltilerden metal uzaklaştırılması açısından da yeni metodların geliştirilmesi önemlidir. Bu gibi sorunların halledilmesi için biyolojik yöntemlerin kullanılması söz konusu olmuştur [9].

Biyoremediasyon (biyoarıtım) su, hava ve topraktaki kirliliğin, bir ortamdan başka bir ortama transfer edilmeden, mikroorganizmalar veya biyolojik kökenli maddeler kullanılarak bir grup uygulama ile yok edilmesidir. Ağır metallerin canlı veya ölü mikroorganizmalarla biyoarıtımı son yıllarda yalnızca yeni olmasıyla değil aynı zamanda endüstrideki potansiyel uygulamaları ile oldukça dikkat çekmiştir [3,10]. İlk olarak radyoaktif elementlerin sulu ortamda mikroorganizmalar tarafından doğrudan adsorplandığı gözlenmiş ve bu özelliğin mikroorganizmaların yaşamsal fonksiyonlarından bağımsız olduğu iddia edilmiştir [9]. Bu yöntemlerin en çekici yönü maliyetlerinin ucuz olması ve bu amaçla kullanılacak malzeme için seçeneklerin çok çeşitli olmasıdır. Biyomateryallerin fermantasyon, ilaç ve gıda sanayi sektörlerinden kolayca ve atık olarak temin edilebilmesi, bunların biyolojik arıtma sistemlerinde kullanımlarını ekonomik hale getirmektedir.

Hem ölü hem de canlı mikroorganizmalar metalleri tutma özelliğine sahiptir. 1990'lı yıllardan itibaren biyolojik kökenli maddelerle sulardaki ağır metallerin uzaklaştırılmasına dayanan çalışmalar başlamıştır [40 ,41]. Bakteri, mantar ve alglerin toksik metalleri birçok uzaklaştırma yolları tanımlanmıştır [3]. Ağır metaller, hücre duvarındaki selüloz yapı içine yakalanabilirler ve takiben selüloz yapı içinde bulunan bağlanma bölgelerine biyosorbe olurlar. Çözeltideki metal iyonları, hücre duvarındaki biyopolimerlerde bulunan kimyasal, fonksiyonel gruplarla tutulurlar. Yüzeydeki bu bağlanmalar amid, amid imidozol, hidroksil, karboksil, fosfat tiyoeter ve diğer fonksiyonel gruplarla gerçekleşir.

Bu uzaklaştırma yolu, metabolik çevrimden bağımsız, biyosorpsiyon veya pasif arıtım olarak bilinir. Ayrıca hücre zarından geçerek, metabolik çevrim içine katılabilir. Düşük konsantrasyonlarda birçok ağır metal, mikrobiyal büyüme ve metabolizma için gereklidir. Fakat yüksek derişimler, canlı hücrelerde toksik etki gösterir. Ağır metal alımındaki, hücre zarından içeri taşınımı içeren daha yavaş hücre içi giderim basamağına aktif giderim veya

biyoakümülyasyon (biyobirikim) denir. Canlı hücrelerle yapılan birçok çalışma, önce hızlı biyosorpsiyon basamağı sonra daha yavaş metabolizmaya bağımlı aktif giderim içeren iki fazlı mekanizmanın varlığından söz etmektedir [10].

Sentetik metal çözeltileri için yüksek biyosorpsiyon kapasitesine sahip birçok ölü veya önişlem görmüş mikrobiyal biyokütleden, literatürde bahsedilmesine rağmen, bazı araştırmalar gerçek endüstriyel atık sularda bunların biyosorpsiyon kapasitesinin sınırlı kaldığından söz etmektedir [42, 43]. Mevcut biyosorpsiyon yöntemleri pH, iyonik kuvvet gibi ortam koşullarına ve ortamda bulunan organik veya inorganik maddelere bağlıdır. Ayrıca biyokütlenin desorpsiyon sonrası tekrar kullanımı, ancak desorpsiyon için daha zayıf kimyasallar kullanıldığında mümkün olmaktadır. Bu nedenlerle, mikrobiyal biyokütle kullanarak, sürekli sistemlerde biyosorpsiyona dayalı arıtımın gerçekleşmesinin güç olduğu öne sürülmüştür[3]. Tek başına biyosorpsiyonun, ağır metal arıtımı için yetersiz olması, canlı ve çoğalan hücrelerin, kendilerini yenileme yetenekleri ve fiziksel adsorpsiyondan sonra sürekli olarak metalin metabolik arıtımını sağlayabilmeleri nedeniyle bunların biyoarıtım için daha iyi bir seçenek oluşturabilecekleri görüşünü ortaya getirmiştir. Bu düşünceyi destekleyen başka hususlarda vardır. Hücre içine difüzlenen metaller, vakula veya diğer hücre içi bölgelerde depolanmadan önce, hücre içindeki proteinler ve kelatinlere bağlanırlar. Bu prosesler çoğu zaman tersinmezdir ve metalin çevreye tekrar verilmesini engeller. Ayrıca, çoğalan canlı hücrelerle biyoarıtım, kullanım öncesi, biyokütle üretimine, ilave kurutma ve depolama basamaklarını gerektirmez. Bunun yanında birçok konvensiyonel fizikokimyasal biyosorpsiyon yöntemlerinin aksine, aktif hücrelerin kullanımı endüstriyel atık sulardaki diğer birçok kirleticinin tek basamaklı bir prosesle uzaklaştırılmalarını da sağlayabilir. Canlı, çoğalan mikroorganizmaların birçok organo-metalik kompleksleri , yada organik maddeleri parçalamaya veya amonyum, nitrat, fosfat gibi iyonları arıtmaya yönelik sonsuz kapasiteleri vardır.

Canlı hücrelerle biyoarıtımın dezavantajlı yönleri ise pH ve yüksek metal ve tuz konsantrasyonuna hassasiyet ve dış metabolik enerji kaynağını gerektirmesidir. Bu zorluklar, tür seçimi ve ucuz organik atıkların C kaynağı olarak kullanımı ile aşılabılır. Ağır metale dayanıklı türlerin izolasyonu ve seçimi, canlı hücre kullanılan biyoarıtım sistemlerinin geliştirilmesi için büyük önem taşımaktadır.

Tarımsal atıklar, ormansal atıklar, mikroorganizmalar, kazein, şeker pancarı posası biyolojik ayırma işlemlerinde kullanılan doğal sübstratlardandır [2]. Bakteriler, mantarlar, algler ve mayalar ise yapılarında ve yüzeylerinde ağır metal adsorplayabilme yeteneği olan mikrobiyal türlerden birkaçıdır [11, 12]. Düşük pH larda biyoarıtım için en sık kullanılan biyokütle türleri arasında mayalar bulunmaktadır. Mayalar ucuz ve kolaylıkla bulunabilen biyokütle kaynaklarıdır[13]. Canlı veya ölü birçok maya, farklı koşullar altında, farklı derecelerde ağır metalleri biyoarıtma becerisine sahiptirler. Son yıllarda ise canlı maya hücreleri kullanılarak, ağır metallerin uzaklaştırılmasına yönelik çalışmalar hız kazanmıştır. Bu amaçla canlı *Saccharomyces cerevisiae*, *Kluyveromyces marxianus*, *Schizosaccharomyces pombe*, *Candida Sp*, *Pichia guilliermondii*, ticari ekmek mayası gibi mayalar Cu, Ni, Pb gibi ağır metallerin biyoarıtımı için kullanılmıştır.

Bu çalışmada daha önce biyoarıtım maksadıyla hiç denenmemiş olan ve sentetik ortamda büyüyen *Pichia stipitis* mayası ile Cu^{+2} ve Cr^{+3} metallerinin sulu ortamlardan uzaklaştırma olanakları araştırılmıştır. Ortamdaki ağır metal konsantrasyonunun adaptasyon yönteminin, biyokütlenin çoğalma ve ağır metal arıtım özelliğine etkisi araştırılmıştır. Ayrıca yine ilk kez ölü *Pichia stipitis* hücreleri ile Cu^{+2} , Cr^{+3} biyosorpsiyonu gerçekleştirilmiştir. Biyosorpsiyonun üzerine sıcaklık, pH, konsantrasyon gibi değişkenlerin etkileri araştırılmış, biyosorpsiyon izotermleri elde edilmeye çalışılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Geleneksel Metal Uzaklaştırma Teknolojileri

Kimyasal çöktürme [14] , kimyasal oksidasyon ve indirgenme, elektro kimyasal yöntemler, buharlaştırma yoluyla geri kazanım, filtrasyon, iyon değiştirme, membran teknolojisi endüstriyel atık sulardan ağır metalleri uzaklaştırmak için kullanılan bazı metodlardır [3, 11, 15, 16]. Ancak bu metotlar ekonomik açıdan karmaşık ve yetersizdirler [17].

Geleneksel yöntemler çok pahalı olmaları, tamamen uzaklaştırma yapmamları, düşük seçici olmaları, uygulamada fazla enerji harcamaları, pahalı ekipmana gereksinim duymaları, ağır metal kirliliğinin yüksek konsantrasyonda olması durumunda etkin olmaları ve toksik kirlilik yaratmaları gibi dezavantajlı yönleri vardır. Yüksek konsantrasyon için uygun olan bu proseslerin 100 mg/l den daha seyreltik ağır metal konsantrasyonuna sahip atık sularda uygulanması yararsızdır. Birçoğu ikincil bir çevre kirliliğine neden olmaktadır [3, 8, 15, 18].

Emisyon standartlarının zamanla daraltılması, geleneksel yöntemleri yetersiz kılmıştır. Bu geleneksel yöntemlerin avantaj ve dezavantajları aşağıdaki Çizelge2.1 de gösterilmiştir [39] .

2.2. Biyolojik Arıtma Yöntemleri

Biyolojik yöntemler günümüzde en çok başvurulan metal giderim yöntemleridir. Bu yöntemlerin en çekici yönü maliyetlerinin ucuz olması [1,19] ve kullanılabilecek materyal seçeneğinin fazla olmasıdır [1].

Biyormediasyon, su, hava ve topraktaki kirliliklerin bir grup uygulamalarla, bir ortamdan diğerine aktarılmadan mikroorganizmalar tarafından zehirli

etkilerinin giderimidir. Şekil 2.1 de biyolojik arıtımın genel özellikleri gösterilmektedir.

Genel olarak biyoarıtım mikroorganizmaların canlılığının korunmasını ve stimule edilmelerini gerektirir. Bunu sağlamak için de elektron alıcı (oksijen, nitrat), besin (nitrojen, fosfor), ve enerji kaynağına (karbon) ihtiyaç vardır. Biyoarıtımı, mikroorganizmalar, kimyasal bileşiğin özellikleri ve çevresel koşullar olmak üzere üç temel öge etkilemektedir (Şekil 2.2).

Biyoarıtım doğal olarak yada kültür mikroorganizmaları ile toksik kirliliğini düşürür. Mikroorganizmalar, metalleri aktif ve pasif tutunma ile uzaklaştıran potansiyel toplayıcılarıdır. Toksik kimyasallar adsorbe olduğunda ve mikroorganizmalar tarafından akümüle edildiğinde kimyasalın yapısında değişiklikler olmaktadır. Uygun mikroorganizmaların kullanılması ile toksik ve bazen patlayıcı olan materyaller su ve karbondioksit gibi zararsız materyallere dönüştürülmektedir [1].

Mikrobiale metabolizasyonun alışma döneminde (adaptasyon) hiçbir biyoparçalanmaya rastanmamaktadır. Bu dönem 1 saat gibi kısa olabildiği gibi aylarca da sürebilmektedir. Mikrozomal metabolizasyon aerobik yada anaerobik olabilir. Çevresel faktörler arasında besin, sıcaklık, pH, nem içeriği, yükseltgenme-indirgenme potansiyeli, mikrobial kalite sayılabilir.

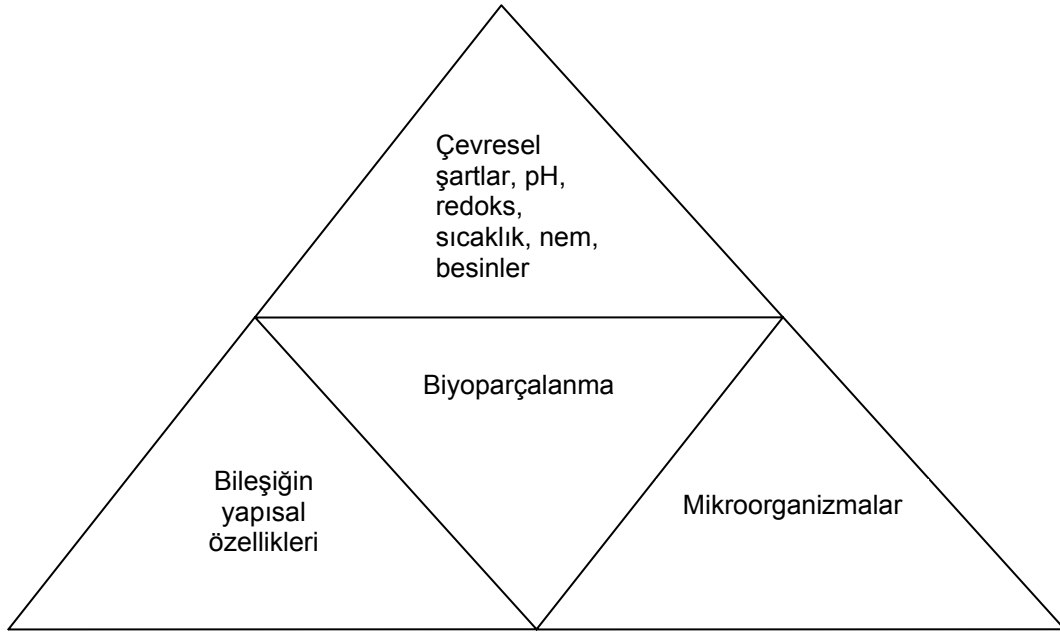
Biyoarıtım (biyoremediasyon) diğer yöntemlerden daha ekonomik olması, proses sonunda atık madde üretmemesi ve diğer teknolojilerle kombine edilebilmesi nedeniyle avantaj sağlamaktadır. Dezavantajları arasında ise filtrelerin veya enjeksiyon kanallarının mikroorganizmalarca tıkanabilmesi, düşük geçirgenli akiferlere uygulanmasının zor olması, uygulanan akiferlerde sadece fazla geçirgen tabakaların temizlenebilmesi, devamlı izlenme ve bakım gerektirmesi sayılabilir.

Çizelge2.1. Geleneksel metal uzaklaştırma teknolojileri [39]

<i>Metod</i>	<i>Dezavantaj</i>	<i>Avantaj</i>
Kimyasal çöktürme ve filtrasyon	<ul style="list-style-type: none"> •Yüksek konsantrasyon için zor ayrılma •Etkin değil •Atık çamur oluşması 	<ul style="list-style-type: none"> •Basit •Ucuz
Kimyasal oksidasyon ve indirgenme	<ul style="list-style-type: none"> •Yaygın olmayan kimyasallar gerektirmesi •Ortam hassasiyeti 	<ul style="list-style-type: none"> •İnaktivasyon
Elektro kimyasal yöntemler	<ul style="list-style-type: none"> •Yüksek konsantrasyon için etkin •Pahalı 	<ul style="list-style-type: none"> •Metali geri elde etme
Ters osmos	<ul style="list-style-type: none"> •Yüksek basınç •Membran boyutu önemli •Pahalı 	<ul style="list-style-type: none"> •Saf atık (geridönüşüm için)
İyon değişimi	<ul style="list-style-type: none"> •Partiküllere hassas olması •Reçinelerin pahalı olması 	<ul style="list-style-type: none"> •Verimli •Saf atık metalin geri dönüşümünün mümkün olması
Adsorpsiyon	<ul style="list-style-type: none"> •Tüm metaller için uygulanamaması 	<ul style="list-style-type: none"> •Geleneksel sorbentler (karbon)
Buharlaştırma	<ul style="list-style-type: none"> •Fazla enerji •Pahalı •Atık çamur oluşması 	<ul style="list-style-type: none"> •Saf atık (geridönüşüm için)

Biyolojik Arıtım (Bioremediation)	
Tanımlama	:Kirleticilerin tamamen inaktive edilmesi
Gerekenler	: <ul style="list-style-type: none"> • Mikroorganizmalar • Sübstrat (gıda) • Elektron alıcıları <ul style="list-style-type: none"> - aerob: O₂ - anaerob: nitrat, sülfat vs. • Yeterli besin <ul style="list-style-type: none"> - nitrojen, potasyum, fosfat
Avantajları	Kısıtlayıcılar (Yetersiz Sübstrat)
<ul style="list-style-type: none"> • Bütün hidrokarbonlar ve çoğu organik bileşikler inaktive edilebilir. • Mikroplar çoğunlukla kirli ortama alışabilmektedirler. 	<ul style="list-style-type: none"> • Elektron alıcıları yada besinler biyoaktiviteyi engeller. • Yüksek seviyedeki organik kirleticiler mikroplar için toksik olabilirler. • Ağır metaller mikrobiyal aktiviteyi engelleyebilir. • Kirlenme, sulu ortamlarda olmalıdır. • Düşük sıcaklık, yavaş ayrışım getirir.
Tercih edilen Biyolojik Arıtım (Bioremediation)Metodları	
Aerobik (yeterli oksijene gereksinim vardır)	
<ul style="list-style-type: none"> - hızlıdır - metan üretmez - ilave O₂ gerektirebilir 	
In-situ	
<ul style="list-style-type: none"> - kontamine olmuş materyal hareketsizdir - doğru koşullarda, yeterli zaman verildiğinde bulunduğu doğal ortamında biyolojik ayırma seçeneği 	
Biyolojik Arıtımın (Bioremediation)Alternatif Metodları	
Anerobik In-situ biyolojik ayırma (Bioremediation)	
<ul style="list-style-type: none"> - ilave O₂ gerektirmez, bu sebeple enerji girişi düşüktür - yavaştır - metan üretebilir 	
Aerobik Ex-situ biyolojik arıtım (Biyoremidasyon)	
<ul style="list-style-type: none"> - maddenin işlenmesini ve arıtım tesisinin kurulmasını gerektirir - materyallerin kullanım kolaylıkları - pahalıdır - besin ve O₂ arttığından hızlıdır 	

Şekil 2.1. Biyolojik ayırmanın (Bioremediation) çeşitli özellikleri



Şekil 2.2. Biyoarıtımı etkileyen faktörler

2.2.1. Biyosorbentler

Biyosorbentler geleneksel metotlara alternatif olarak kullanılmaktadırlar. Biyosorbent terimi yaşayan bitki ve mikroorganizma gibi canlıları kapsadığı gibi ölü biyokütleleri de (lif, bataklık kömürü, mikroorganizma vs.) içine almaktadır.

Mikrobiyal hücreler (canlı yada ölü) ve onun ürünleri, metalin hem çözünen hem de katı hali için etkin bir biyoakümülatördür [1]. Metal toplayıcı biyoprosesler, genellikle ölü biyokütleler tarafından tutunma ile yada yaşayan hücrenin biyoakümülasyonu ile gerçekleşmektedir [12, 21].

Yüksek metal bağlayan yeni biyokütle çeşitlerinin keşfedilmesi, bu konuda düşük maliyet ve rekabetli biyosorbent ürünlerinin potansiyel olarak tanıtılmasına olanak sağlamıştır [1].

Metal arıtımı için kullanılacak cansız biyokütller doğal olarak sık bulunan veya atık halde elde edilebilen algler, funguslar ve bakterilerden hazırlanır. Biyokütle, herhangi bir endüstriyel prosesin yan ürünü olarak daha az maliyet ile temin edilebilmektedir [1]. Endüstriyel atık biyokütllerden hazırlanan uygun biyosorbent materyali için biyokütlenin kıvamı değiştirilmelidir. Normalde endüstriyel atık biyokütller ıslak çamur veya kuru kek yada toz olarak bulunmaktadır. Sorpsiyon prosesi koşullarına dayanıklı olabilmesi için, atık biyokütller küçük granül şekline dönüştürülmelidir [39]. Metalin sulu ortamlardan uzaklaştırılması ve geridönüşümü konusunda bazı mikroorganizmaların kullanımı, örneğin ölü fungal biyokütle, daha çok avantaj sağlamaktadır. Canlı metabolik aktivite olmadığı için metal zehirlenmesi söz konusu olmamaktadır. Mikroorganizma canlı olmadığı için ilave besin kaynağına ihtiyaç yoktur.

Tüm mikroorganizmaların hücre yüzeyi, çeşitli anyonik yapılar nedeniyle negatif yüke sahiptir. Bu durum bakteriye metal katyon bağlama yeteneği vermektedir. Çeşitli mikrobiyal türlerin uranyum, bakır ve kirli atıklardaki diğer metal iyonlarının biyosorpsiyonu için oldukça verimli oldukları görülmüştür [1]. Mantar, maya, yosun [14], alg ve bakteriler gibi pek çok mikrobiyal türün yapılarında yüksek miktarlarda ağır metal biriktirebildikleri bilinmektedir [16, 25]. Deniz yosunları, makroskopik yapıları nedeniyle, biyosorbent üretimi için büyük avantaja sahiptir. Kahverengi deniz algleri bu amaçla kullanılabilir. *Ecklonia maxima*, *Sargassum* deniz yosunları Cd ve Cu için yüksek sorpsiyon yeteneğine sahiptir. *Sargassum*, hücre duvarındaki jel halindeki aljinatın, metal arıtımından neden olduğu öne sürülmüştür. Düşük pH da ağır metal uzaklaştırmak için her yerde kullanılabilen biyokütle çeşitlerinden biriside mayalardır. Mayalar pahalı değildir ve biyokütle kaynağı olarak kolayca bulunabilirler. Bunun yanında maya hücrelerinin ağır metal tutabilme aralığı dış şartlara bağlı olarak değişkenlik göstermektedir[10]. Mayalar içinde, fermantasyon yan ürünü olarak elde edilebilen *Saccharomyces cerevisia* nın, hücre duvarlarına metal bağlama yeteneğinin, amino, karboksil ve hidroksil gruplarından kaynaklandığı öne

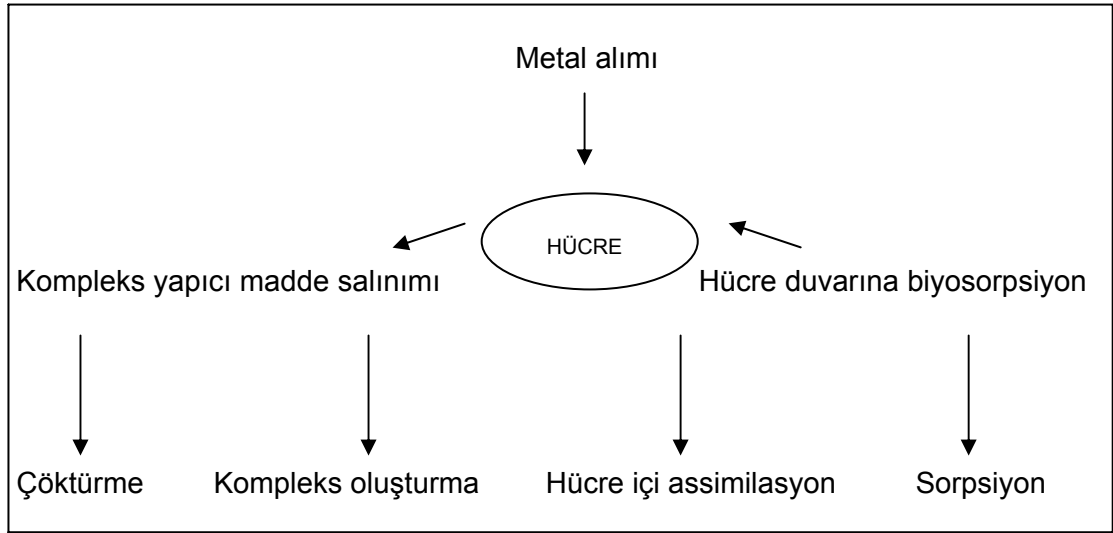
sürülmüştür. Özellikle Cd için önemli bir biyosorbenttir. Fungal grup içinde *Zigomyces*, taksonom grubu hücre duvarındaki kitin, citozan ve glukan nedeniyle etkin biyosorbentlerdir. *Aspergillus niger* ve *Mucor rouxii*, ağır metal arıtımı için kullanılmış iki önemli fungal biyokütledir [44, 45].

Bakterilerle yapılan, metal artım çalışmalarının çoğu, metabolizmaya bağlı biyoakümülyasyona dayanmasına rağmen, cansız *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli K-12*, *Pseudomonas aeruginosa* gibi biyosorbentlerin Cd, Cu, Cr gibi metalleri tutma yeteneği gözlenmiştir. Bakterilerin yüksek yüzey hacim oranları olması nedeniyle çok iyi biyosorbentler olacağı öne sürülmüştür [46]. Canlı mikroorganizmalar kullanarak ağır metallerin biyoarıtımı, fiziksel adsorpsiyon sonrası kendilerini yenileme yetenekleri ve sürekli metabolik metal alımı nedeni ile iyi bir seçenek olarak ortaya çıkmaktadır. Bu prosesin tersinmez olması ve ayrı bir biyokütle üretim prosesi gerektirmemesi, bir diğer avantajlı yönüdür. Canlı hücreler ile biyoarıtımın en önemli güçlüğü, ağır metallere dayanıklı mikroorganizma türlerinin izole edilmesi ve seçimi ile aşılabilir.

Son yıllardaki çalışmalar, kontamine topraktan veya elektro kaplama atık akım ile kontamine olmuş atık çamurdan izole edilmiş mikroorganizma türleri, sulu çözeltilerden veya elektro kaplama atık akımlarından çok yüksek metal giderme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Yerel endüstriyel işletmelerin atık akımlarından izole edilmiş bir çok bakteriyel mikroorganizma Cr, Cu, Pb, Zn, Cd ve Ni metallerine karşı dayanıklılık gösterilmiştir [49]. Kirli ortamdan izole edilmiş, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella spp.* bakterilerin yüksek Cd, Pb, Cr konsantrasyonlarına dirençli oldukları ve yüksek metal arıtma gücüne sahip oldukları görülmüştür. *Aspergillus niger*, *Aspergillus spp*, *Fusarium oxysporum* gibi küfler, *Candida spp*, *Saccharomyces cerevisia*, *Kluveromyces marxianus* gibi mayalar farklı metallerin biyoakümülyasyonu için denenmiştir.

2.2.2. Metal giderim mekanizmaları

Mikroorganizmaların kompleks yapısı nedeniyle mikrobiyal hücrenin metalleri çok farklı giderim yolları mevcuttur ve bunlar tam olarak anlaşılammıştır.



Şekil 2.3. Metal giderim mekanizması

Hücre giderim mekanizmaları farklı kriterlere göre sınıflandırılabilir. Hücre metabolizmasına bağımlılığa göre metal giderimi ikiye ayrılır;

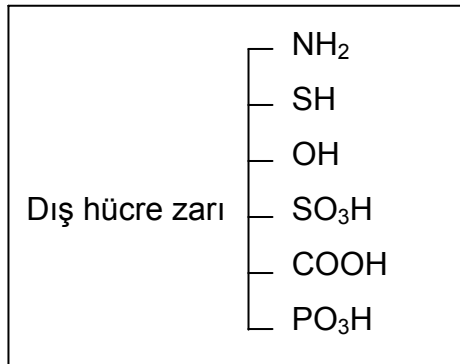
1. Metabolizmadan bağımsız giderim mekanizması
2. Metabolizmaya bağımlı giderim mekanizması

Metal gideriminin gerçekleştirildiği yere göre metal giderim mekanizmaları üç gruba ayrılabilir.

1. Hücre dışı akümülayon (birikim) veya çökme
2. Hücre duvarına sorpsiyon veya çökme
3. Hücre içi akümülayon (birikim)

1. **Çöktürme:** Çöktürerek metal giderimi hem çözelti içinde hemde hücre yüzeyine olabilir. Eğer zehirli toksik metallere karşı mikroorganizma, çökmeyi kolaylaştırıcı bileşikler salgılayarak, bu işleme yardımcı oluyorsa, bu mekanizma metabolizma bağımlı hale gelir. Ama metal çökmesi hücre yüzeyi ve metal arasındaki bir kimyasal etkileşmeden meydana geliyorsa, hücre metabolizmasına bağımlı değildir. Sülfat indirgenmesi ile metalik iyonların çöktürülmesi bu işleme iyi bir örnektir.

2. **Biyosorpsiyon:** Metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyon mikrobiyal hücre yüzeyindeki mevcut bazı fonksiyonel gruplar ile metal arasında birçok fizikokimyasal etkileşmeden ortaya çıkar. Bu olay sırasında metabolizmaya bağlı olmayan fiziksel adsorpsiyon, iyon değişimi ve kimyasal sorpsiyon meydana gelebilir. Mikrobiyal kütlelerin hücre duvarı polisakkaritlerden, protein ve lipidlerden oluşur. Bu yapılarda sık rastlanan karboksil, sülfat, fosfat ve amino gibi metal bağlayıcı gruplar vardır.



Şekil 2.4. Toksik metallerin biyosorpsiyon bölgeleri

Bu tip biyosorpsiyon, metabolik aktiviteden bağımsızdır ve nispeten hızlı ve tersinirdir [50]. Biyosorpsiyon sırasındaki olayların mekanizmalarını daha detaylı inceleyebiliriz.

Fiziksel adsorpsiyon : Fiziksel adsorpsiyon, van der Waals kuvvetlerinin yardımıyla meydana gelir . Kuyucak ve Volesky (1986) ölü algler, mantarlar ve mayalar tarafından U,Cd, Zn, Cu ve Co biyosorpsiyonunun, çözeltideki

metal iyonu ile hücrenin duvarı arasındaki elektrostatik etkileşmeden kaynaklandığını öne sürmüşlerdir. Aksu ve arkadaşları (1992), bakırın *Zoogloea ramigera* bakterisi ve *Chiarella vulgaris* algi tarafından biyosorpsiyonun elektrostatik etkileşmenin neden olduğunu söylemişlerdir [51].

İyon değişimi : Hücre duvarı polisakkaritleri içerir ve sulu ortamdaki iki değerlikli metal iyonları polisakkaritlerin karşı iyonları ile yer değiştirirler. Örneğin, deniz alglerinin aljinatı, K^+ , Na^+ , Ca^{+2} veya Mg^{+2} iyonlarının tuzları şeklinde bulunur. Bu iyonlar, Co^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} , Zn^{+2} gibi karşı iyonlarla yer değiştirirler [50].

Kompleksleşme : Çözüldü metal tutulması, yüzeydeki aktif grup ile metalin hücre yüzeyinde kompleks oluşturmasıyla meydana gelebilmektedir. Aksu ve arkadaşları (1992), Cu^+ in *C.vulgaris* ve *Z. Ramigera* tarafından biyosorpsiyonu hem adsorpsiyonu hemde hücre duvarı a.t amino ve karboksil grupları arasında koordinasyon bağlarının oluşumuyla meydana geldiğini söylemişlerdir. Mikroorganizmalar aynı zamanda organik asitler (sitrik asit, okzalik asit, glukonik asit, fumarik asit, laktik asit, malik asit) de üretebilirler. Bu asitler toksik metaller ile kelat oluşturarak organo-metalik moleküllerin oluşmasını sağlarlar. Bu mekanizma metallerinin, katı yüzeyden liçi ve çözülmesine neden olur.

Çöktürme : Hücre metabolizmasına bağlı olmayan çöktürme prosesi, metal ile hücre yüzeyinin kimyasal etkileşmesinden ortaya çıkar.

Yukarıda değinilen birçok biyosorpsiyon mekanizması bir arada meydana gelebilir.

3. Hücre zarından taşınım ve hücre içi birikim: Metallerin hücre zarından taşınımı, hücre içi akümülayonu doğurur ve bu olay hücre metabolizmasına bağlıdır. Bu çeşit metal giderimi sadece canlı hücreler ile mümkündür. Metabolik hücre zarından metal taşınımı, metabolik olarak önemli olan K^+ ,

Mg⁺, Na⁺ gibi iyonlarının taşınım mekanizması tarafından kolaylaştırılmış olabilir. Metal taşınım sistemleri, esas iyonun yanında, aynı yüke sahip ve benzer iyonik çaplı ağır metalin varlığı ile şaşırmış olabilir. Canlı mikroorganizmalar tarafından metal giderimi iki basamaktan oluşur. Birincisi, metabolizmadan bağımsız hücre duvarına bağlanma, ikincisi metabolizmaya bağlı hücre içine alma. Toksik metallerin hücre içi akümüasyonu enerjiye bağlı taşınım sistemleri tarafından gerçekleştirilir. Hücre zarının toksik elementlere geçirgen olması, hücre içi bağlanma bölgelerine metallerin erişmesini sağlar ve bu durum pasif akümüasyonu attırır. Farklı çalışmalar, hücre içine alınan metallerin, hücre içinde farklı bölgelerde lokalize edildiğini ve mikroorganizmanın cinsi ile farklılık gösterdiğini belirtmektedir [3]. Hücre içi akümüasyonun gerçek mekanizması tam olarak bilinmemektedir.

2.3. Kesikli Kültür Sistemi

Biyosentezde hücreler biyokütle olarak adlandırılırlar ve bunların besi kaynaklarını tüketerek bir yandan daha fazla hücre üretirken, diğer yandan önemli ürünlerin oluşumunu sağlarlar. Besinlerin enerji ve biyoürünlere dönüşümü, pek çok farklı enzim kullanarak gerçekleşen bir seri reaksiyonun, metabolik maddeler üretmesi ile meydana gelir. Bu ürünler ya hücre içerisinde kalırlar yada hücreden salgılanırlar.

Mikroorganizmaların üretilmesi, canlılıklarının devam ettirilmesi, saf kültürün elde edilmesi, biyolojik ve metabolik ürünlerin elde edilmesi gibi amaçlarla doğal ortam dışında çoğalmak için kullanılan ve amaca uygun olarak genelde mikroorganizmaların gereksinim duyduğu maddeleri ve özellikleri içeren besleyici ortamlara besiyeri denir.

Besiyerleri mikroorganizmaların gereksinim duyduğu temel bazı maddeleri içerecek şekilde düzenlenmelidir. Genel olarak mikroorganizmaların gereksinim duyduğu besi yeri bileşimlerinde yer verilmesi gereken maddeler; su, karbon, enerji kaynağı maddeler (çeşitli karbonhidratlar, karbonhidratların

yokluğu ve yetersizliği durumlarında proteinler v.b.), azot kaynağı maddeler (proteinler, peptonlar, aminoasitler, KNO_3 ve $(NH_4)_2 PO_4$ gibi azotlu inorganik tuzlar), inorganik maddeler (makro elementler, Na, K, Cl, P, S, Ca, Mg, Fe , mikro elementler, Zn, Mn, Br, B, Cu, Co, Mo, V, Sr, v.b.), vitaminler, aminoasitler, pürin ve pirimidin gibi üreme faktörleridir.

Üzerinde veya içinde mikroorganizma üretilmiş (yada üremiş) besi yerine kültür denir. Mikroorganizmaların buldukları ortamdan belli teknikler ile alınarak uygun bir besi yerine aktarılması ve burada gelişmelerinin sağlanmasına kültür yapma (kültivasyon) denir. Kültürler genellikle buzdolabında (0-5 °C de) muhafaza edilmektedir. Ayrıca kültürleri dondurarak (derin dondurucuda -20 °C, sıvı azot içinde -196 °C) donmuş halde ve liyofilize stok kültürlerini hazırlayarak kuru formda, canlılık ve aktivitelerini yitirmeden uzun süre saklamak mümkündür [24].

Kesikli kültür sistemlerinde büyüme kapalı bir sistem veya kapalı bir çevrede gerçekleşir. Kesikli kültür sistemleri uygun büyüme ortamı içeren bir kap olup optimum pH, sıcaklık ve redoks potansiyeli koşullarında çalıştırılırlar. Büyüme, ortamdaki gerekli bileşenlerin tükenmesi veya toksik ürün birikimi, pH değişikliği gibi çevresel değişiklikler gözlenene kadar devam eder. Tipik bir kesikli çoğalma eğrisi Şekil 2.4 de gösterilmiştir. Çoğalma eğrisinde gözlenen fazlar aşağıdaki gibidir:

Gecikme fazı (lag fazı) : Mikroorganizmalar ortama aşılandıktan hemen sonra bir büyüme gözlenmez. Bu periyot boyunca hücreler, mevcut substratların kullanımını için gerekli enzimleri sentezleyerek yeni çevrede büyümeye adapte olurlar. Bu fazın süresi hücrelerin alındığı büyüme ortamına ve aşılama yapıldıkları ortamın benzer olmasında yada farklı olmasına bağlıdır. Eğer ortam aynı ise gecikme fazı kısa olacaktır yada hiç gözlenmeyecektir. Eğer bu iki ortam farklı ise gecikme fazı uzun sürecektir. Bu fazın kısaltılması mikrobiyal teknolojide ekonomik yarar sağlamaktadır.

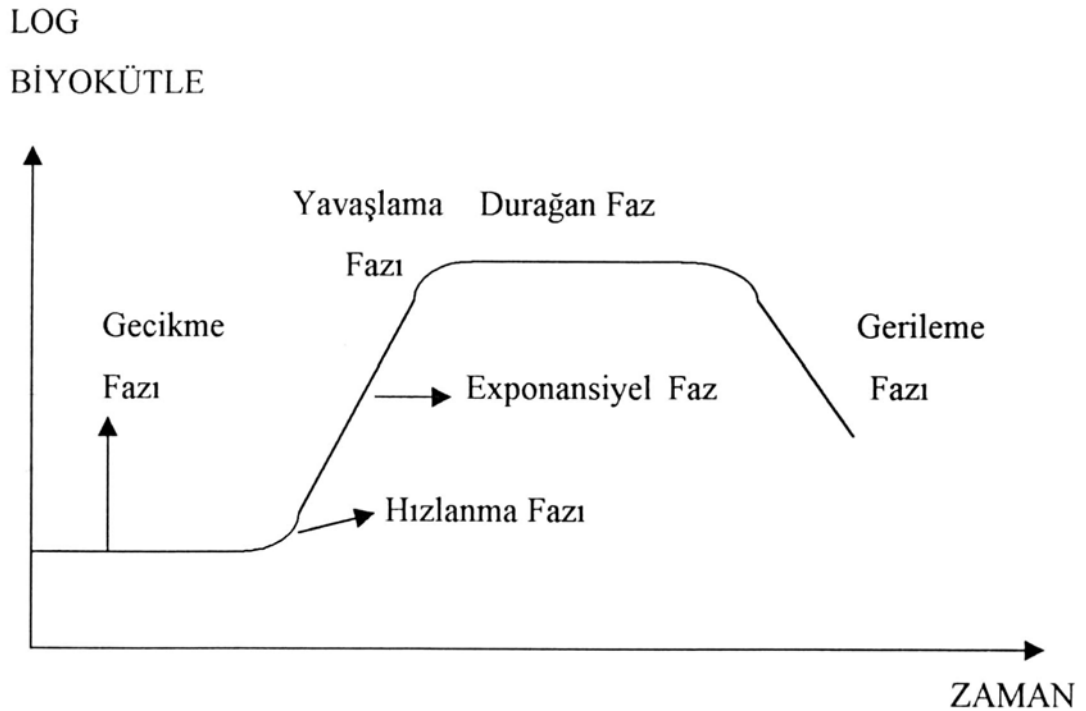
Hızlandırılmış Büyüme Fazı : Hücre sayısı ve bölünme hızı artmaya başlar.

Eksponansiyel veya logaritmik faz : Organizmanın büyüme hızı sabit kalana kadar artar. Bu koşullarda hücredeki tüm bileşenlerin sentezi sabit hızla artar. Hücre popülasyonu iki katına çıkar ve belli periyotlarda iki katı olmaya devam eder.

Yavaşlamış büyüme fazı : Büyüme hızı ve bölünme sayısı yavaşlamaya başlar.

Durağan faz : Büyüme hızı sıfıra düşer. Hücre kuru ağırlığı sabit kalır. Net büyüme gözlenmez. Bunun nedeni, gerekli besinlerin tükenmiş olması, toksik madde birikimi veya hücre çevresindeki değişimler (örneğin pH) olabilir.

Gerileme fazı : Ölüm hızının, büyüme hızından büyük olduğu fazdır. Mikroorganizmaların ölüm hızları arttığından zamanla konsantrasyonda azalma gözlenir.



Şekil 2.5. Kesikli kültürde hücre çoğalmasının kinetiği

Mikrobiyal hücrelerin büyümesi otokatalitik bir olaydır. Bu nedenle, hücre kuru ağırlığındaki artış hızı başlangıçta bulunan hücrelerin konsantrasyonu ile orantılıdır. Tek hücreli organizmaların eksponansiyel büyümesi sırasında hücre kuru ağırlığı düzenli aralıklarla iki katına çıkar [24] ve sonuç olarak t süre sonunda iki katına çıkma sayısı

$$n = t / t_d \quad (2.1)$$

n : iki katına çıkma sayısı

t : geçen süre (saat)

t_d : mikroorganizma kuru ağırlığının iki katına çıkması için geçen süre (saat^{-1})

Eğer x_0 başlangıçtaki kuru biyokütle ağırlığı ise t süre sonra biyokütle ağırlığı

$$x_1 = x_0 2^n = x_0 2^{t/t_d} \quad (2.2)$$

olarak tanımlanır.

Eşitliğin her iki tarafının logaritması alındığında ;

$$\ln (x / x_0) = (t / t_d) \ln 2 \quad (2.3)$$

düzenlendiğinde ;

$$\frac{\ln x - \ln x_0}{t} = \frac{\ln 2}{t_d} \quad (2.4)$$

olup, buna göre μ spesifik büyüme hızı olarak tanımlanır.

Zamana karşı $\ln (x/x_0)$ grafiği, eğimi $0,693/t_d$ olan düz bir doğru verir ki bu doğrunun eğimi spesifik büyüme hızı μ dür. Spesifik büyüme hızı μ sadece eksponansiyel fazda büyümeyi tanımlar ve bu faz boyunca sabittir.

2.4. Biyosorpsiyon Modelleri

Araştırmacılar, mikroorganizmalar tarafından ağır metallerin giderilmesinin iki basamaktan oluştuğunu bulmuşlardır. Birinci basamak organizma yüzeyinde fiziksel adsorpsiyon veya iyon değişimidir. Bu basamağa genellikle pasif giderim denir. Bu basamak çok hızlıdır. Ağır metaller ile mikroorganizma etkileştikten kısa bir süre sonra denge oluşur. Metal alımında ikinci basamak, metal iyonlarının hücre zarından içeri taşınımını da içeren, metabolik aktiviteye bağlı, daha yavaş, hücre içi giderim basamağıdır. Bu basamağa aktif giderim denir. Biyosorpsiyon dengesi, deneysel verilerin adsorpsiyon model eşitliklerine uyarlanmasıyla tanımlanabilmektedir [52].

2.4.1. Adsorpsiyon izotermi

Biyosorbent kapasitesini değerlendirmek için en uygun yöntem adsorpsiyon izotermi geliştirmektir. Adsorpsiyon izotermi adsorbent ile adsorblanan madde arasındaki ilişkiyi gösteren ampirik ifadelerdir. Genel olarak, adsorbe olan madde miktarı, adsorbant konsantrasyonunun kompleks bir fonksiyonudur. Adsorpsiyon izotermi, bilinen miktardaki adsorbent ile farklı konsantrasyonlarda adsorblanan maddeyi (adsorbe olan) içeren çözeltilerini dengeye ulaştırarak elde edilir. Adsorpsiyon izotermi; yüzey özelliklerini, sorbentin benzerliklerini ve değişik metal iyonları için biyokütle biyosorbent kapasitesini karşılaştıran belirli sabitlerle karakterize edilirler [10]. Adsorpsiyon izotermi bilinmesi önemlidir. Adsorpsiyon kapasitesi hakkında bize bilgi verir ve adsorpsiyon sistemini geliştirmemize olanak sağlar. Langmuir ve Freundlich izotermi, su ve atıksu uygulamalarında adsorpsiyon verilerini analiz etmede kullanılmaktadır.

a) Langmuir izotermi (1918): Bu izoterm, adsorbent üzerinde alıcı noktaların olduğunu kabul eder. Bu her alıcı noktanın sadece bir molekül adsorblama yapacağı kabul edilmiştir. Oluşan tabaka bir molekül kalınlığındadır. Tüm adsorpsiyon alanları adsorblanan madde moleküllerine karşı eşit çekim

uygular. Adsorbe olmuş molekül yan alandaki molekülle etkileşmez. Langmuir izotermi, katı yüzeylerde aktif adsorpsiyon alanlarında meydana gelen tutulmanın fiziksel adsorpsiyon mu yoksa kimyasal adsorpsiyon mu olduğunu diğer izotermilere göre daha iyi açıklamaktadır.

Langmuir izoterminde adsorpsiyon, adsorblanan madde konsantrasyonu ile birlikte lineer artar. Maksimum doyma noktasında, yüzey tek tabaka ile kaplanmaktadır ve yüzeye adsorplanan madde miktarı sabit kalmaktadır. Langmuir izoterminde adsorpsiyon enerjisi uniformdur. Adsorpsiyon hızı adsorblanan konsantrasyonu ve yüzeyde bulunan boş adsorpsiyon alanları ile doğru orantılıdır. Desorpsiyon hızı da yüzeyde adsorplanan molekül sayısı ile doğru orantılıdır. Adsorplanan madde miktarı ile çözeltideki denge konsantrasyonu arasındaki ilişki aşağıdaki bağıntı ile verilir.

$$q = q_m b C_e / (1 + b C_e) \quad (2.5)$$

q = birim sorbentin kütlesi başına adsorplanan madde miktarı, mg/g

q_m = yüzeyde bir tabaka oluşturmak için birim sorbentin kütlesi başına adsorplanan maksimum madde miktarı, mg/g

b = Langmuir sabiti

C_e = dengede adsorpsiyon sonrası çözeltide kalan maddenin konsantrasyonu, ppm

Denge parametrelerini hesaplayabilmek için Langmuir eşitliği şu şekilde lineerize edilebilir ;

$$1 / q = (1 + bC_e) / q_m b C_e \quad (2.6)$$

$$1 / q = 1 / (q_m b C_e) + 1 / q_m \quad (2.7)$$

$$C_e / q = 1/q_m b + C_e/q_m \quad (2.8)$$

b) Freundlich izotermi (1926): Bu izoterme göre bir adsorbentin yüzeyi üzerinde bulunan adsorpsiyon alanları farklı türdeki adsorpsiyon alanlarından teşkil edilmiştir. Yani adsorbentin yüzeyi üzerinde bulunan adsorpsiyon alanları heterojendir. Bu modele göre, tek tabaka adsorpsiyonu ile ilgili aşağıdaki ampirik bağıntı verilmiştir.

$$q_e = K_f C_e^{1/n} \quad (2.9)$$

q_e : dengede birim sorbentin kütlesi başına adsorplanan madde miktarı (mg/g)

K_f : Freundlich izoterm sabiti adsorpsiyon kapasite değeri

$1/n$: adsorbsiyon derecesi

C_e : dengede adsorpsiyon sonrası çözeltide kalan madde konsantrasyonu, ppm

Freundlich denkleminin her iki tarafının logaritmasını alarak doğrusal hale getirirsek ;

$$\log(q_e) = \log K_f + (1/n)\log C_e \quad (2.10)$$

$1/n$ heterojenite faktörüdür ve 0-1 aralığında değerler alır. Yüzey ne kadar heterojense, $1/n$ değeri o kadar sıfıra yakın olur. Langmuir denklemi genelde, birden fazla bileşenli çözeltilerde veya seyreltik çözeltilerde Freundlich denklemindeki kadar iyi uygulanamaz.

c) Temkin İzotermi : Sorpsiyon sırasındaki entalpi değişiminin zamana karşı lineer olarak değiştiğini farzetmektedir.

$$q_e b_T = \ln C_e K_T \quad (2.11)$$

$$q_e b_T = \ln K_T + \ln C_e \quad (2.12)$$

$$q_e = \ln K_T / b_T + \ln C_e / b_T \quad (2.13)$$

q_e : dengede birim sorbentin kütlesi başına adsorplanan madde miktarı (mg/g)

C_e : dengede adsorpsiyon sonrası çözeltide kalan madde konsantrasyonu, ppm

b_T : Temkin izoterm sabiti

K_T : Temkin etkileşim sabiti

d) Jovanovich ($r=1.5$) J2 Izotermi

$$q_e = M (1 - (1 + 0.5 C_e K)^2) \quad (2.14)$$

q_e : dengede birim sorbentin kütlesi başına adsorplanan madde miktarı (mg/g)

C_e : dengede adsorpsiyon sonrası çözeltide kalan madde konsantrasyonu, ppm

K: denge sabiti

M: Maksimum adsorpsiyon kapasitesi, mg/g

2.5. Bakır (Cu^{+2}) İyonu

Bakır madeni oksit, karbonat ve sülfid bileşikleri şeklinde endüstride çok kullanılmaktadır. Endüstriyel atık sularda ise bakır (II) iyonları halinde hidroliz ürünlerinde ve $CuCO_{3(aq)}$ olarak organik bileşikleri şeklinde bulunur. Bakır (Cu^{+2}), memelilerde kırmızı kan hücrelerinin yapımında (eritropoesis) esansiyel olan bir metaldir [26]. Redoks reaksiyonlarını gerçekleştirebilir olması elektron transferi gerektiren tüm reaksiyonlarda rol almasını sağlamaktadır. Sitokrom oksidaz, katalaz, selenyuma bağlı glutatyon peroksidaz, süperosit dizmutaz (SOD), histaminaz, lysil oksidaz, tyrosinaz ve dopamine-beta hidroksilaz enzimlerinin işlevlerinde esansiyel bir rol oynar [27].

Bakır eksikliğinde enerji üretiminde bozukluk, anormal glukoz ve kolesterol metabolizması, oksidatif strese artış, kan ve bağışıklık sistemi hücrelerinde bozukluk, anormal nöropeptit sentezi, kalp ve sinir sisteminde bozukluk gözlenmektedir [28, 29]. Amerika Birleşik Devletlerinde diyetle günlük alınmasına izin verilen miktar (RDA) kadın ve erkek için 9 mg/gün olarak belirlenmiştir [27].

Cu^{+2} toksisitesi de Cu^{+2} eksikliği gibi oksidatif stres ve doku hasarı ile kendini gösterir. Vücutta süperoksit anyonuyla hidrojen peroksit (H_2O_2) arasındaki reaksiyonu katalize ettiğinden aşırı miktarlarında oksidatif stress yaratır [27]. Cu^{+2} ayrıca sistein amino asidinin serbest tiyol gruplarına bağlanarak oksidasyona ve proteinle çapraz bağlanma yaparak onarımı mümkün olmayan toksisiteye de neden olur [30]. İnsanlarda kansere neden olduğunu gösteren veri yoktur. Hayvanlarda kanser yaptığını gösteren verilerse yetersizdir [33].

Akut Cu^{+2} toksisitesine intihar girişimleri haricinde kontamine olmuş su veya içeceklerle rastlanmaktadır. Akut zehirlenme belirtileri arasında abdominal ağrı, bulantı, kusma, baş ağrısı, letharji (uyuşukluk), ishal, taşikardi, solunum güçlüğü, hemolitik anemi, sindirim sisteminde kanama, karaciğer ve böbrek bozukluğu ve ölüm sayılabilir [31, 32]. Akut toksisitesinin mekanizması tam olarak anlaşılmamış olmakla beraber oksidatif stres ve endokrin sistemdeki hasarlarına bağlanmaktadır [34, 35].

Cu^{+2} a içme suyuyla kronik maruziyetin özellikle genetik olarak Cu^{+2} metabolizasyonunda otozomal resesif hastalığı (Wilson hastalığı) olan heterozigot bebek, çocuk ve yetişkinlerde daha zararlı olduğu bilinmektedir [27].

2.6. Krom (Cr^{+3} ve Cr^{+6}) İyonu

Krom, doğada Cr^{+2} - Cr^{+6} oksidasyon basamaklarında bulunur. Metallerin kimyasal formu toksisiteyi önemli derecede etkiler. Krom sulu sistemlerde hem Cr^{+3} hem de Cr^{+6} değerlikli olarak oluşur ve biyolojik olarak önemlidir. Cr^{+6} bileşikleri Cr^{+3} bileşiklerinden çok daha toksiktir. Sanayi atıklarında ise krom, kromat CrO_4^{-2} , dikromat $Cr_2O_7^{-2}$ olarak ve genelde altı değerlikli olarak bulunur. Bunların en toksik olanı heksavalan (Kromat) formudur. Cr^{+6} formu akciğerler gibi çeşitli doku tiplerinin hücre membranlarından kolayca geçebilir ve hücre içinde Cr^{+3} 'e indirgenir.

Cr^{+3} insan ve hayvanlarda esansiyel bir elementtir. Esansiyel olanlar, eksikliklerinde olduğu gibi fazla miktarlarda alındıklarında da vücut homeostazını bozarak toksik etki oluşturabilirler. Krom eksikliğinin kurşun toksisitesini arttırdığı bilinmektedir.

Krom bileşiklerinin tümü yüksek miktarlarda alındığında toksik olabilir, ancak Krom IV, Krom III'e göre daha toksiktir. Yüksek miktarlarda solunması burun, akciğer, mide ve barsaklara zarar verebilir. Kroma allerjisi olan kişilerde astım krizlerine neden olabilir. Uzun süre yüksek ve orta düzeylerde maruziyet burun kanaması, yaraları, akciğer hasarı ve kanser dışındaki akciğer hastalıklarında artışa neden olabilir. Sindirim yoluyla yüksek düzeylerde alınırsa mide şikayetleri ve ülser, konvülsiyonlara, böbrek ve karaciğer hastalıklarına, hatta ölüme neden olabilir. Cilde temas durumunda cilt ülserleri oluşabilir. Ayrıca ciltte allerjik reaksiyonlara yol açabilir.

EPA'ya göre içme suyundaki krom miktarı (III ve IV) litrede 100 mikrogramı (0,1 mg/l) geçmemelidir.

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

3.1. Canlı Mikroorganizmalarla İlgili Literatür Araştırmaları

Dönmez ve Aksu, bakır iyonunun adapte edilmiş ve canlı *Saccharomyces cerevisia*, *Kluveromyces marxianus*, *Schizosaccharomyces pombe* ve *Candida spp.* mikroorganizmalarının büyüme ve biyoakümülyasyon özelliklerine etkisinin araştırmışlardır. Bakır akümülyasyon seviyesinin pH ve başlangıç bakır konsantrasyonuna bağlı olduğunu göstermişlerdir. En yüksek bakır akümülyasyonu için, optimum pH değerinin *Saccharomyces cerevisia*, *Kluveromyces marxianus*, *Schizosaccharomyces pombe* ve *Candida spp.* mikroorganizmalarıyla sırasıyla 4.0, 5.0, 4.0 ve 4.0 olduğunu saptamışlardır. Sonuçlar *Candida spp.* Ve *Kluveromyces marxianus* un biyolojik aktivitelerini kaybetmeden, yüksek bakır konsantrasyonlarında bile ortamdan büyük oranda bakır akümüle edebildiklerini göstermektedir [10].

Dönmez ve Aksu Cu(II) ve Ni(II) iyonlarının, adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Candida sp.* canlı hücrelerinin büyüme ve biyoakümülyasyon özelliklerine etkisini, başlangıç pH ı ve başlangıç iyon konsantrasyonu açısından incelemişlerdir. Cu⁺⁺ iyonuna adapte edilen *Candida sp.* nin, Ni⁺⁺ iyonuna adapte edilmiş *Candida sp* ye göre daha yüksek başlangıç iyon konsantrasyonlarında biyolojik aktivitesini kaybetmeden, daha fazla biyoakümülyasyon yapma yeteneği olduğunu gözlemişlerdir. [13].

Siloniz ve arkadaşları atık çamurdan izole edilmiş canlı ve ölü *Pichia guilliermondii* mayası ile bakır iyonunun giderim yeteneğini araştırmışlardır. Bakır konsantrasyonu artışının, canlı mayanın morfolojisini ve fizyolojik parametrelerini etkilediğini bulmuşlardır. Adapte edilmemiş hücrenin büyüme hızının artan bakır konsantrasyonu ile azaldığını gözlemişlerdir. Bakır konsantrasyonunu 317.7 mg/l kadar arttırarak adapte ettikleri mayanın, adapte edildikten sonra, artık biyokütle veriminin, büyüme hızının dış ortamdaki bakır konsantrasyonundan bağımsız olduğunu söylemişlerdir. Adapte edilmiş canlı hücre ile ortamdan 20 mg/g Cu akümülyasyonu olduğunu

belirtmişlerdir. Ölü hücrelerle yapılan adsorpsiyon verileri Langmuir ($q_{max} = 9.09 \text{ mg/g}$) izotermi ile modellenmiştir. [8].

Dursun ve arkadaşları *Aspergillus niger* in Cr(VI), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarını, biyoakümülyasyonu üzerine başlangıç pH ve iyon konsantrasyonu etkisini incelemişlerdir. Cu(II), Pb(II) ve Cr(VI) için optimum pH değerlerinin sırasıyla 5.0, 4.5 ve 3.5 olduğunu bulmuşlardır. 100 mg/dm^3 başlangıç Cu(II) ve Pb(II) konsantrasyonunda uzaklaştırma kapasitesinin sırasıyla 15.6 ve 34.4 mg/g olduğunu bulmuşlardır. *Aspergillus niger* 'in çoğalmasının Cr(VI) iyonlarından büyük oranda etkilendiğini ve 75 mg/dm^3 başlangıç Cr(VI) konsantrasyonunda tamamen inhibe edildiğini bulmuşlardır [12].

Skountzou ve arkadaşları, ekmek mayasının, melas ortamında, aerobik çoğalması sırasında Pb giderimini incelemişlerdir. 50 mg l^{-1} Pb konsantrasyonunun büyüme hızını %50, biyokütle verimini %60 azalttığını bulmuşlardır. Biyokütlerdeki azalmanın ağır metal tutma kapasitesini etkilediğinin belirtmişlerdir. 150 mg/l başlangıç Pb konsantrasyonunda, maksimum metal giderme kapasitesinin 20.4 mg/g kuru ağırlık olarak gerçekleştiği görülmüştür [4].

Sannasi ve arkadaşları, metal işleme aktiviteleri ile ilgili bölgelerden toplanan karışık bakterilerden oluşan bir konsorsiyum kültürü ile, Cr(VI), Cu(II) ve Pb(II) nun sulu ortamlardan uzaklaştırılmasını canlı ve ölü hücrelerle incelemişlerdir. Canlı hücrelerin ölü hücrelerden daha fazla metal tutma kapasitesi gösterdikleri, Pb(II) için 238.09 mg/g , Cu(II) için 178.87 mg/g maksimum kapasitelere pH 6 da ulaşıldığı saptanmıştır. Cr(VI) için canlı hücrelerle elde edilen en yüksek metal giderim kapasitesi pH 7 de 90.91 mg/g değerine ulaşmıştır. PH 6 – 8 aralığında, canlı hücrelerin ölü hücrelerden Cr için 38 – 52 %, Cu için 17 – 28 % ve Pb için 3 – 17% daha fazla metal tutma kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Daha düşük metal konsantrasyonlarında ve daha asidik ortamlarda (pH 3 – 4) ölü hücrelerin ağır metal giderim kapasitesi yüksektir [53].

Anand ve arkadaşları, Cu iyonunun *Trichoderma viride* ile giderimi sırasında biyoakümülyasyon mekanizmasını incelemişlerdir. 100 mg/l $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonunda, Cu iyonunun %81 nin 72 saat içinde 3.4 g/l biyokütle ağırlığı ile uzaklaştırıldığını görmüşlerdir. Olayın sıcaklık ve pH a bağımlı olduğunu saptamışlardır. Metabolik inhibitörlerin biyoakümülyasyon üzerine etkisini saptamışlardır. Elektron mikroskobu ve hücre fonksiyonu ile yapılan çalışmalar, Cu ın 70 – 80 % nin hücre duvarı yüzeyinde, bir halinde olarak bulunduğunu göstermişlerdir [54].

3.2. Ölü Mikroorganizmalarla İlgili Literatür Araştırmaları

Özer ve arkadaşları, ağır metallerin yeşil yosun üzerine biyosorpsiyonunu incelemişlerdir. Pb (II) ve Cr(VI) iyonlarının, *Cladophora crispata* üzerine adsorpsiyonu için optimum pH ve sıcaklık değerlerini saptamışlardır. Pb(II) için en uygun pH 5, sıcaklık 25⁰C, Cr(VI) için optimum pH 1 ve sıcaklık 25⁰C olarak bulunmuştur. Adsorpsiyon izotermi elde edilmiş ve adsorpsiyon denge verisinin çalışılan metal konsantrasyonları için Freundlich ve Langmuir izotermi ile uyumlu olduğu gözlenmiştir [55].

Nourbaksh ve arkadaşları, Cr(VI) iyonunun cansız *Chlorella vulgaris*, *Clodaphara crispata*, *Zoogloea ramigera*, *Rhizopus arrhizus* ve *Saccharomyces cerevisia* ile biyosorpsiyonunu incelemişlerdir. Başlangıç pH değerinin, biyokütlenin metal giderim kapasitesini etkilediği, bütün mikroorganizmalar için optimum başlangıç pH değerinin 1 –2 pH olduğunu saptamışlardır. Adsorpsiyon hızının, artan başlangıç iyon konsantrasyonu ile arttığını gözlemişler ve bütün mikroorganizmalar için Freundlich adsorpsiyon izotermi sabitlerini bulmuşlardır [56].

Cu(II) ve Cr(VI) iyonlarının birlikte, ikili iyon karışımından C. Vulgaris hücresine biyosorpsiyonu Aksu ve Açıkkel (1999) tarafından tek basamaklı kesikli reaktörde ağır metalleri içeren atık su hacmi / biyosorbent miktarının

fonksiyonu olarak incelenmiştir. Sorpsiyon olayı yarışmalı, çok bileşenli Freundlich adsorpsiyon izotermi ile ifade edilmiştir [57].

Sağ ve Kutsal (2000), Fe(II), Cr(VI), Pb(II), Cu(II) ve Ni(II) iyonlarının *Zoogloea ramigera* (aktive edilmiş aktif çamur bakterisi) ve *Rhizopus arrhizus* (filament fungus) ile biyosorpsiyonunu, başlangıç metal konsantrasyonu ve sıcaklığın fonksiyonu olarak incelemiştir. Farklı sıcaklıklarda Langmuir modelinin, metal-mikroorganizma sistemlerine uygulanabilirliğini kontrol etmişlerdir. Termodinamik veriler Cu(II), Ni(II) biyosorpsiyonunun ekzotermik, Fe(III), Cr(VI) ve Pb(II) biyosorpsiyonunun endotermik olduğunu göstermektedir [58].

Aksu ve Dönmez (2001), sulu çözeltilerden Cu(II) iyonu giderimini, canlı (işlem görmemiş) ve işlem görmüş (kurutulmuş, otoklav edilmiş, perklorik asit ile yıkanmış, etanol ile yıkanmış, formaldehit ile işlem görmüş) *Candida sp.* ile incelemiştir. Canlı ve işlem görmüş mikroorganizma için optimum pH 5 olarak bulunmuştur. Mikroorganizmayı öldürmek için kullanılan bütün metotlar, formaldehit ile işlem dışında *Candida* hücrelerin biyosorpsiyon kapasitesini arttırmıştır. Canlı, otoklav edilmiş ve formaldehit ile işlem görmüş hücrelerde önce hızlı yüzeye bağlanma, ikinci basamakta daha yavaş hücre içine Cu(II) iyonunun alınmasıyla devam etmektedir. Diğer türlü işlem görmüş hücrelerde, sadece yüzeye tutunma meydana gelmektedir. Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon modelleri işlem görmüş ve görmemiş hücrelerle kısa süreli biyosorpsiyonu tanımlamaya yeterlidir [59].

Nuhoğlu ve arkadaşları, Cu (II) iyonunun *Ulothrix zonala* alg üzerine adsorpsiyonunu kesikli sistemde incelemiştir. Denge biyosorpsiyon seviyesi üzerine temas süresi ve başlangıç metal konsantrasyonu etkisi saptanmıştır. Ayrıca adsorbent konsantrasyonunun etkisinde incelenmiştir. Deneysel veriler Langmuir modele uyarlanmıştır. Adsorpsiyon prosesi için serbest enerji - 12.60 kJ / mol olarak bulunmuştur. *Ulothrix zonala* nın atık

sulardan metal giderimi için ve metallerin geri kazanılması için uygun bir biyosorbent olduğuna karar verilmiştir [23].

Özer ve Özer, Pb (II), Ni(II) ve Cr(VI) iyonlarının inaktif *Saccharomyces cerevisiae* üzerine biyosorpsiyonunu başlangıç pH, başlangıç iyon konsantrasyonu ve sıcaklık fonksiyonu olarak incelemiştir. Pb(II), Ni(II) ve Cr(VI) biyosorpsiyonuna ait deneysel denge verisine Langmuir modeli uygulanmış, 25⁰C da maksimum metal tutulması sırasıyla 270.3, 46.3 ve 32.6 mg/g olarak bulunmuştur. Ayrıca biyosorpsiyon ısıları da hesaplanmıştır. Sonuçlar Pb(II), Ni(II) ve Cr(VI) biyosorpsiyonunun karakter olarak fiziksel adsorpsiyon olduğunu ve ekzotermik özellik taşıdığını göstermektedir [37].

Hawari Ve Mulligon peynir üretimine ait atıksu arıtım tesisinin aneorobik reaktöründen elde ettikleri aneorobik granüler çamuru kurutarak elde ettikleri biyokütleyi, Ca(OH)₂ ile işlem sonrası biosorbent olarak kullanım olanaklarını araştırmışlardır. Biyokütlenin Ca formunun, katyon değiştirme kapasitesi 111 meşdeğer / 100g olarak saptanmış olup bu değer ticari iyon değiştirici reçinelerin kapasitesine yaklaşmaktadır. Pb(II), C d(II), Cu(II) ve Ni(II) için maksimum adsorpsiyon kapasiteleri sırayla 255, 60, 55 ve 26 mg/g olarak bulunmuştur [36].

4. DENEYSEL ÇALIŞMA

Bu çalışma 2 bölümden oluşmaktadır.

Birinci bölümde canlı *Pichia stipitis* mayası kullanılarak sentetik sulu ortamlardan ağır metal uzaklaştırma performansı incelenmiştir. Çalışmanın bu kısmında, adapte edilmiş ve adapte edilmemiş mayanın, ortama eklenen farklı konsantrasyonlardaki Cu^{+2} ve Cr^{+3} iyonlarını giderme etkisi araştırılmıştır.

İkinci bölümde ölü *Pichia stipitis* mayası ile sulu ortamlardan farklı konsantrasyonlardaki Cu^{+2} ve Cr^{+3} iyonlarının biyosorpsiyonuna sıcaklık ve pH'nın etkisi incelenmiştir. Deneysel Langmuir ve Freundlich biyosorpsiyon izoterm modellerine uyarlanmıştır.

4.1. Canlı *Pichia stipitis* Mayası Kullanılarak Sulu Ortamlardan Cu^{+2} ve Cr^{+3} İyonlarının Uzaklaştırılması

Çalışmanın bu bölümünde canlı *Pichia stipitis* mayası kullanılmış, adapte edilmiş ve adapte edilmemiş olarak Cu^{+2} ve Cr^{+3} iyonlarını tutma kapasiteleri mukayeseli olarak araştırılmıştır.

4.1.1. Mikroorganizmalar ve kültür şartları

Deneylerde kullanılan *Pichia stipitis* (NRRL-Y-7124)(CBS-5773) mayaları liyofiz halinde United States Department of Agriculture'den temin edilmiştir. İlk olarak liyofiliz formdaki mayaların transfer edileceği sıvı ortam hazırlanmıştır. Bu sıvı ortam; 0.3g yeast ekstrakt, 0.3g malt ekstrakt, 0.5g pepton ve 1g glukozun 100ml destile suda çözünmesi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözeltiden 0.5-0.7ml tüplere konularak, 121⁰C de 20 dakika otoklavda sterilizasyon yapılmıştır. Mayanın içinde bulunduğu cam kapsüllerin ağızları alkol ile silinip kesilerek, içindeki maya daha önce

hazırlanmış olan sıvı ortama atılarak birkaç dakika çözünmesi beklenmiş iyice çözünene kadar hızlı bir şekilde karıştırılmıştır. Daha sonra mayaların transfer edileceği eğik agar ortamı hazırlanmıştır. Eğik agar ortamı; 0.3g yeast ekstrakt, 0.3g malt ekstrakt, 0.5g pepton, 1g glikoz ve 2g agarın 100ml destile suda çözünmesi ile hazırlanmıştır. Hazırlanan bu çözelti tüplere konularak 121⁰C de 20 dakika süre ile steril edilmiştir. *Pichia stipitis* mayası ilk hazırlanan sıvıdan bir öze yardımı ile eğik agar ortamına steril şartlarda ekilmiştir. Bu ortamlar 25⁰C de 3 gün süre ile inkübatörde bekletilmiştir.

4.1.2. Büyüme ortamı

Mayaların büyütülmesinde sıvı kültürler kullanılmıştır. Metal iyonlarının çökmesini engellemek için ortam pH sı olarak 4.5 seçilmiştir. Hazırlanan 100ml büyüme ortamına, eğik agar ortamından mikroorganizma aşılansarak 250ml'lik erlende ağzı pamuk tıkaçla kapatılmış ve 30⁰C da 350rpm deki magnetik karıştırıcı üzerine konmuştur.

Mikroorganizmaların büyümesi için gerekli ortam aşağıda belirtilen şekilde hazırlanmıştır [23].

A çözeltisi litresinde 1.10g CaO, 0.40g ZnO, 5.40g FeCl₃.6H₂O, 0.36g MgO, 0.25g CuSO₄.5H₂O, 0.24G CoCl₂.6H₂O, 0.06G H₃BO₃ ve 13.0ml derişik HCl, B çözeltisi litresinde 10.1g MgO ve 45ml derişik HCl ve C çözeltisi litresinde 64.0g üre, 12g KH₂PO₄ VE 1.18g Na₂HPO₄ içeren çözeltilerdir.

10ml A çözeltisi, 10ml B çözeltisi, 100ml C çözeltisi ve 10g yeast ekstrakt karıştırılıp 1N HCl ve 1N NaOH ile pH4.5 e ayarlanmıştır. 50g Glikoz/L çözeltisinde pH 4.5 a ayarlanmıştır. Glikozun diğer maddeler ile reaksiyonunu engellemek için A, B,C, yeast ekstrakt ile hazırlanan çözelti ile 50g glikoz/l çözeltilerinin sterilizasyon işlemi ayrı olarak yapılmıştır. Sterilizasyon 121⁰C`de 20 dakika süre ile otoklavda yapılmıştır. Steril edilen bu iki çözeltinin aseptik şartlarda birleştirilmesi ile büyüme ortamı hazırlanmıştır. Büyüme ortamından belirli zaman aralıklarında numuneler

alınmış ve UV spektrofotometrede 600nm dalga boyunda absorbanları ölçülerek mikroorganizma sayısındaki değişim izlenmiştir. Ayrıca kuru ağırlık tayini yapılarak, kuru ağırlık ile absorban arasındaki ilişkiyi veren bir bağıntı elde edilmiştir (EK 1).

4.1.3. Metal giderim deneysel yöntemi

Çalışmalar ilk olarak adapte edilmemiş olan *Pichia stipitis* mayaları ile gerçekleştirilmiştir. Deneysel 10ppm, 30ppm, 50ppm, 75ppm ve 100ppm olarak hazırlanan farklı başlangıç metal konsantrasyonlarında, 100 ml hacimdeki büyüme ortamında yapılmıştır. Çözeltilerin hazırlanmasında deiyonize su kullanılmıştır. Hazırlanan 1000 ppm derişimindeki stok bakır(II) (Surechem Products Ltd., $Cu_2SO_4 \cdot 5H_2O$) ve krom(III) (Merck, $CrCl_3 \cdot 6H_2O$) çözeltilerinden, diğer konsantrasyondaki çözeltiler seyreltme yolu ile hazırlanmıştır. Çalışılacak başlangıç ağır metal konsantrasyonu için hesaplanan miktar stok çözeltiden alınarak, büyüme ortamı hacmi göz önünde bulundurularak, sübstrat (glikoz) içerisine aktarılmıştır. Büyüme ortamını oluşturan kimyasallar steril edilmiştir. Deney tüplerindeki eğik agar ortamına ekilmiş olan *Pichia stipis* mayası steril koşullarda büyüme ortamına aktarılmıştır. Aktarma işlemi, Laminar Hava Kabininde gerçekleştirilmiştir. Her büyüme ortamı aşılması için 2 şer tüp maya kullanılmıştır. Büyüme ortamı 30 °C sıcakta ve 350 rpm karıştırma hızında Ben-mari sistemi ile magnetik karıştırıcı üzerinde sabit tutulmuştur.

Belli periyotlarda alınan (0, 4, 8, 24, 30, 35, 49, 55, 79, 82 saat) 5ml lik numunelerin kültür ortamındaki mikroorganizma ağırlıkları ve kalan ağır metal konsantrasyonları saptanmıştır. Absorbans değerleri UV spektrofotometresinde ölçülmüştür. Başlangıç konsantrasyonuna göre tutunan ağır metal miktarları ise Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinde (AAS) belirlenmiştir (EK 1).

4.1.4. Adaptasyon

Mikrobiyal adaptasyon ile ağır metal içeren sulu ortamlardaki mikrobiyal popülasyonun kendisini değişen çevresel şartlara kademeli olarak uyarlamasının sağlanması amaçlanmıştır.

Adaptasyon tekniğinde, mikroorganizmalar en seyreltik zehir içeren ortamda öncelikle çoğaltılıp, daha sonra artan zehir konsantrasyonuna sahip ortamlara kademeli olarak aktarılıp, alıştıırılarak bu ortamlarda çoğalmaları sağlanır.

Bu çalışmada *Pichia stipitis* mayası Cu(II) ve Cr(III) içeren ortamlara adapte edilmiştir. *Pichia stipitis* mayasının adaptasyon işlemine, 5ppm ağır metal konsantrasyonu ile başlanmıştır. *Pichia stipitis* mayasının 5ppm ağır metal konsantrasyonundaki çoğalma eğrileri EK9 da verilmiştir. Öncelikle 5ppm ağır metal içeren ortamdaki mayanın eksponansiyel büyümesine denk gelen bir zamanda (Cu(II) iyonu için 20.saat ve Cr (III) iyonu için 19. saat) 5ml alınarak, 10ppm konsantrasyonundaki steril 100ml kültür içine aseptik koşullarda aktarılmıştır. Daha sonra bu ortamın yine eksponansiyel fazından alınan 5ml lik örnek, 30ppm ağır metal içeren büyüme ortamının steril koşullarda aşılması için kullanılmıştır. Bu ortamın eksponansiyel fazından alınan 5ml aşısı, bu kez 100ml, 50ppm ağır metal içeren büyüme ortamına aktarılmıştır. Bu işlemler 50ppm ağır metal içeren büyüme ortamı ile 75ppm içeren arasında ve sonra 75ppm içeren ile 100ppm içeren arasında tekrarlanmıştır. Her basamakta aktarmanın gerçekleştiği zamanları gösteren çizelge EK6 da verilmiştir. Her kültür ortamının daha önce adaptasyonsuz maya ile yapıldığı biçimde, biyokütle çoğalması, kalan ağır metal konsantrasyonları, farklı zamanlarda alınan örneklerle saptanmıştır.

4.2. Ölü *Pichia stipitis* Mayası Kullanılarak Sulu Ortamlardan Cu^{+2} ve Cr^{+3} İyonlarının Uzaklaştırılması

4.2.1. Ölü biyokütle ve çözeltinin hazırlanması

Bu bölümde, deney kültürü ortamında büyümesi tamamlanan ve ağır metal tutunumunu gerçekleştiren *Pichia stipitis* mayasının ölü formu kullanılmıştır. Büyümesini tamamlamış olan *Pichia stipitis* mayaları besi ortamından uzaklaştırıldı ve buhar sterilizasyonu yöntemi ile öldürüldü. Canlı hücre formu kullanılarak gerçekleştirilen çalışma sonrası toplanan, büyümesini tamamlamış *Pichia stipitis* mayaları 4000rpm de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. 3 kez deiyonize su ile yıkandı ve filtre kağıdı ile süzülerek sıvıdan ayrıldı. Oda koşullarında, 24 saat boyunca kurutuldu.

Hazırlanan 1000 ppm derişimindeki stok bakır(II) ve krom(III) çözeltilerinden seyreltme yolu ile 20 şer ml lik hacimlerde 10, 30, 50, 75 ve 100ppm lik farklı başlangıç konsantrasyonlarda Cu^{+2} ve Cr^{+3} solüsyonları hazırlandı. Solüsyonların pH sı 1M lık HCl ve 1M lık NaOH ile ayarlandı. Ağır metallerin ölü mikroorganizmalar tarafından tutunmasına sıcaklık ve pH nın etkisi incelendi.

4.2.2. Denge sorpsiyon deneyi

Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki (10, 30, 50, 75 ve 100ppm) 20ml lik metal solüsyonlara yaklaşık 40 'ar mg ölü hücre konulmuştur. Çalışmalar $T=20^{\circ}\text{C}$ ve $T=35^{\circ}\text{C}$ ve pH 4.5 ve pH3 de yapıldı. Hazırlanan solüsyonlar plastik film kaplarına konuldu. Film kapları sıcak su banyosuna bir ağırlık yardımı ile oturtularak $T=20^{\circ}\text{C}$ ve $T=35^{\circ}\text{C}$ koşulları sağlandı. Dengeye ulaşabilmesi için numuneler 10 gün bekletildi. Çözeltideki son ağır metal konsantrasyonları Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinde belirlendi.

İlk ve son metal konsantrasyonu farkına göre aşağıdaki bağıntıdan faydalanılarak metal tutunumları hesaplanmıştır.

Buna göre;

$$q = (C_0 - C_e) * V / m_{\text{biyokütle}} \quad (4.1)$$

q : birim biyokütle başına tutunan ağır metal miktarı (mg/g)

C₀ : t₀ anındaki ilk ağır metal konsantrasyonu (ppm)

C_e: t=10 gün sonundaki son ağır metal konsantrasyonu (ppm)

V : çözelti hacmi (ml)

m_{biyokütle} : ölü biyokütle miktarı, (mg)

5. DENEY SONUÇLARI

Bu çalışmanın amacı sulu ortamlardan, canlı ve ölü *Pichia stipitis* mayası kullanılarak bakır ve krom iyonlarının uzaklaştırılması ile biyoakümülyasyon ve biyosorpsiyon karakteristiğini bulmaktır.

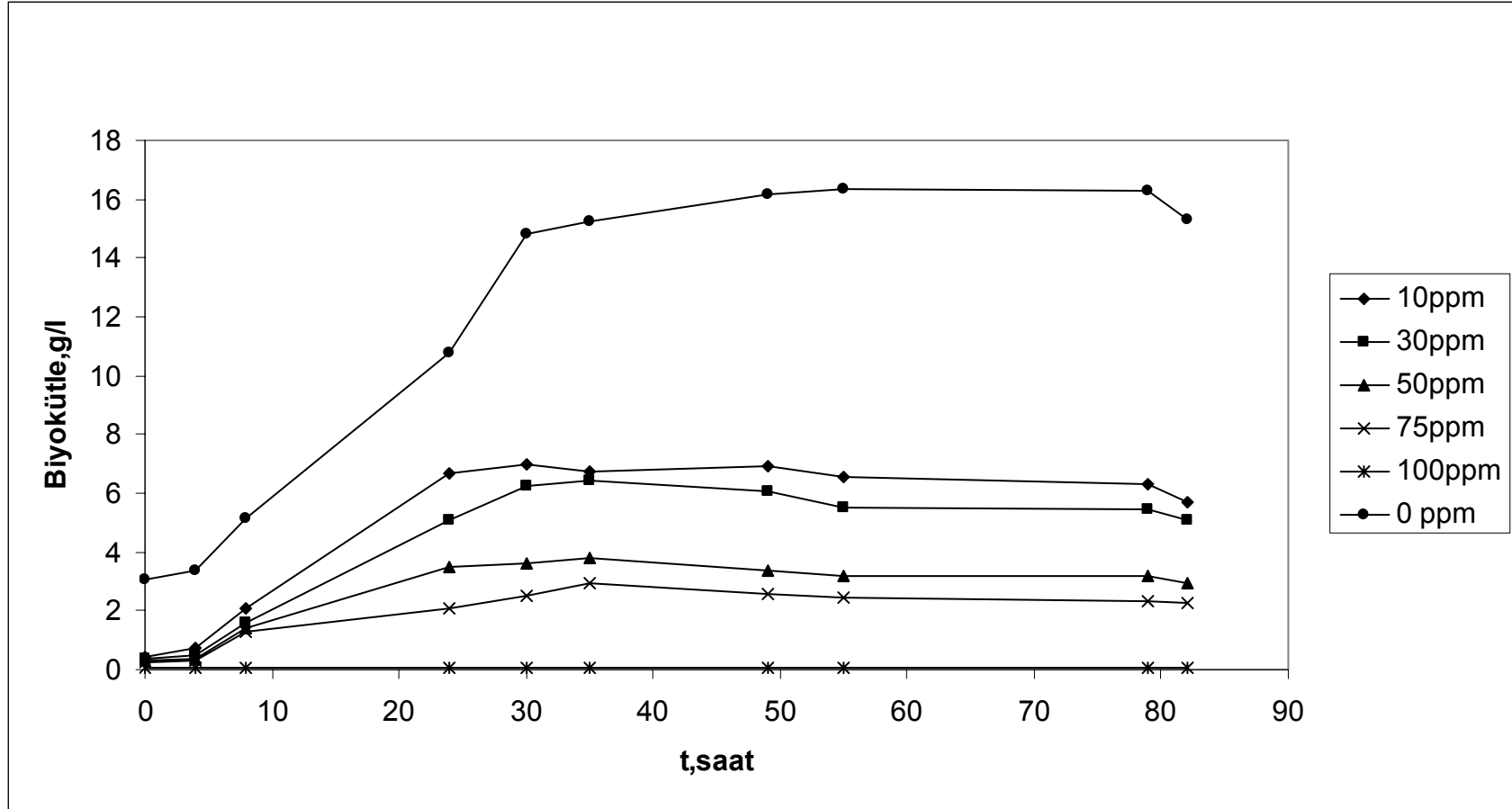
5.1. Canlı *Pichia Stipitis* Mayası Kullanılarak Elde Edilen Deneysel Sonuçları

Çalışmanın bu bölümünde canlı adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası kullanılarak Cu^{+2} ve Cr^{+3} iyonlarını tutma kapasiteleri ve çoğalma eğrileri mukayeseli olarak araştırılmıştır. Öncelikle adapte edilmemiş mayalar ile yapılan çalışmada farklı zamanlarda alınan örnekler içindeki bakır(II) ve krom(III) konsantrasyonu saptanmış, *Pichia stipitis* in kuru ağırlığı ölçülmüştür (EK-1). Cu^{+2} ve Cr^{+3} iyonları varlığında, adapte edilmeden yapılan çalışmalara ait çoğalma grafikleri Şekil 5.1 ve Şekil 5.3 de, farklı ağır metal başlangıç konsantrasyonlarının zaman göre değişimlerini gösteren grafikler ise Şekil 5.5 ve Şekil 5.7 de karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Adapte edilmeden gerçekleştirilen çalışmalara ait büyüme sonuçları çizelgeler halinde EK-2 de ve ağır metal konsantrasyonuna ait değerler ise EK-4 de verilmiştir.

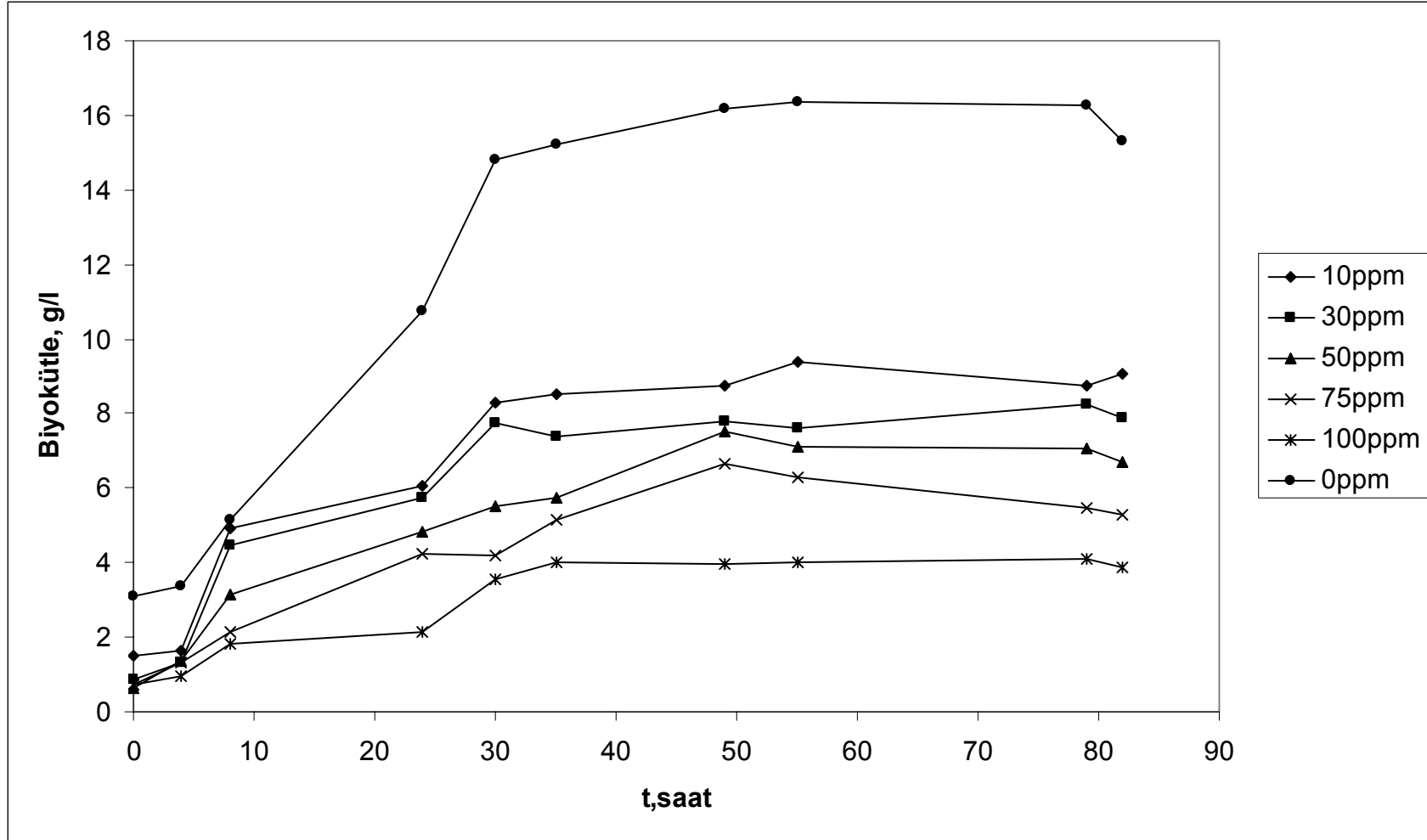
İkinci aşamada ise büyüme periyodu sırasında ağır metallere daha dayanıklı maya hücreleri kullanabilmek için hücreler yüksek konsantrasyondaki bakır(II) ve krom(III) e adapte edildiler. Böylece büyüme esnasında bakır(II) ve krom(III) e maruz bırakılan maya hücreleri ile bu metallere daha az duyarlı mayalar elde edildi. Farklı başlangıç iyon konsantrasyonlarında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayasının bakır(II) ve krom(III) tutunma kapasiteleri hesaplandı. Bakır ve krom akümülyasyon seviyelerinin metal konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiği gözlemlendi. Adapte edilerek gerçekleştirilen çalışmalara ait çoğalma grafikleri Şekil 5.2 ve Şekil 5.4 de, farklı ağır metal başlangıç konsantrasyonlarının zaman göre değişimlerini

gösteren grafikler Şekil 5.6 ve Şekil 5.8 gösterilmiştir. *Pichia stipitis* in kademeli olarak adaptasyonu ile gerçekleştirilen çalışmalara ait çoğalma sonuçları çizelgeler halinde EK-3 de ve ağır metal konsantrasyonuna ait değerler ise EK-4 de verilmiştir.

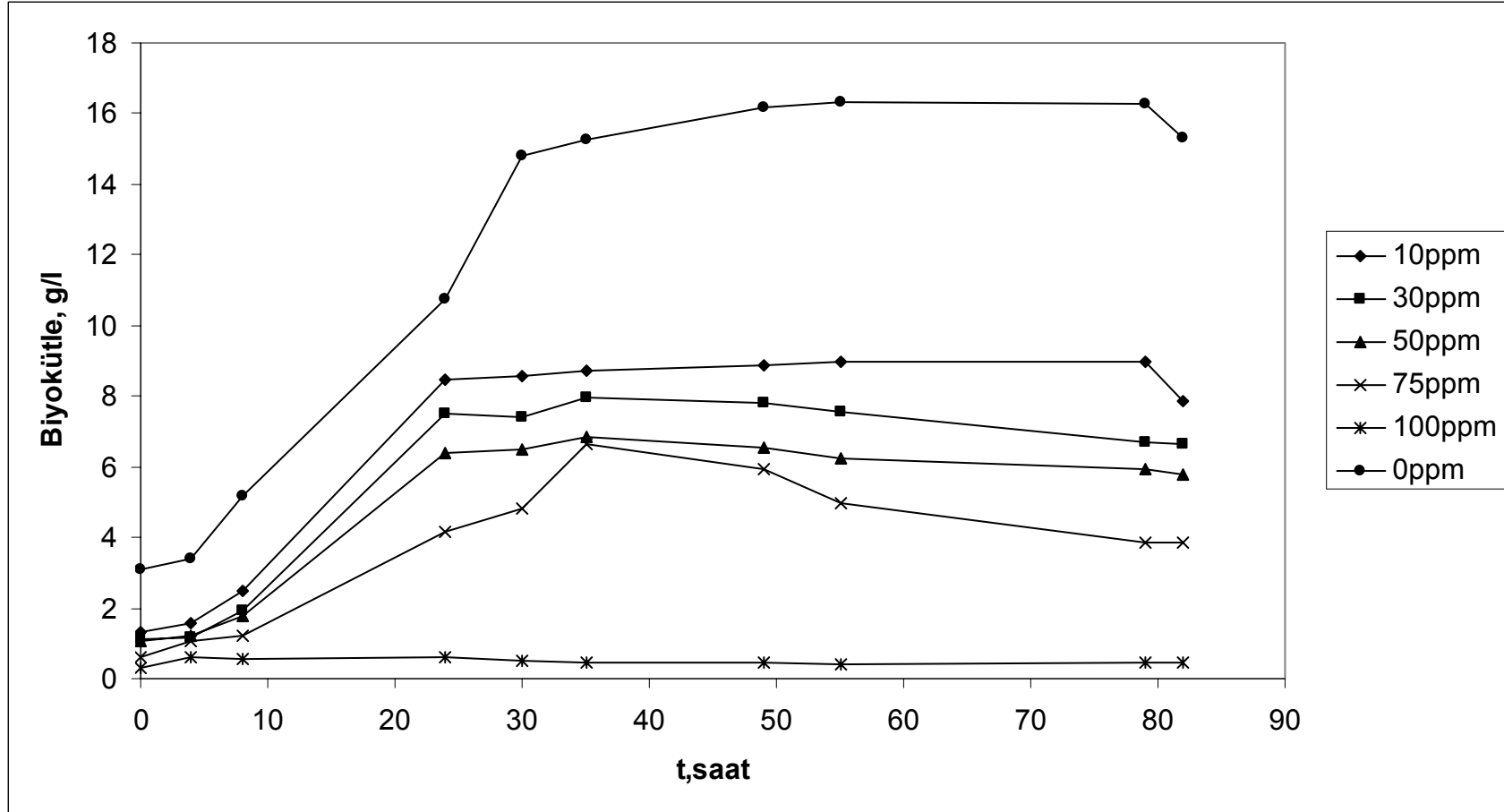
Adapte edilmiş *Pichia stipitis* biyokütlelerinin eksponansiyel fazda spesifik büyüme hızları hesaplanmış ve EK-8 de sunulmuştur.



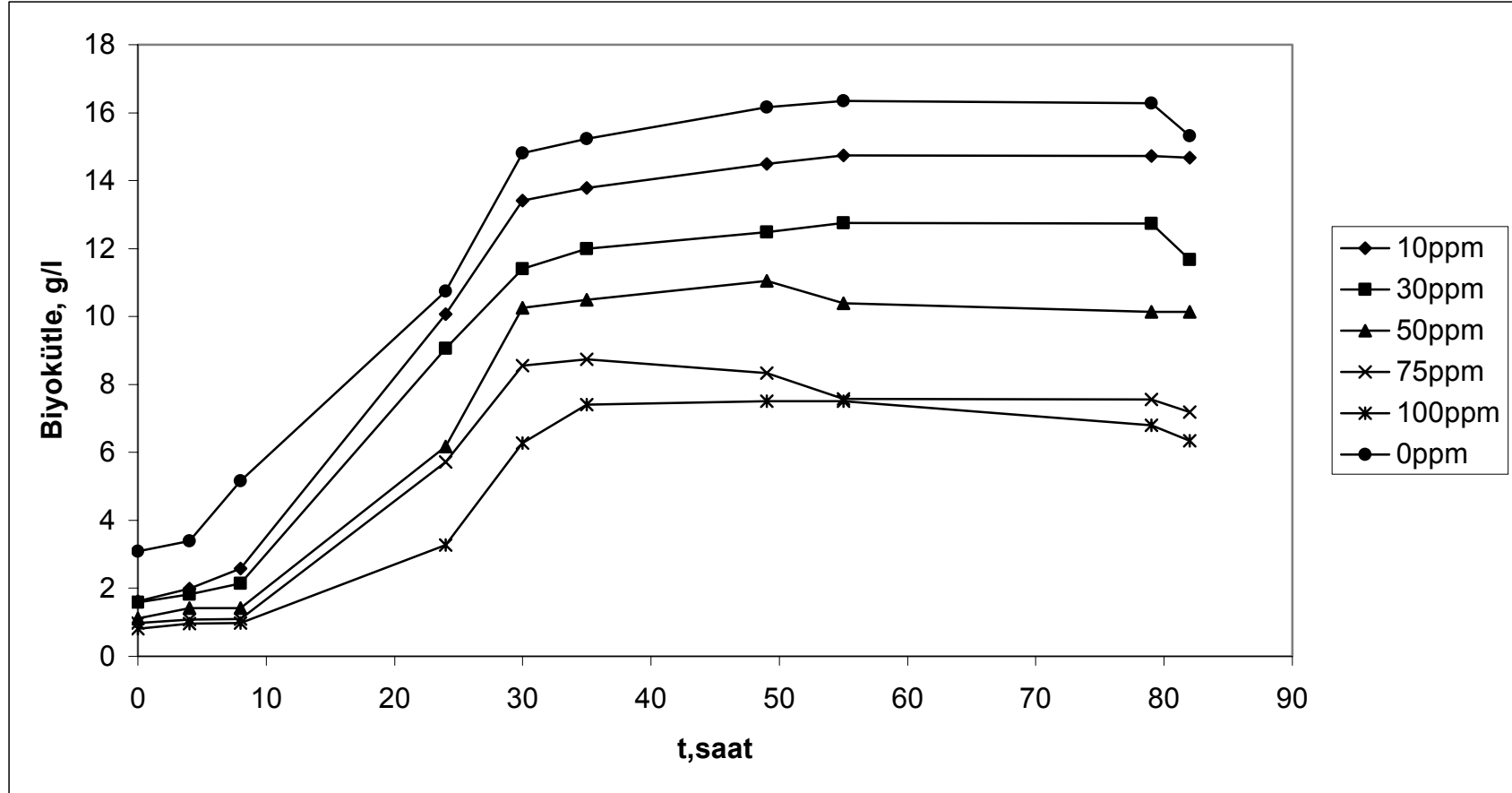
Şekil 5.1. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in farklı Cu(II) başlangıç konsantrasyonlarındaki çoğalma grafiği (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



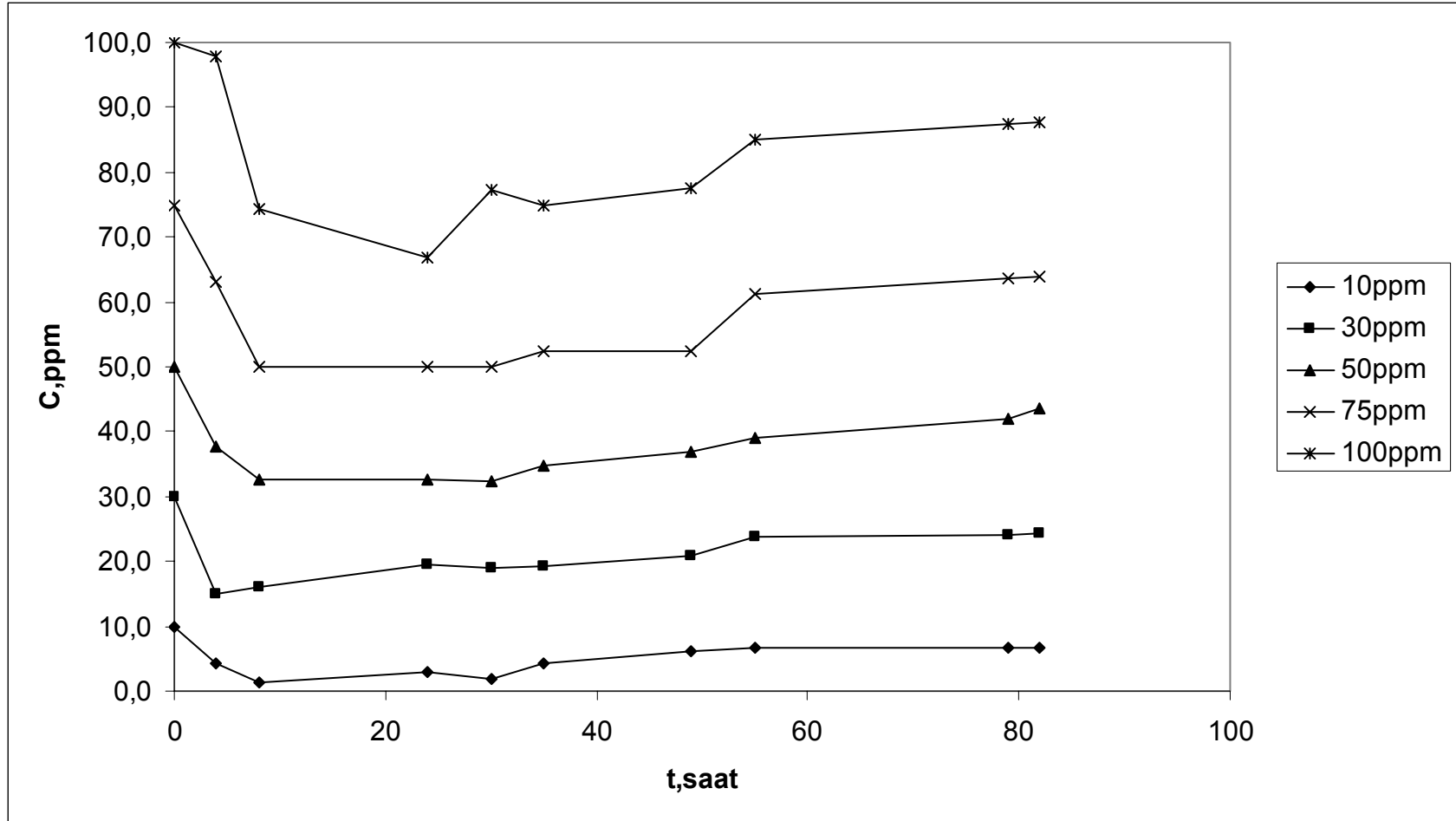
Şekil 5.2. Adapte edilmiş *Pichia stipitis* in farklı Cu(II) başlangıç konsantrasyonlarındaki çoğalma grafiği (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



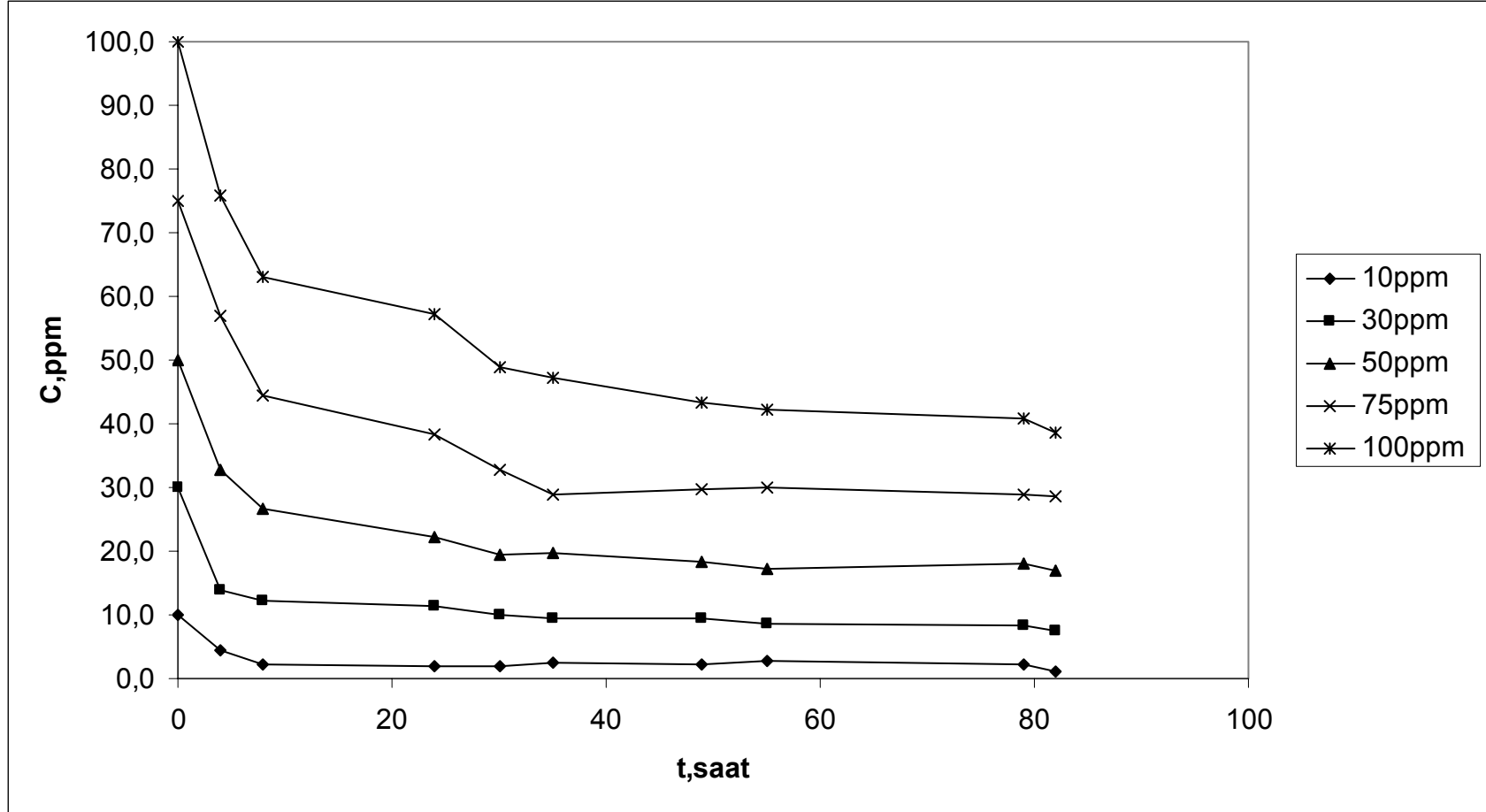
Şekil 5.3. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in farklı Cr(III) başlangıç konsantrasyonlarındaki çoğalma grafiği (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



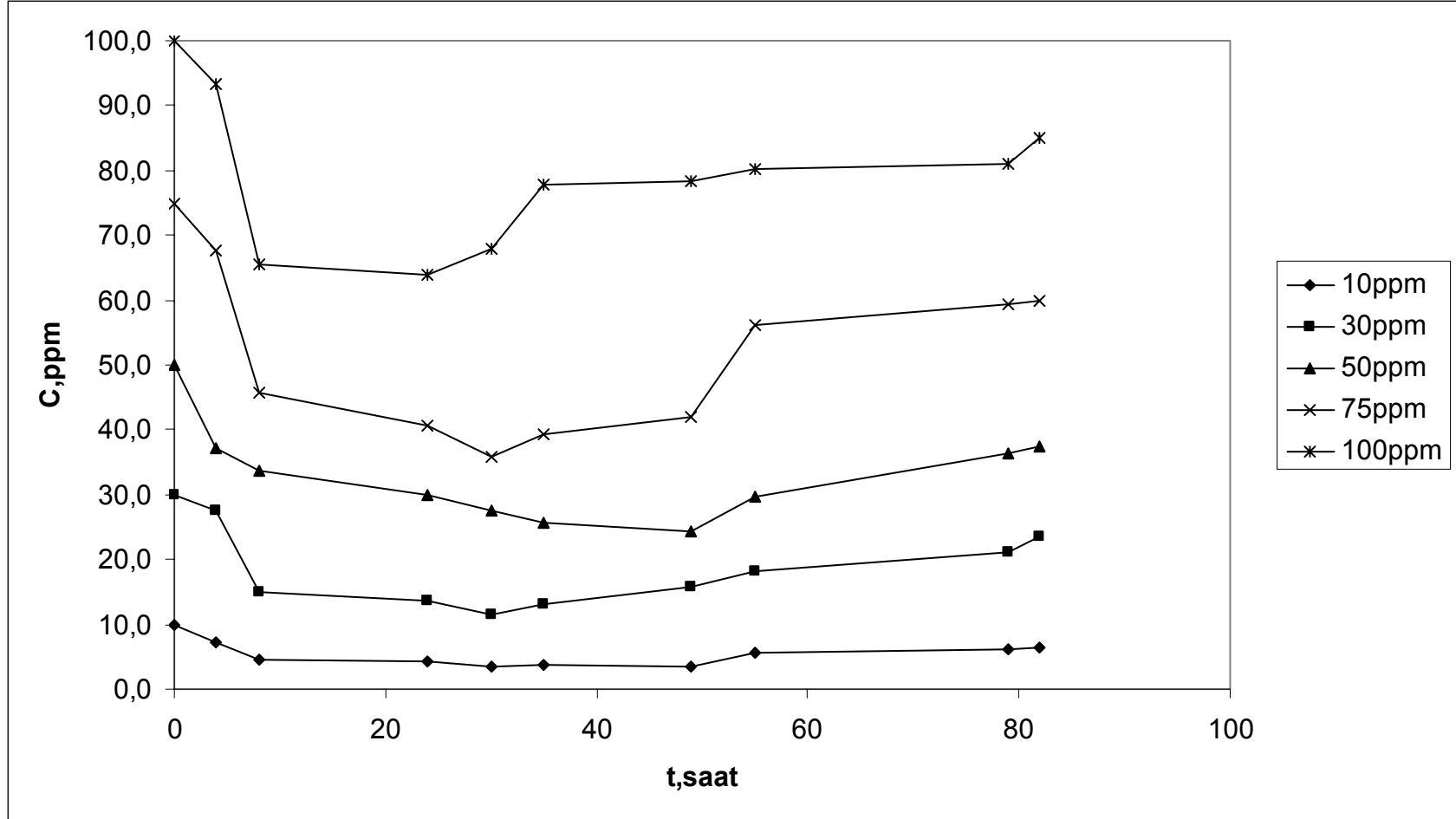
Şekil 5.4. Adapte edilmiş *Pichia stipitis* in farklı Cr(III) başlangıç konsantrasyonlarındaki çoğalma grafiği (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



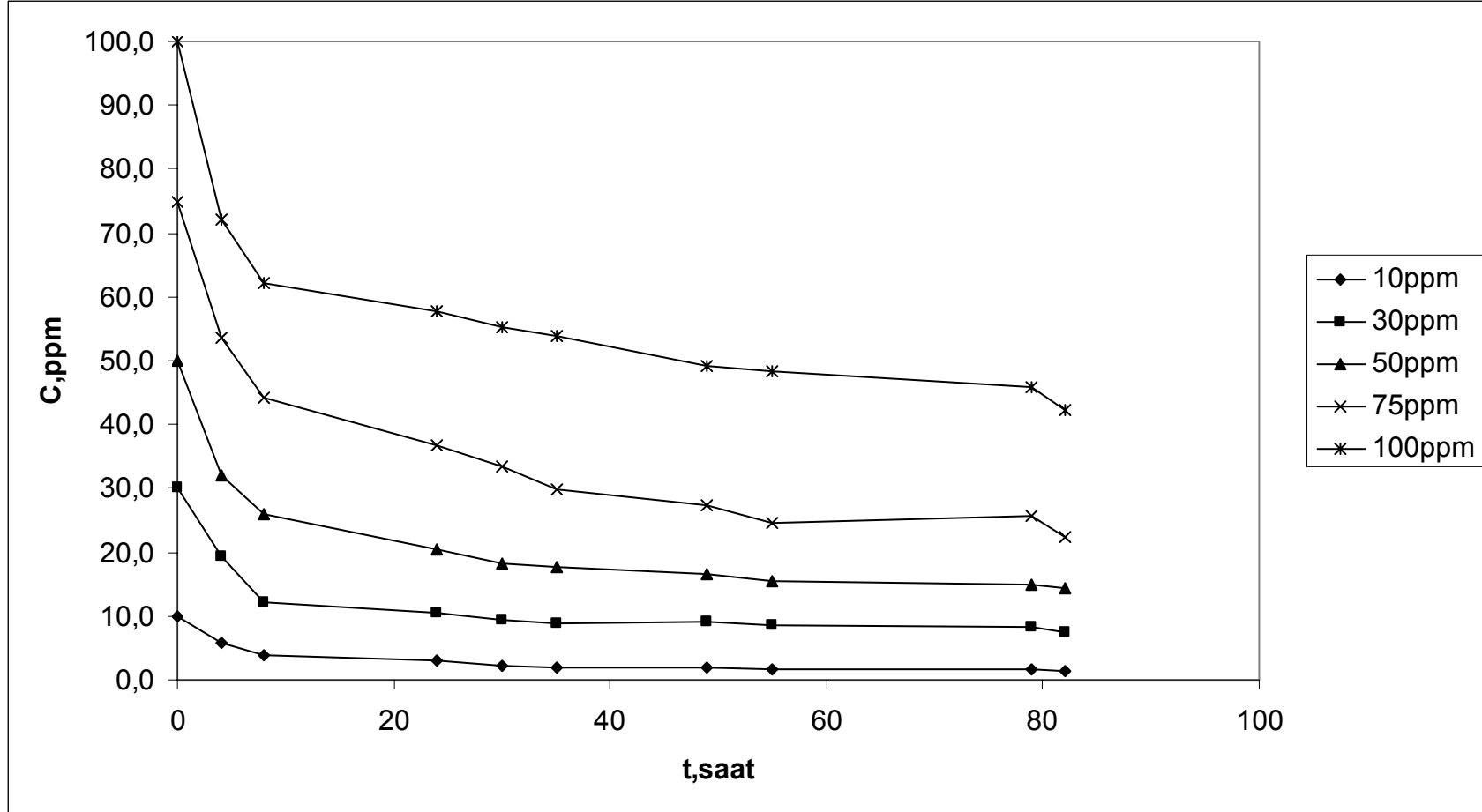
Şekil 5.5. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan bakır(II) miktarının, başlangıç konsantrasyonunun fonksiyonu olarak zamanla değişimi (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



Şekil 5.6. Adapte edilmiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan bakır(II) miktarının, başlangıç konsantrasyonunun fonksiyonu olarak zamanla değişimi ($T=30^{\circ}\text{C}$ ve Karıştırma hızı=350rpm)



Şekil 5.7. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan krom(III) miktarının, başlangıç konsantrasyonunun fonksiyonu olarak zamanla değişimi ($T=30^{\circ}\text{C}$ ve Karıştırma hızı=350rpm)

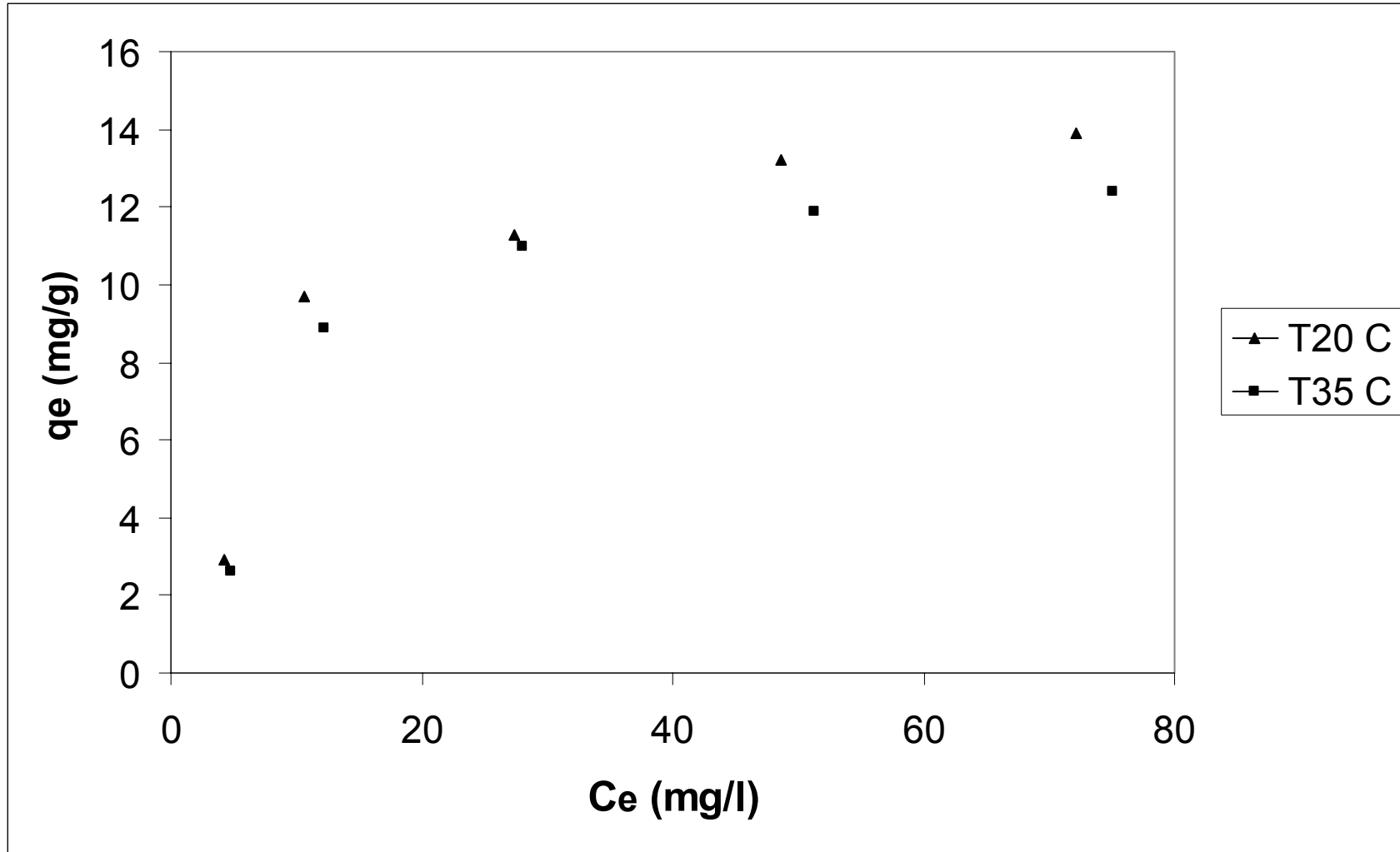


Şekil 5.8. Adapte edilmiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan krom(III) miktarının, başlangıç konsantrasyonunun fonksiyonu olarak zamanla değişimi (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)

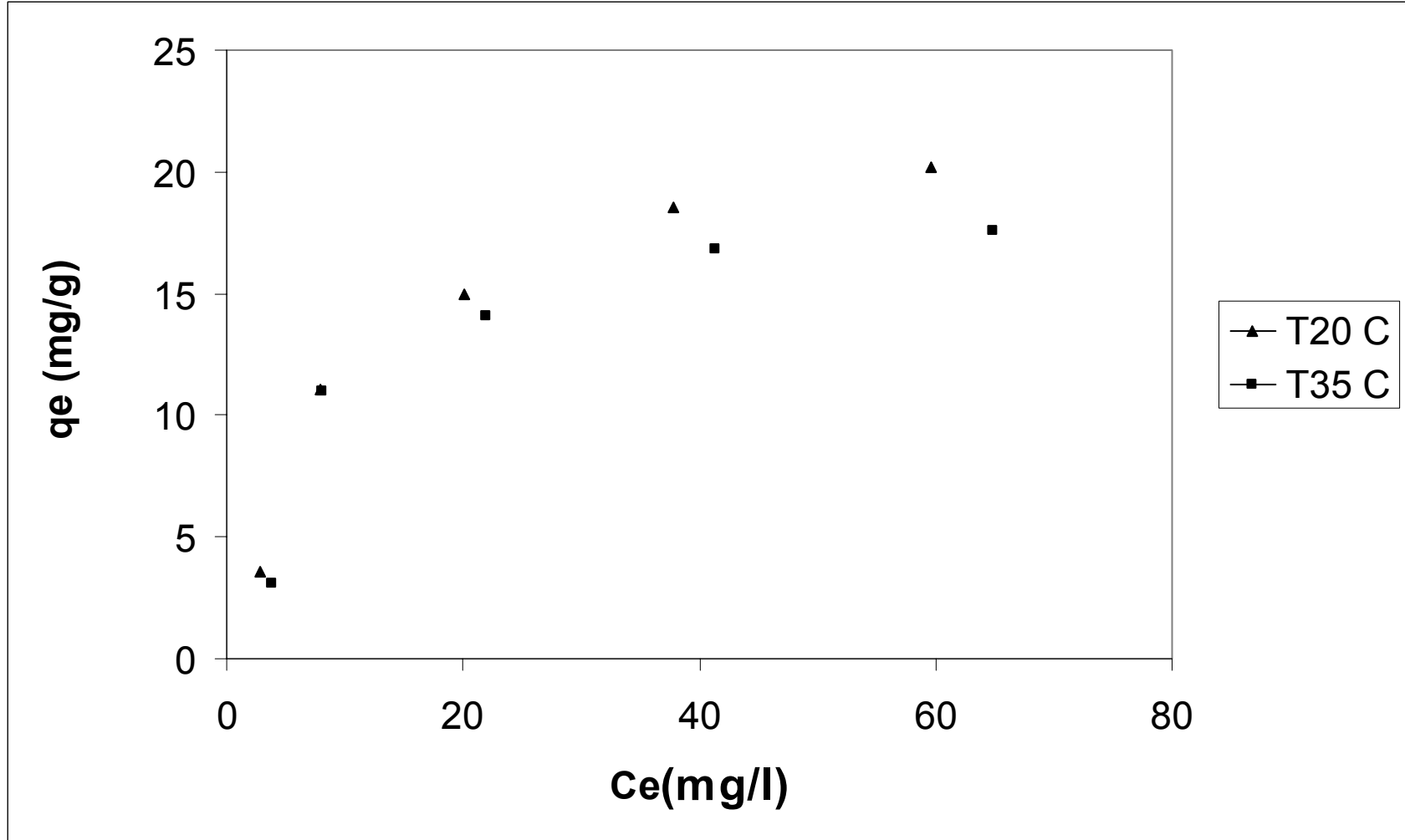
5.1 Ölü *Pichia stipitis* Mayası Kullanılarak Elde Edilen Deney Sonuçları

Çalışmanın bu bölümünde ağır metal tutunumunu gerçekleştiren canlı *Pichia stipitis* hücrelerinin ölü formu kullanılmıştır.

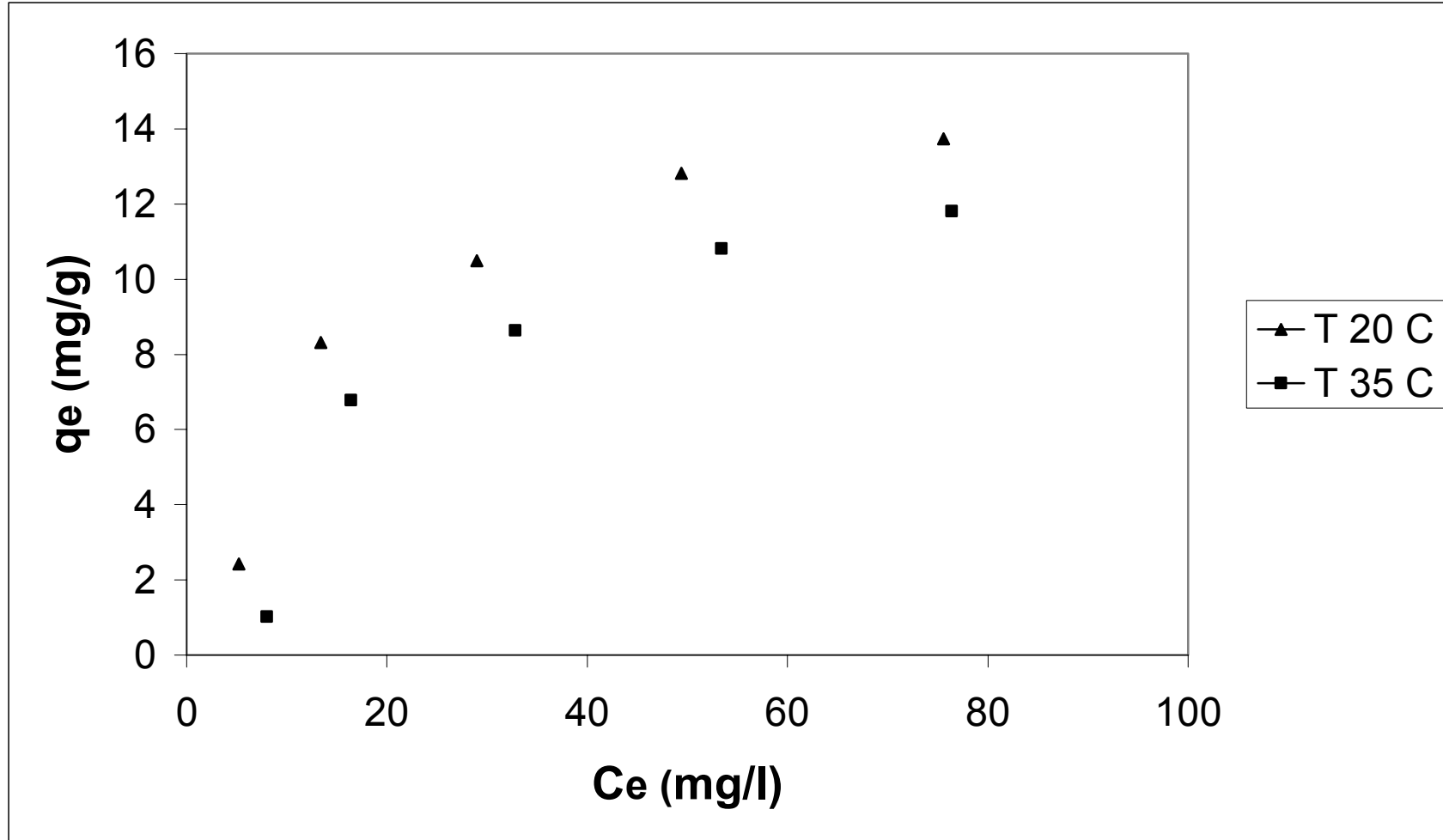
Pichia stipitis mayasının farklı ağır metal başlangıç konsantrasyonlarındaki (10, 30, 50, 75, 100ppm) denge izotermi farklı sıcaklık ve pH larda karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. T=20 °C ve T=35°C sıcaklıklarında ve pH 4.5 ve pH3 larda yapılan çalışmalara ait denge sorpsiyon sonuçları grafiksel olarak Şekil 5.9 – 5.16 da ve çizelgeler halinde EK-7 de verilmiştir. Elde edilen test bulgularına Langmuir, Freundlich, Temkin ve Jovanovich (J2) izotermi uygulanmıştır. Langmuir izotermine ait modeller Şekil 6.25 – 6.32, Freundlich izotermine ait modeller ise Şekil 6.33 – 6.40, Temkin izotermine ait modeller Şekil 6.41-6.48 ve Jonavovich izotermine ait modeller Şekil 6.49-6.56 da grafiksel olarak verilmiştir.



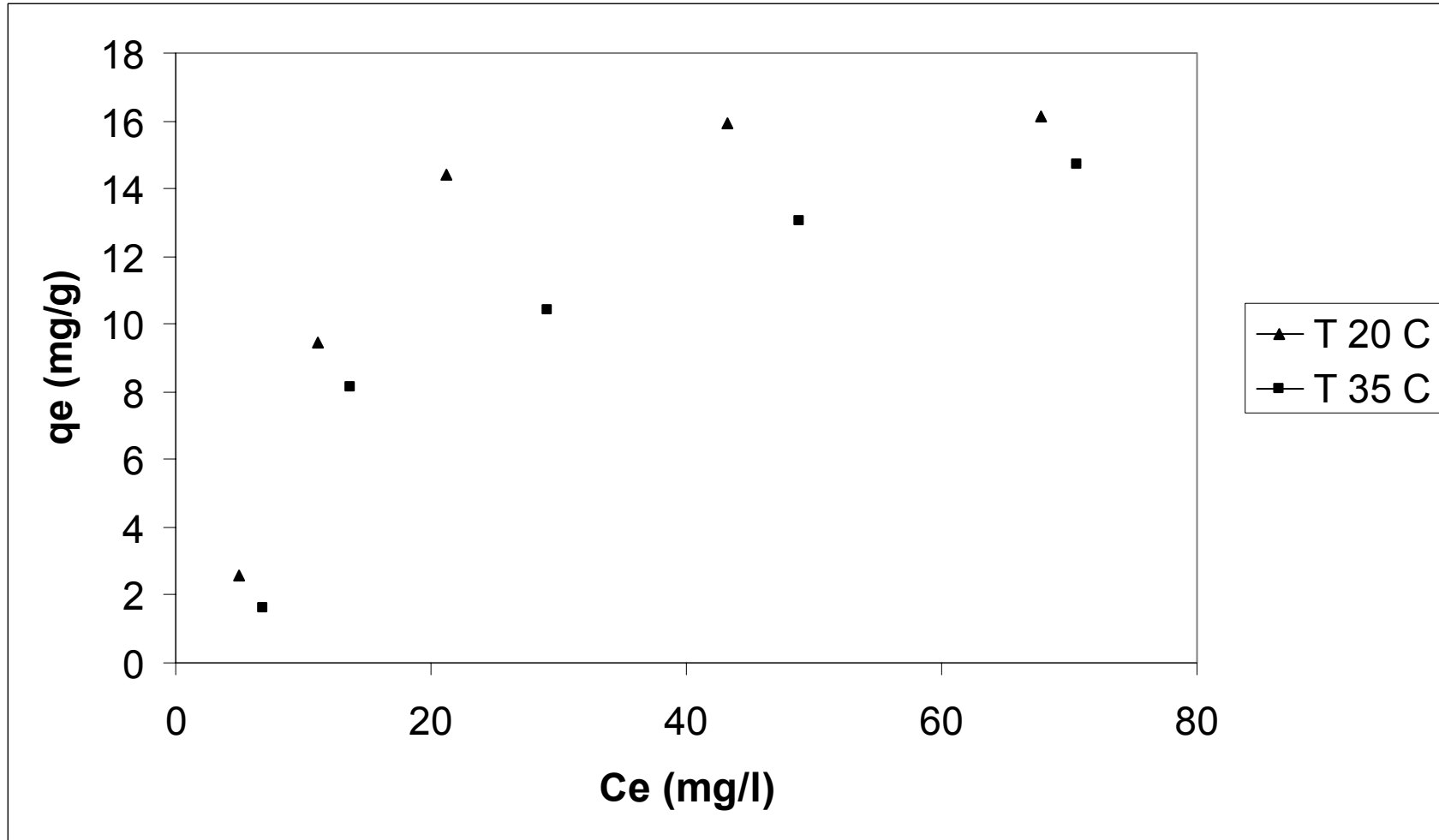
Şekil 5.9. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, pH 4,5 (sabit)



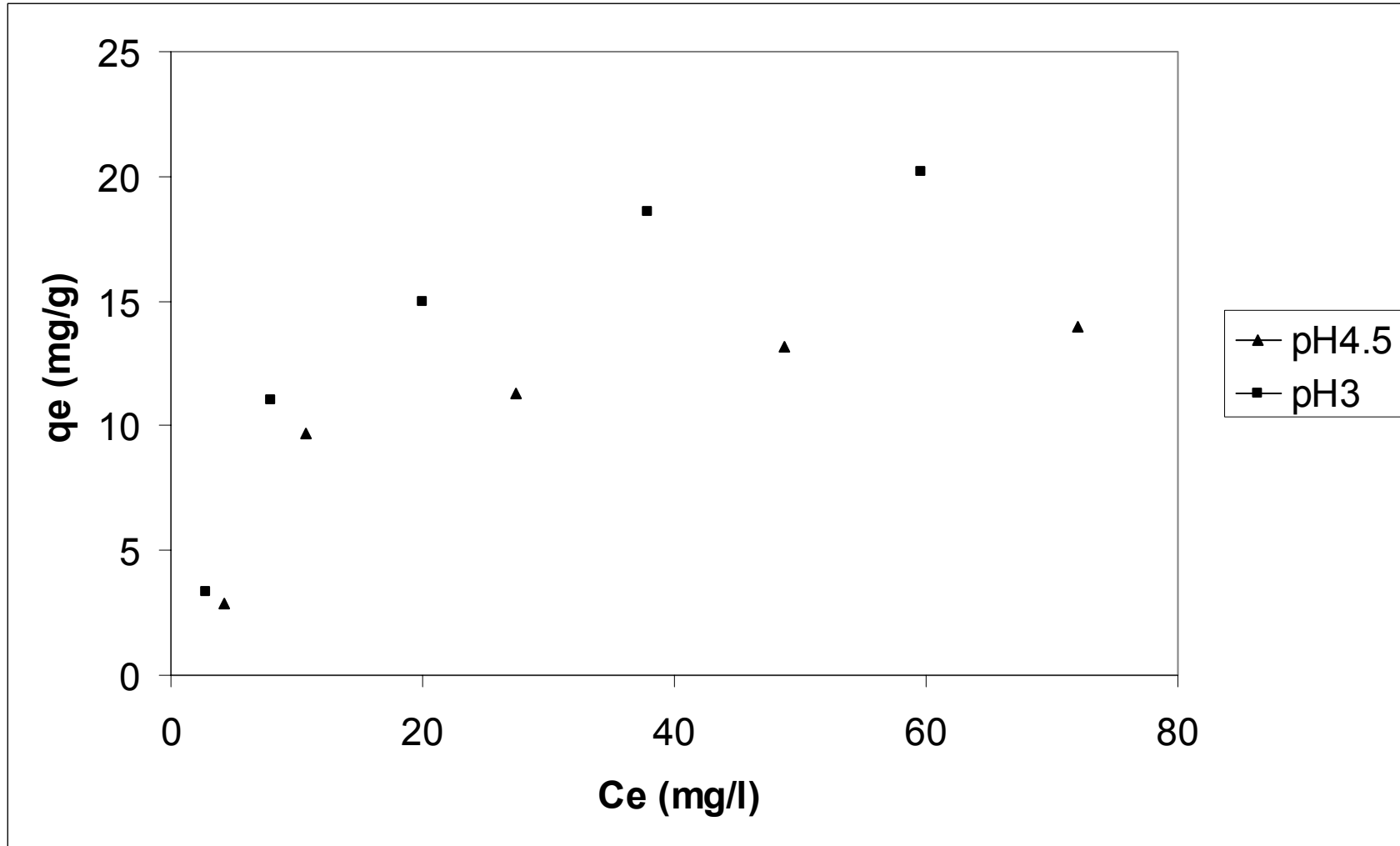
Şekil 5.10. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, pH 3 (sabit)



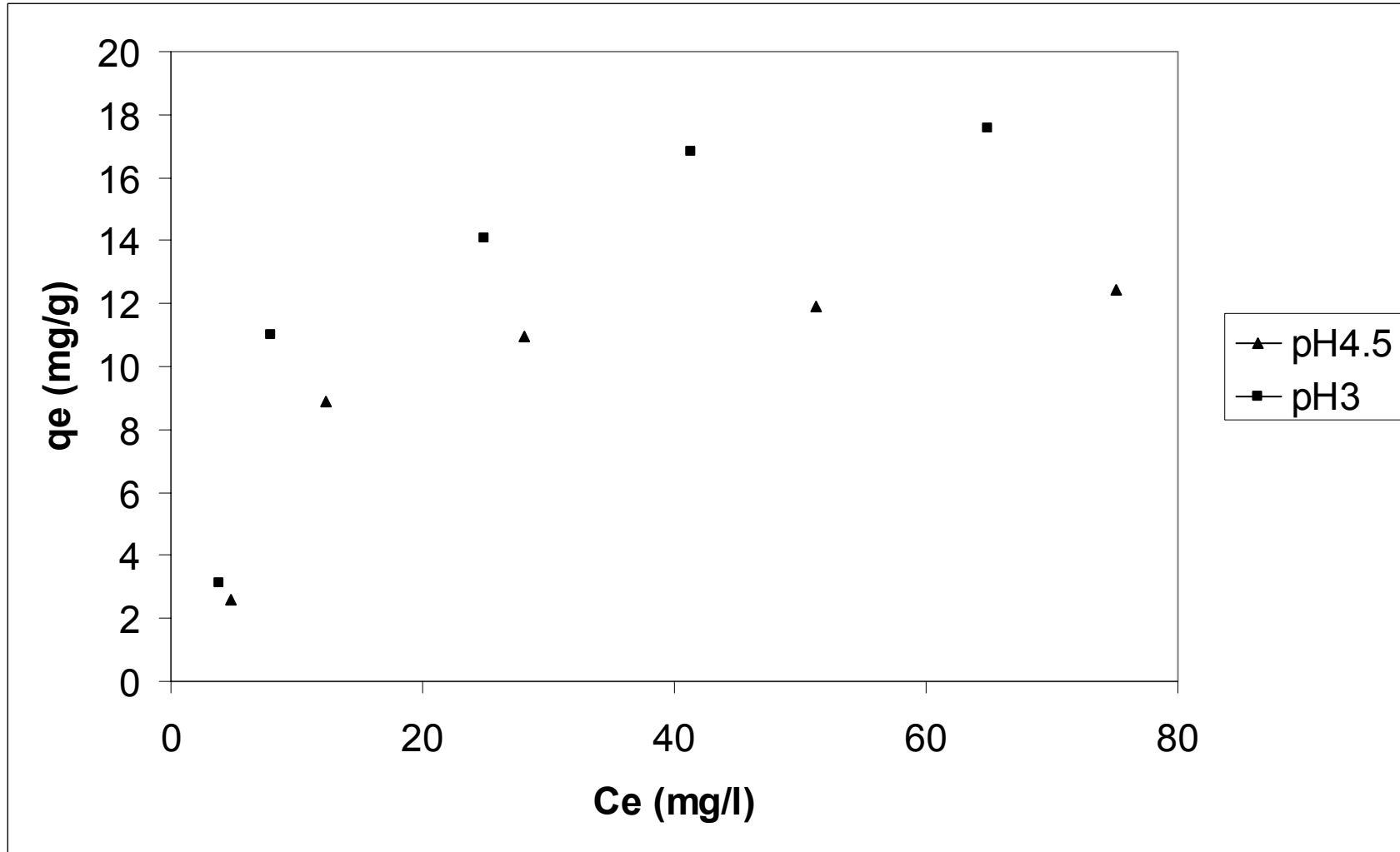
Şekil 5.11. Farklı krom (III) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, pH 4,5 (sabit)



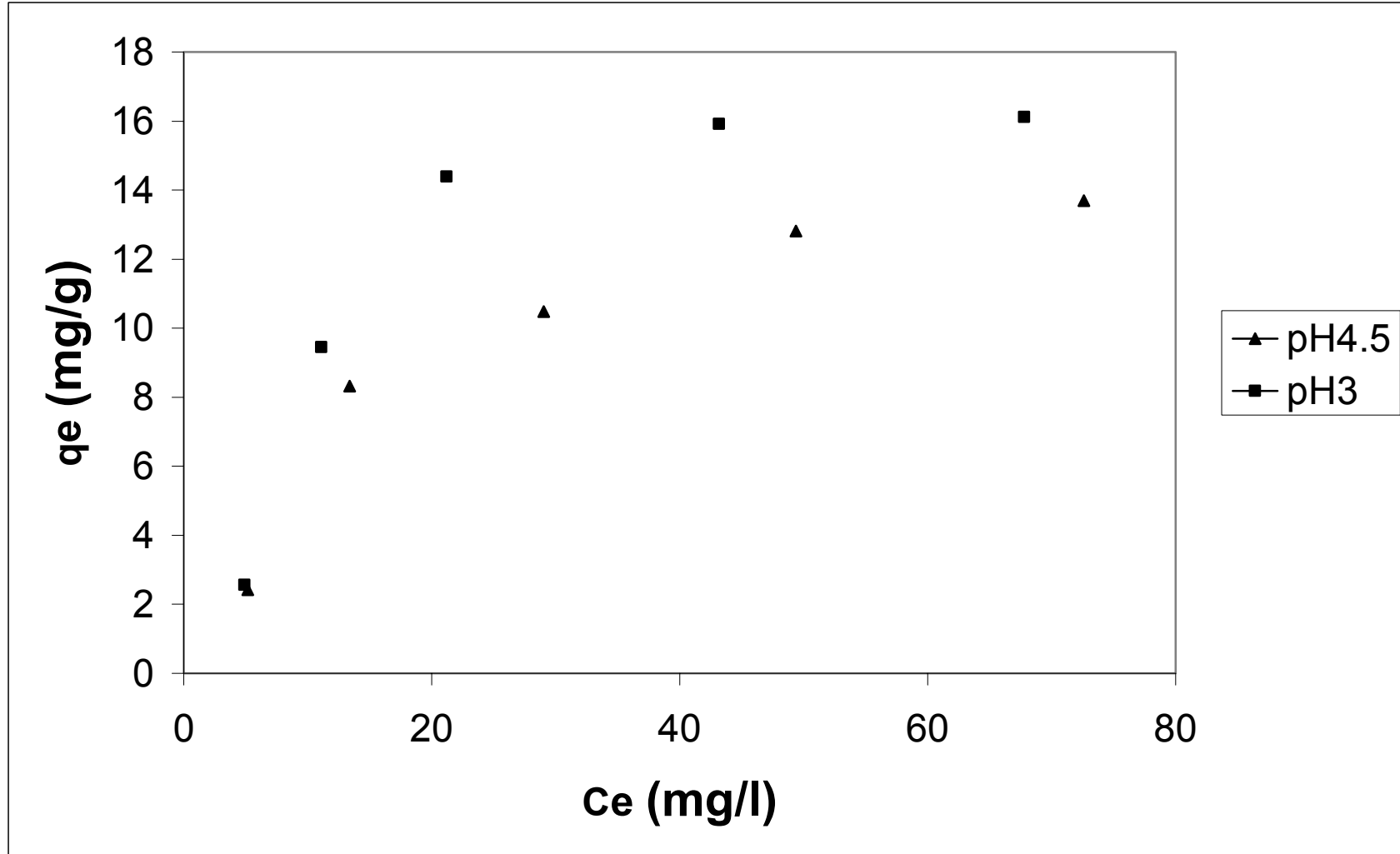
Şekil 5.12. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, pH 3 (sabit)



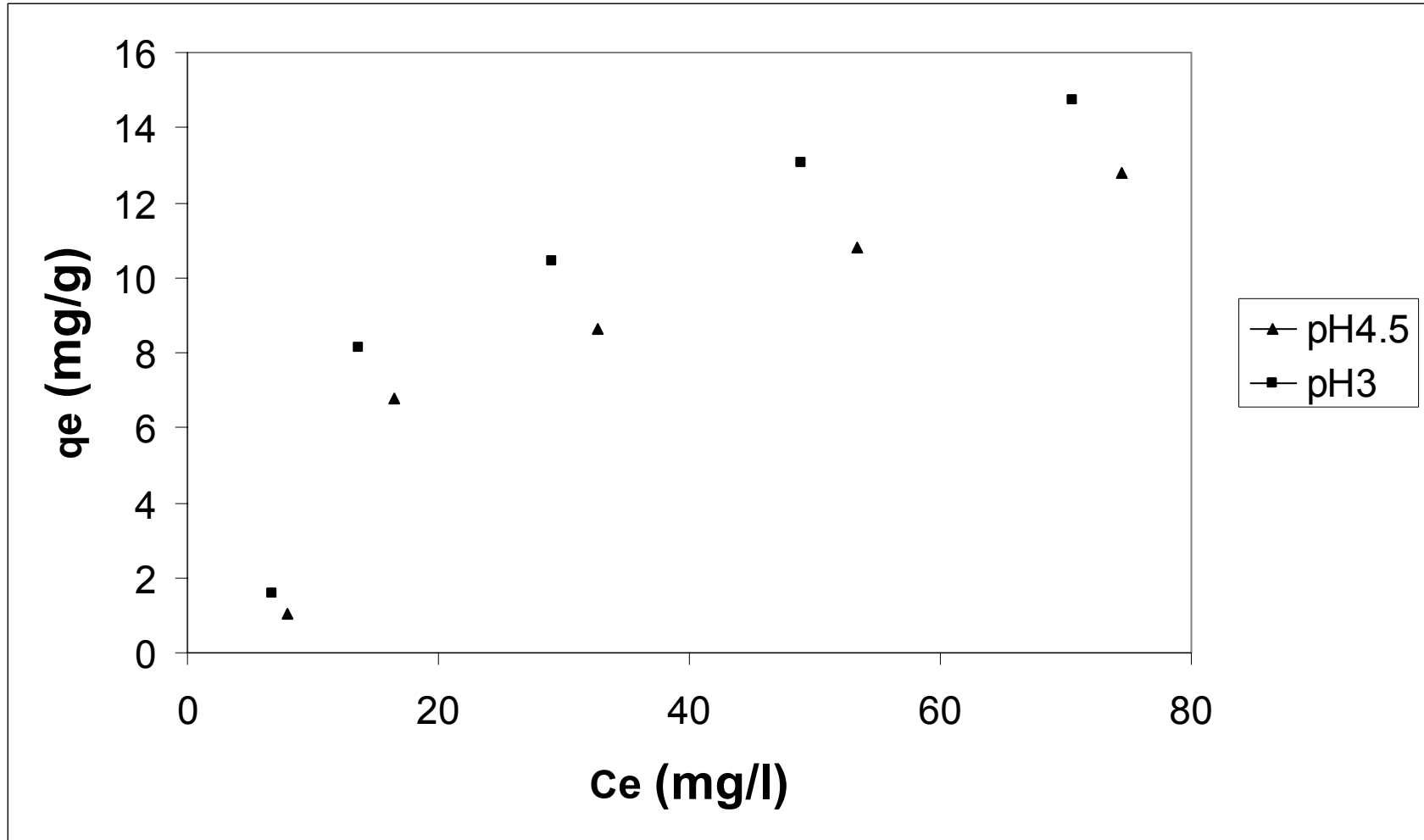
Şekil 5.13. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, $T=20^{\circ}\text{C}$ (sabit)



Şekil 5.14. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, $T = 35^{\circ}\text{C}$ (sabit)



Şekil 5.15. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, T= 20°C (sabit)



Şekil 5.16. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında ölü *Pichia stipitis* e ait denge eğrileri, T= 35⁰C (sabit)

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada canlı ve cansız *Pichia stipitis* mayası ile sulu ortamda Cu(II) ve Cr(III) iyonlarını uzaklaştırma olanakları araştırılmıştır. Canlı *Pichia stipitis* in ağır metallere adapte edilmiş ve edilmemiş formu kullanılarak yapılan çalışmalarda, biyokütle çoğalması ve ağır metal konsantrasyonlarındaki değişim gözlenmiştir. Şekil 5.1 – Şekil 5.4 de görüldüğü gibi ağır metal varlığında, hücre çoğalması etkilenmektedir. Artan ağır metal konsantrasyonu ile hücre çoğalması azalmaktadır. Şekil 6.1 – Şekil 6.10 da ağır metale adapte edilmiş ve edilmemiş biyokütle çoğalma eğrileri karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir. Anlaşılacağı gibi adaptasyon, her iki iyonun bulunduğu ortamda biyokütle çoğalmasını olumlu yönde etkilemektedir. Adaptasyon sırasında eksponansiyel fazdan alınan metabolik olarak aktif hücrelerin, salgıladıkları enzimler ile ortamdaki metal iyonlarını bağlama ve kompleks yapma yeteneklerinin daha fazla olabileceği öne sürülmüştür [10].

Her iki iyonun 100ppm başlangıç konsantrasyonu için adapte edilmemiş hücre büyümesi inhibe edilmiştir. Şekil 6.11 – Şekil 6.24 de her iki iyon için adapte edilmiş ve adapte edilmemiş biyokütle ile ağır metal giderimi sırasında, çözültide kalan iyon konsantrasyonlarının ve tutunma yüzdelerinin zamanla değişimi karşılaştırmalı olarak gösterilmektedir. Adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile yapılan biyoarıtım daha etkin olarak gerçekleşmektedir. Farklı başlangıç konsantrasyonları ile yapılan çalışmada, solüsyonda kalan ağır metal miktarının adapte edilmeyen hücreye göre zamanla azaldığı görülmektedir.

Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası Cu(II) ve Cr(III) iyonlarının biyoarıtımı sırasında, çözültide kalan ağır metal konsantrasyonu başlangıçta hızla azalırken, bir müddet sonra belirgin bir şekilde artmaktadır. Bu artışın her iki farklı iyonun bulunduğu ortamlarda, biyokütlenin durağan fazı içinde meydana geldiği dikkat çekicidir. Yukarıda gözlenen ağır metal tutunumunun

tersinir olmasının, pH değişimi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Cu(II), Cr(III) gibi iyonların pH5.5 üzerinde çöktüğü bilinmektedir. Ayrıca, pH'nın yükselmesi ile adsorpsiyon ortamındaki OH⁻¹ iyonlarının artışı, hücre yüzeyindeki negatif yüklerin ve amino, fosfat, karboksil gibi fonksiyonel grupların iyonlaşması sonucunda metal katyonları ile reaksiyon gerçekleşebileceğini söylemek mümkündür. İlerleyen zaman içinde ortam pH'ındaki azalma, yukarıda değinilen olayları tersine çevirmektedir. Ağır metallerin adapte edilmemiş biyokütle ile uzaklaştırılması sırasında, olayın tersinir olması fiziksel adsorpsiyonun yani yalnızca biyosorpsiyonun varlığını işaret etmektedir. Bu durumda biyoakümülyasyondan bahsedilemez.

Halbuki adapte edilmiş hücre ile Cu (II) ve Cr (III) iyonlarının giderimi sırasında, önce hızlı bir ağır metal gideriminin gerçekleştiği, sonrasında ise metal gideriminin yavaşlıyarak arttığı gözlenmiştir. Olayın tersinmez olması biyosorpsiyonu takiben biyoakümülyasyonun gerçekleştiği izlenimini vermektedir. Adaptasyonla ağır metallere olan duyarlılığı azaltılmış olan hücrelerin metabolik aktiviteleri, adapte edilmemiş olan hücrelere göre farklılık göstermektedir (zardan metal geçişine daha kolay izin vermektedirler). Literatürde belirtildiği gibi, bir ölçüde de biyoakümülyasyonun gerçekleşmesi, yüzeye biyosorpsiyonu arttırabilir. Çizelge 6.1 ve Çizelge 6.2 de, Cu (II) ve Cr (III) içeren büyüme ortamlarına adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayasının büyüme ve metal giderimine ait parametreleri bulunmaktadır.

Çizelge 6.1. Cu (II) içeren büyüme ortamında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayasının büyüme ve metal giderimine ait parametreler

C ₀ (ppm)	μ (s ⁻¹)	q _{max} (mg/g)	% tutunma
0	0,349	-	-
10	0,070	0,98	89
30	0,058	2,84	75
50	0,035	4,937	66
75	0,029	7,75	62
100	0,011	15,85	61

Çizelge 6.2. Cr (III) içeren büyüme ortamında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayasının büyüme ve metal giderimine ait parametreler

C ₀ (ppm)	μ (s ⁻¹)	q _{max} (mg/g)	% tutunma
0	0,349	-	-
10	0,096	0,58	85
30	0,093	1,94	76
50	0,095	3,50	71
75	0,085	7,31	70
100	0,079	9,10	58

Görüldüğü gibi biyokütleyle ait eksponansiyel faz için hesaplanan spesifik büyüme sabitleri artan ağır metal konsantrasyonları ile genelde azalmaktadır. Birim kuru hücre ağırlığı üzerine tutulan ağır metal miktarı q_{max}, başlangıç konsantrasyonunun fonksiyonu olarak hesaplanmıştır. Çizelge 6.1 ve Çizelge 6.2 de görüleceği gibi q_{max} değerleri, her iki iyon içinde artan başlangıç metal konsantrasyonu ile artmaktadır. *Pichia stipitis* mayasının Cu (II) iyonunu tutma kapasitesi, Cr (III) e göre daha yüksektir. Diğer taraftan yüzde ağır metal tutunma oranları artan başlangıç iyon konsantrasyonu ile azalmaktadır.

Skountzou ve arkadaşları (2003), Ferraz ve Teixeira (1999) da benzer gözlemler yapmışlardır. Bu çalışmadaki en yüksek Cu (II) iyonu tutma kapasitesi 15.85 mg/g, Cr (III) iyonu tutma kapasitesi 9.10 mg/g olarak bulunmuştur. En yüksek ağır metal uzaklaştırma yüzdeleri ise Cu (II) için %89, Cr (III) için %85 olarak saptanmıştır. Canlı hücrelerle yapılan bu çalışmaların sonuçları Çizelge 6.3 de, literatürde bulunan bazı çalışmalarla karşılaştırılmıştır. Görüldüğü gibi adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayasının sulu ortamlardan Cu (II) ve Cr (III) iyonlarını uzaklaştırma yeteneğinin literatürdeki aynı amaçlı çalışma sonuçları ile benzer oldukları görülmüştür. *Pichia stipitis* 'in ağır metal tutma kapasitesinin bazı mikroorganizmalardan daha iyi, bazılarında ise daha düşük seviyede kaldığı gözlemlenmiştir.

Çalışmanın ikinci kısmında, ilk bölümde ağır metale adapte edilmiş mikroorganizmaları içeren büyüme ortamları çalışma sonunda yıkanıp, süzöldükten, sonra kurutularak cansız hale getirilmiş, biyosorpsiyon için kullanım olanağı araştırılmıştır. Bu şekilde, canlı hücreler ile yapılan çalışmanın atığı olarak elde edilen hücreler değerlendirilmiş olmaktadır. Bu bölümündeki çalışmada pH ve sıcaklık biyosorpsiyon parametreleri olarak seçilmiştir. EK-7 ' de sunulan ölü *Pichia stipitis* mayasına ait denge sorpsiyonundaki ağır metal konsantrasyonlarını gösteren çizelgelerde ve Şekil 5.9 – Şekil 5.16 görüldüğü gibi, iki farklı pH değeri için (4.5 ve 3), her iki iyonun biyosorpsiyon kapasitelerinin düşük sıcaklıkta daha fazla olduğu görülmüştür. Buradan *Pichia stipitis* mayası üzerine Cu (II) ve Cr (III) biyosorpsiyonunun ekzotermik karakterde olduğunu söyleyebiliriz. Sıcaklık artışı ile birlikte biyokütle yüzeyi ve metal iyonları arasındaki çekim kuvveti zayıflamakta ve sorpsiyon azalmaktadır. Sıcaklık arttığında sınır tabakası inceliği azalmakta ve hücre yüzeyindeki metal iyonlarının solüsyona kaçma eğilimleri artmaktadır. Bu durum da sıcaklık artışı ile birlikte adsorpsiyonun azalmasına neden olmaktadır. Ortam pH ı, biyokütlenin hücre duvarındaki fonksiyonel grup konsantrasyonunu ve metal iyonlarının çözünürlüğünü önemli ölçüde etkilemektedir. Metaller hücre duvarındaki biyopolimerlerde bulunan fonksiyonel gruplara protonlarla yer değiştirerek bağlanırlar. Ortam bazikleştiğinde ise metal adsorpsiyonu azalmaktadır. Bazik ortamda Cu^{+2} ve Cr^{+3} ün iyonik ve iyonik olmayan hidroksit kompleksleri oluşması adsorpsiyonun azalmasına neden olmaktadır. İki farklı sıcaklıkta ($20^{\circ}C$ ve $35^{\circ}C$), düşük pH da biyokütlenin her iki iyonu tutma kapasitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir.

Deneysel biyosorpsiyon verileri Langmuir, Freundlich, Temkin ve Jovanovich(J2) izotermine uyarlanıp, model parametreleri saptanmıştır. Hesaplanan izoterm parametreleri Langmuir izotermi için Çizelge 6.4 , Freundlich izotermi için Çizelge 6.5, Temkin izotermi için Çizelge 6.6 ve Jovanovich (J2) izotermi için Çizelge 6.7 de gösterilmiştir. Model seçimi için izoterm modellerinin doğrusal formları karşılaştırıldığında determinasyon

katsayısının (R^2) 1'e daha yakın olmasından dolayı Langmuir ve Temkin izotermi en uygun model olarak görünmektedir. Langmuir , Freundlich, Temkin ve Jovanovich (J2) izotermine ait grafiksel çalışmalar Şekil 6.25 – Şekil 6.56 de sunulmuştur. Ölü *Pichia stipitis* mayasının Cu(II) ve Cr(III) iyonlarını daha etkin tutma kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmadaki ölü biyokütlenin en yüksek Cu (II) iyonu tutma kapasitesi 20.22 mg/g, Cr (III) iyonu tutma kapasitesi 16.12 mg/g olarak bulunmuştur. Çizelge 6.7 de literatürde ölü hücrelerle yapılan çalışmalarda Cu ve Cr biyosorpsiyonuna ait veriler gösterilmektedir.

Çizelge 6.3 Büyüyen / yaşayan hücrelerin Cu ve Cr biyoakümülyasyonu ile ilgili birkaç literatür çalışması [3]

Mikroorganizma	Organizma adı	Metal	MRL/Tutunma verimi	Uzalaştırma (%)	Metal kaynağı (konsantrasyon)	Yorum	Kaynak
Maya (pis su, kanalizasyon)	<i>Candida</i> spp. (adapte edilmemiş)	Cu	4.7-23 mg/g	22-52 (8 gun)	LS (100ml)/GM (100-1500 mg/l)	Uzaklaştırma, pH ve metal konsantrasyonu na bağlı	Donmez ve Aksu (2001)
Maya (atıktan elde edilmiş)	<i>Candida</i> spp. (adapte edilmiş)	Cu	-3-37 mg/g.	5-68 (8-13 gun)	LS (100ml)/GM	Uzaklaştırma, pH ve metal konsantrasyonu na bağlı	Donmez ve Aksu (1999)
	<i>Saccharomyces cerevisia</i>	Cu	2-9 mg/g	13-74 (4 gun)			
	<i>Kluveromyces marxianus</i>	Cu	1.8-11.2 mg/g	10-90 (4 gun)			
	<i>Schizosaccharo myces pombe</i>	Cu	0.6-1.3 mg/g	11-25 (4 gun)			
Mantar (atıktan elde edilmiş)	<i>Candida</i> spp	Cu	1.6-14.8 mg/g	13-73 (4 gun)	LS (100ml)/GM (25-150 mg/l)	Büyüme ve metal akümülyasyonu için optimum pH metal e bağlıdır	Dursun et al. (2003)
	<i>Aspergillus niger</i>	Cu	4.9-15.6 mg/g	19-57 (7 gun)			
		Cr	5.1 -6.6 mg/g	21-36 (7 gun)			

Çizelge 6.3 (Devam) Büyüyen / yaşayan hücrelerin Cu ve Cr biyoakümüülasyonu ile ilgili birkaç literatür çalışması [3]

Mikroorganizma	Organizma adı	Metal	MRL/Tutunma verimi	Uzalaştırma (%)	Metal kaynağı (konsantrasyon)	Yorum	Kaynak
Bakteri (atık su)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0.08 mg/ml	46 (2 gun)	LS (20ml)/GM (69 mg/l)	Büyüme, protein sentezi ve pigment üretimi üzerinde değişken etkiler	Hassen et al. (1998)
Bakteri	<i>Pseudomonas aeruginosa PU21 (Rip64)</i>	Pb	0.5 mg/ml (110 mg/g)	80 (2 gun)	LS (100ml)/metal solution(100 mg/l) (20mg/l)	Tutunma pH ve büyüme fazına bağlı	Chang et al. (1997)
		Cu	0.3 mg/ml (23 mg/g)	75 (2 gun)			
Maya	<i>Pichia stipitis</i> (adapte edilmiş)	Cu	0.98-15.85 mg/g	61-89 (3.5 gün)	10-100 mg/l	Uzaklaştırma, ve metal konsantrasyon una bağlı	Bu çalışma
		Cr	0.58-9.10 mg/g	58-85 (3.5gün)	10-100 mg/l	Uzaklaştırma, ve metal konsantrasyon una bağlı	Bu çalışma

Çizelge 6.4 Ölü *Pichia stipitis* mayasının, Cu(II) ve Cr(III) iyonlarına ait Langmuir izoterm parametreleri

Metal	T, °C	pH	q _m	b	R ²
Cu (II)	20	3	24,94	0,075	0,9896
	20	4.5	16.89	0,070	0,9736
	35	3	22,17	0,067	0,9516
	35	4.5	15,24	0,100	0,9627
Cr (III)	20	3	22,99	0,0432	0,8528
	20	4.5	19,20	0,0382	0,9430
	35	3	18,62	0,0498	0,9915
	35	4.5	15,18	0,045	0,9946

Çizelge 6.5 Ölü *Pichia stipitis* mayasının, Cu(II) ve Cr(III) iyonlarına ait Freundlich izoterm parametreleri

Metal	T, °C	pH	1/n	K _F	R ²
Cu (II)	20	3	0,5405	2,636	0,8972
	20	4.5	0,5054	1,912	0,8037
	35	3	0,5448	2,233	0,7853
	35	4.5	0,5261	1,582	0,7926
Cr (III)	20	3	0,6599	1,345	0,7917
	20	4.5	0,6256	1,100	0,8719
	35	3	0,3676	3,0796	0,9969
	35	4.5	0,3723	2,3878	0,9930

Çizelge 6.6 Ölü *Pichia stipitis* mayasının, Cu(II) ve Cr(III) iyonlarına ait Temkin izoterm parametreleri

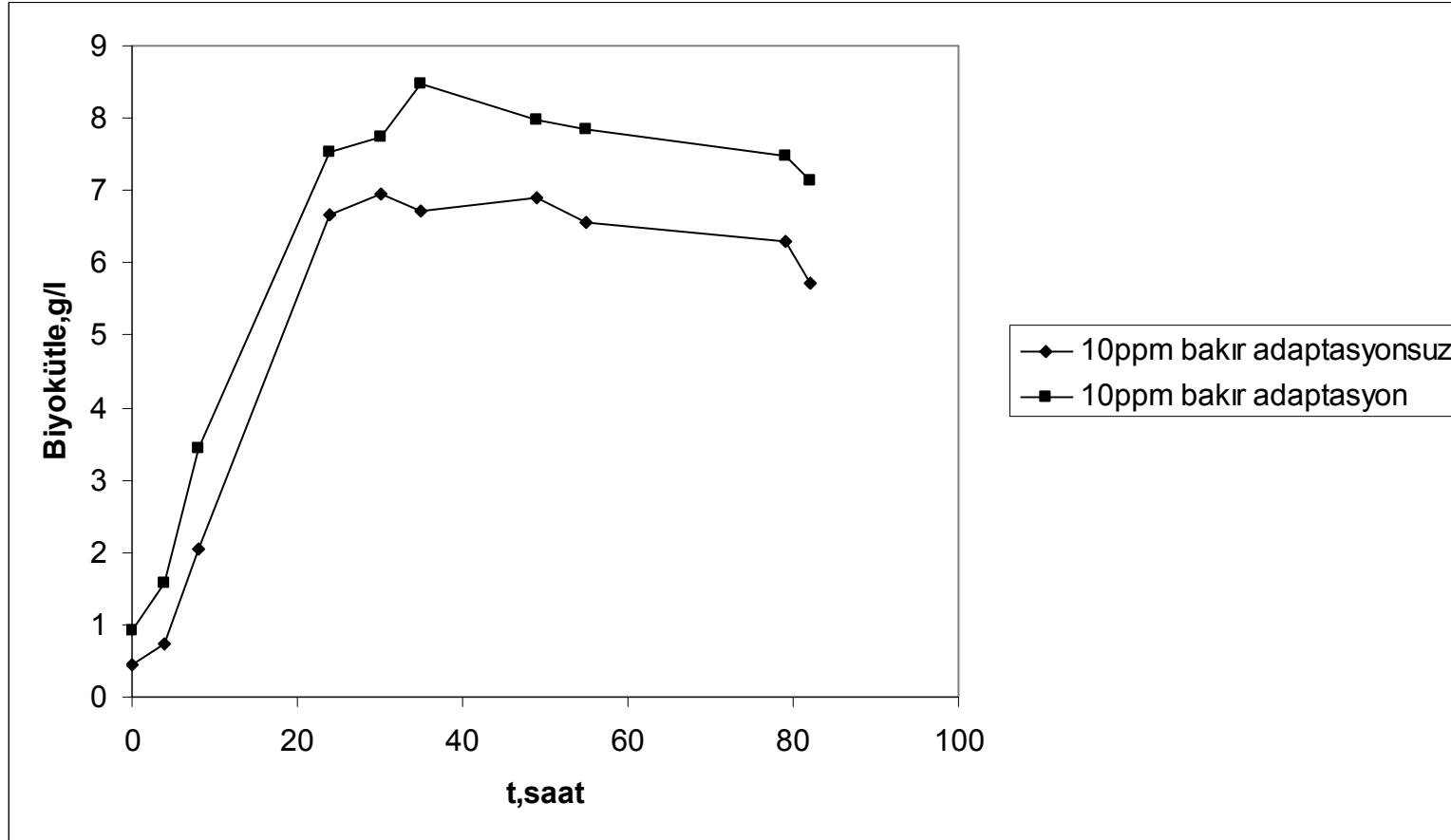
Metal	T, °C	pH	b_T	K_T	R^2
Cu (II)	20	3	0,186	0,832	0,9878
	20	4.5	0,273	0,796	0,9120
	35	3	0,208	0,793	0,9188
	35	4.5	0,293	0,721	0,8943
Cr (III)	20	3	0,192	0,531	0,9000
	20	4.5	0,238	0,480	0,9729
	35	3	0,247	0,569	0,9863
	35	4.5	0,297	0,502	0,9888

Çizelge 6.7 Ölü *Pichia stipitis* mayasının, Cu(II) ve Cr(III) iyonlarına ait Jovanovich (J2) izoterm parametreleri

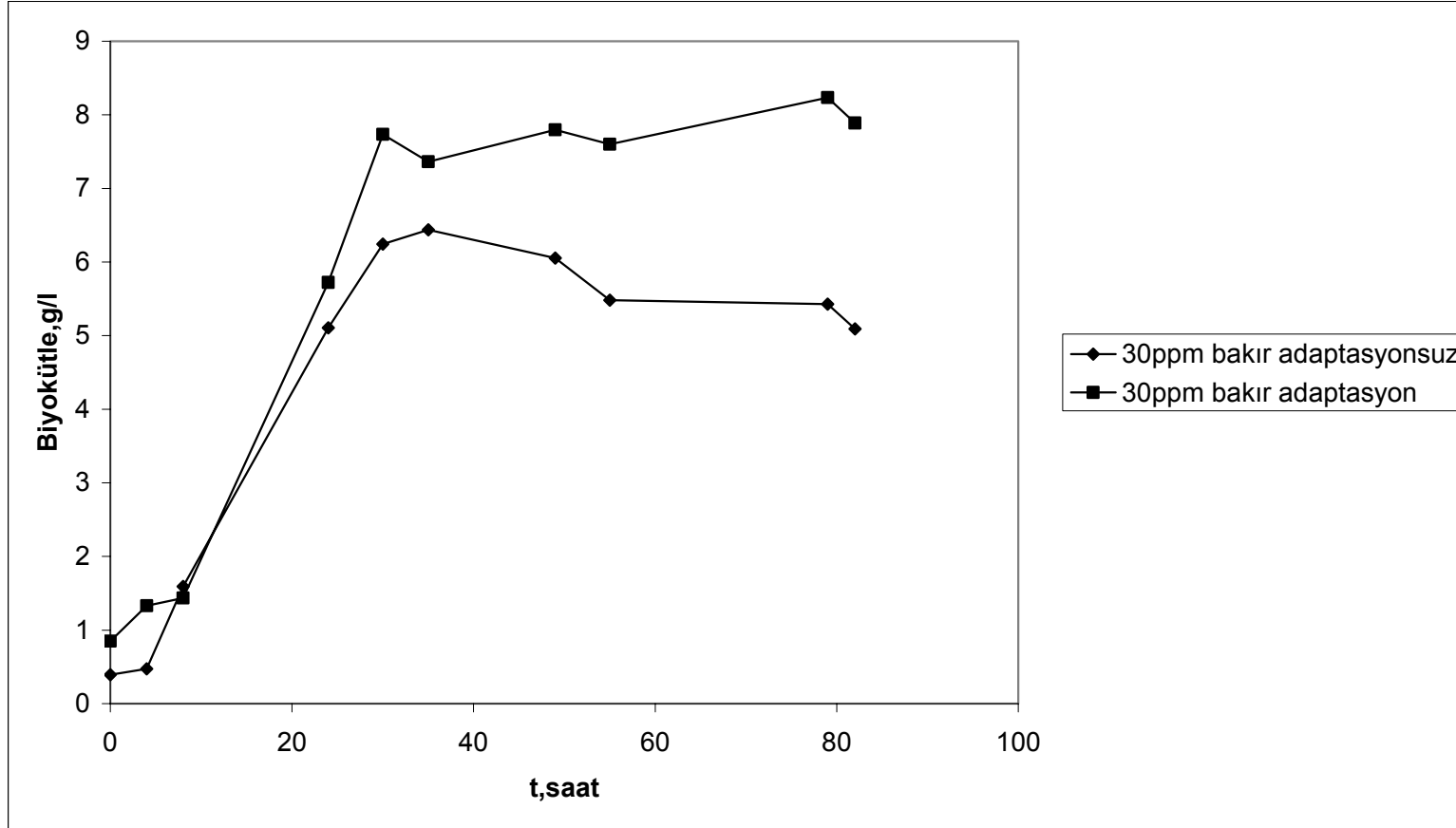
Metal	T, °C	pH	K	M	R^2
Cu (II)	20	3	-0,04412	21,58	0,8604
	20	4.5	-0,0384	15,18	0,7156
	35	3	-0,04282	19,42	0,7758
	35	4.5	-0,03769	14,08	0,7648
Cr (III)	20	3	-0,04158	18,51	0,8975
	20	4.5	-0,3501	14,36	0,9057
	35	3	-0,03334	14,75	0,7467
	35	4.5	-0,3137	11,79	0,8028

Çizelge 6.8 Literatürdeki ölü hücrelerle yapılan çalışmalarda Cu(II) ve Cr(III) biyosorpsiyonuna ait bazı veriler [60]

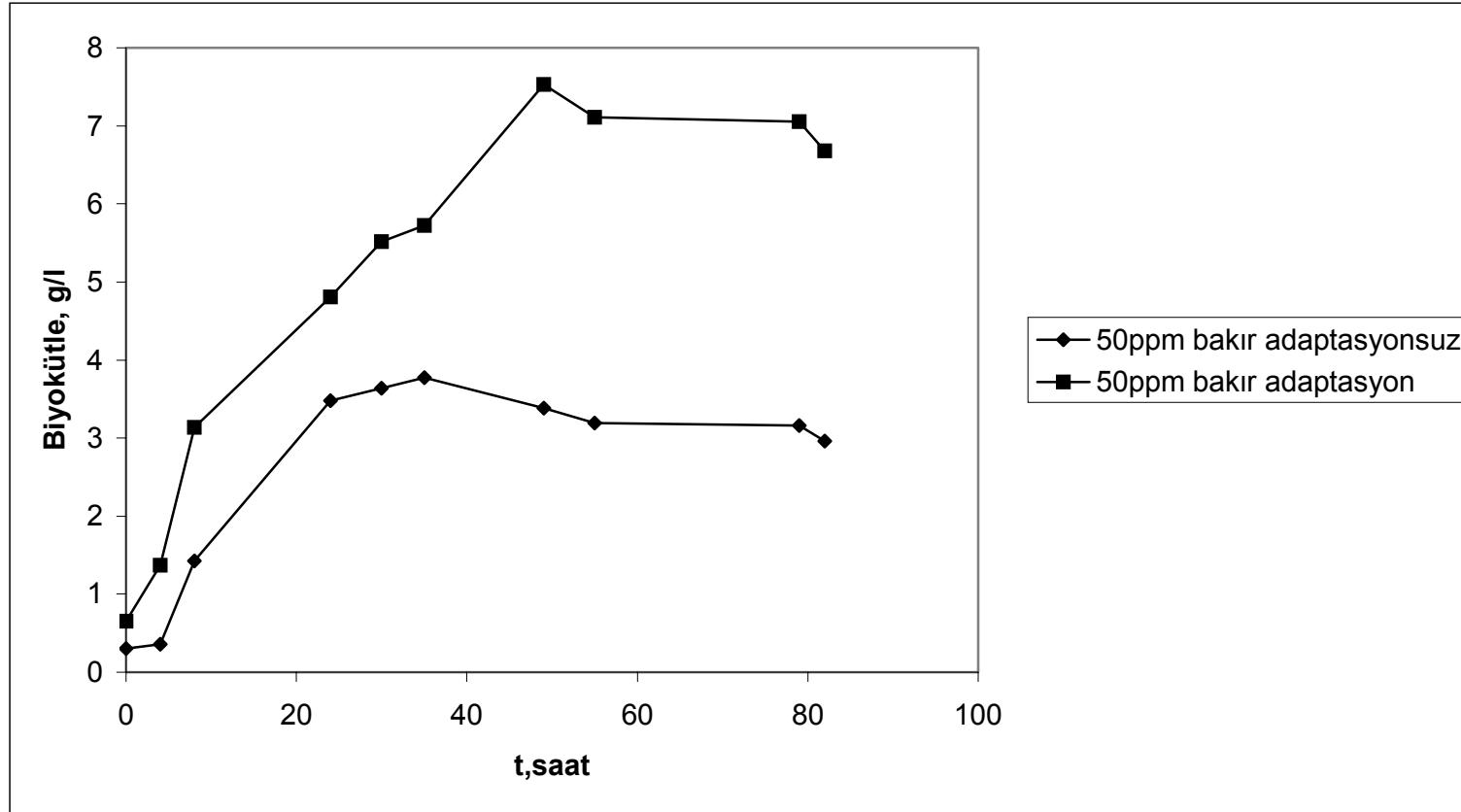
Organizma adı	Metal	Tutunma verimi, mg/g	Kaynak
<i>Aspergillus foetidus</i>	Cr (VI)	2	Prasanjit and Sumathi (2005)
<i>Aspergillus niger</i>	Cu	5	Townsley and Ross (1986)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	Cu	6	Gadd and Mowll (1995)
<i>Ganoderma lucidum</i>	Cu	24	Muraleedharan and Vankobachar (1990)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	Cd, Cu, Pb	11, 9, 116	Niu. Et al. (1999)
<i>R. arrhizus</i>	Cr	11	Bai and Abraham (1998)
	Cu	10	Gadd (1988)
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Cu	17-40	Volesky and May-Phillips (1995)
	Cu	10	Mattuschka et al. (1993)
		0,4	Huang et al. (1990)
<i>B. coagulans</i>	Cr (VI)	39,9	Srinath et al. (2002)
<i>B. megaterium</i>	Cr (VI)	30,7	Srinath et al. (2002)
<i>Pichia stipitis</i>	Cu(II)	20,22	Bu çalışma
	Cr(III)	16,12	Bu çalışma



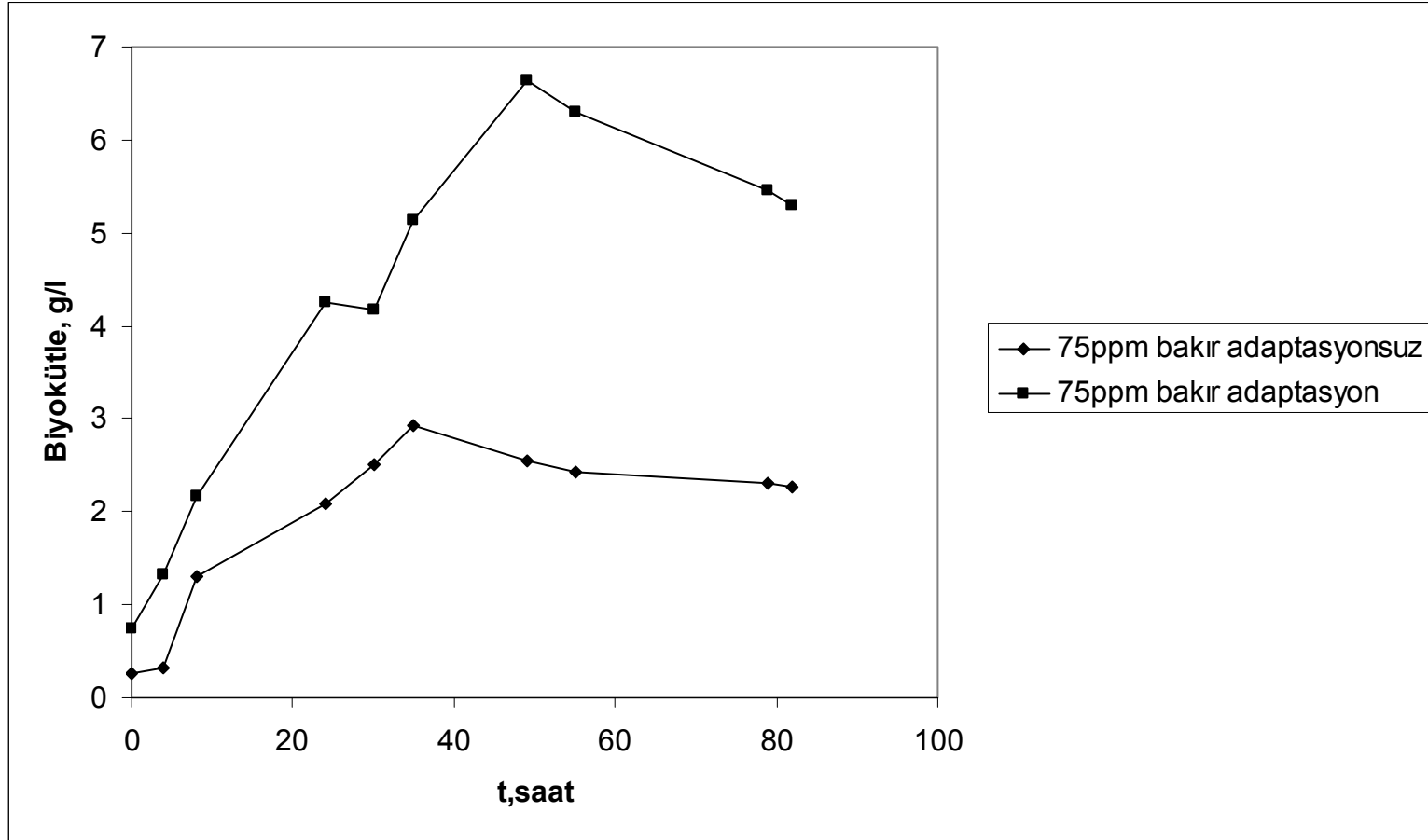
Şekil 6.1. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 10ppm bakır(II) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



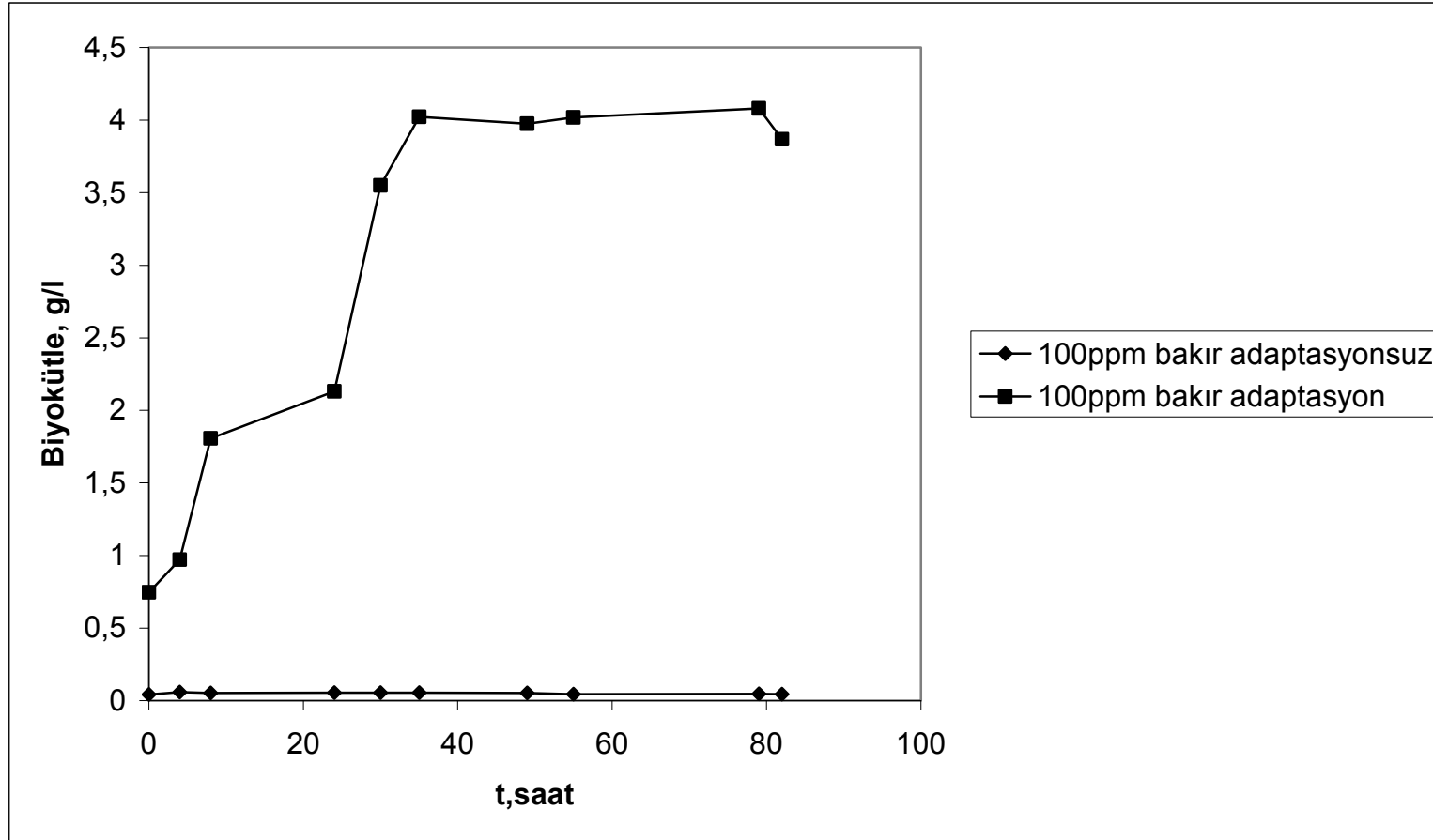
Şekil 6.2. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 30ppm bakır(II) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri ($T=30^{\circ}\text{C}$ ve Karıştırma hızı=350rpm)



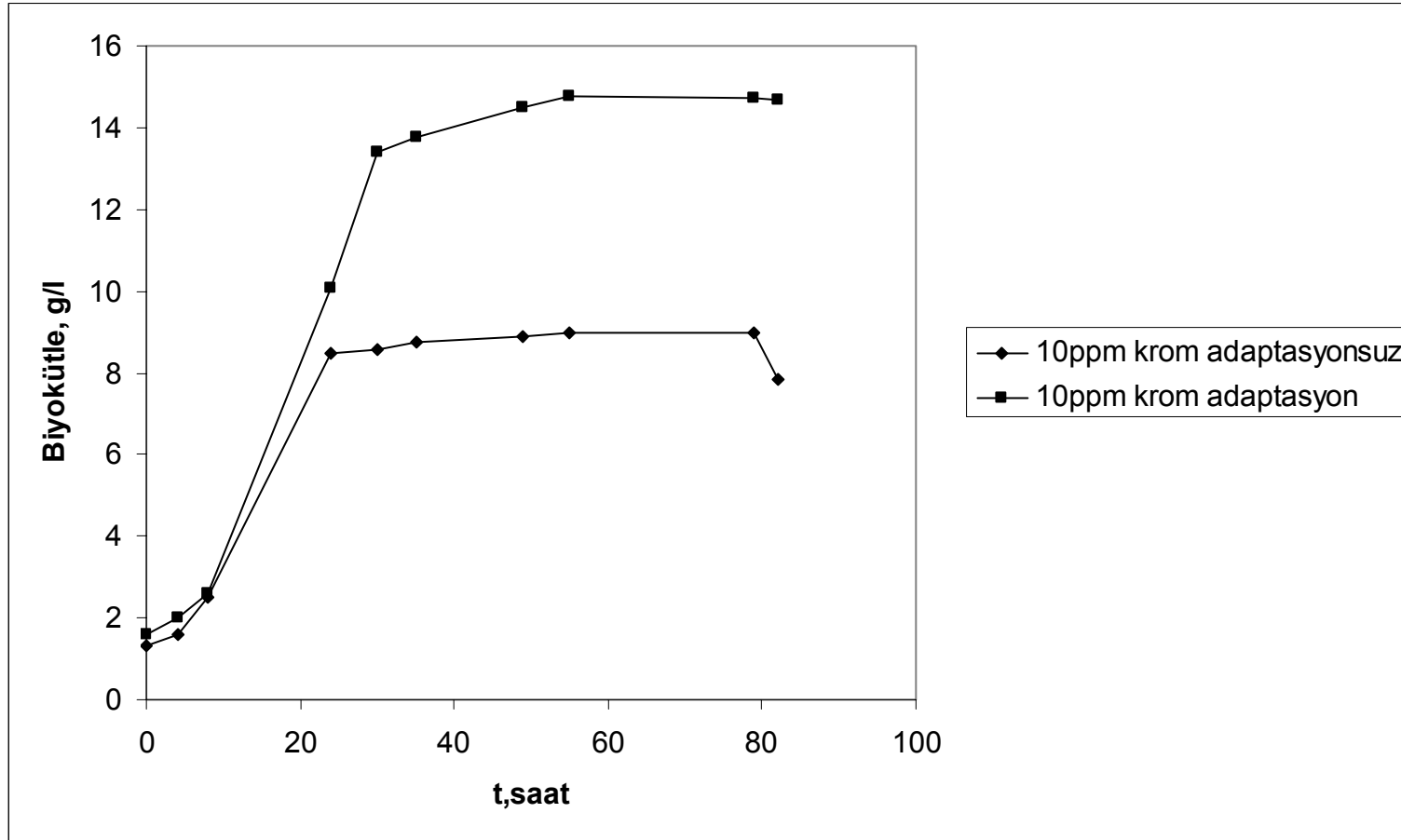
Şekil 6.3. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 50ppm bakır(II) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



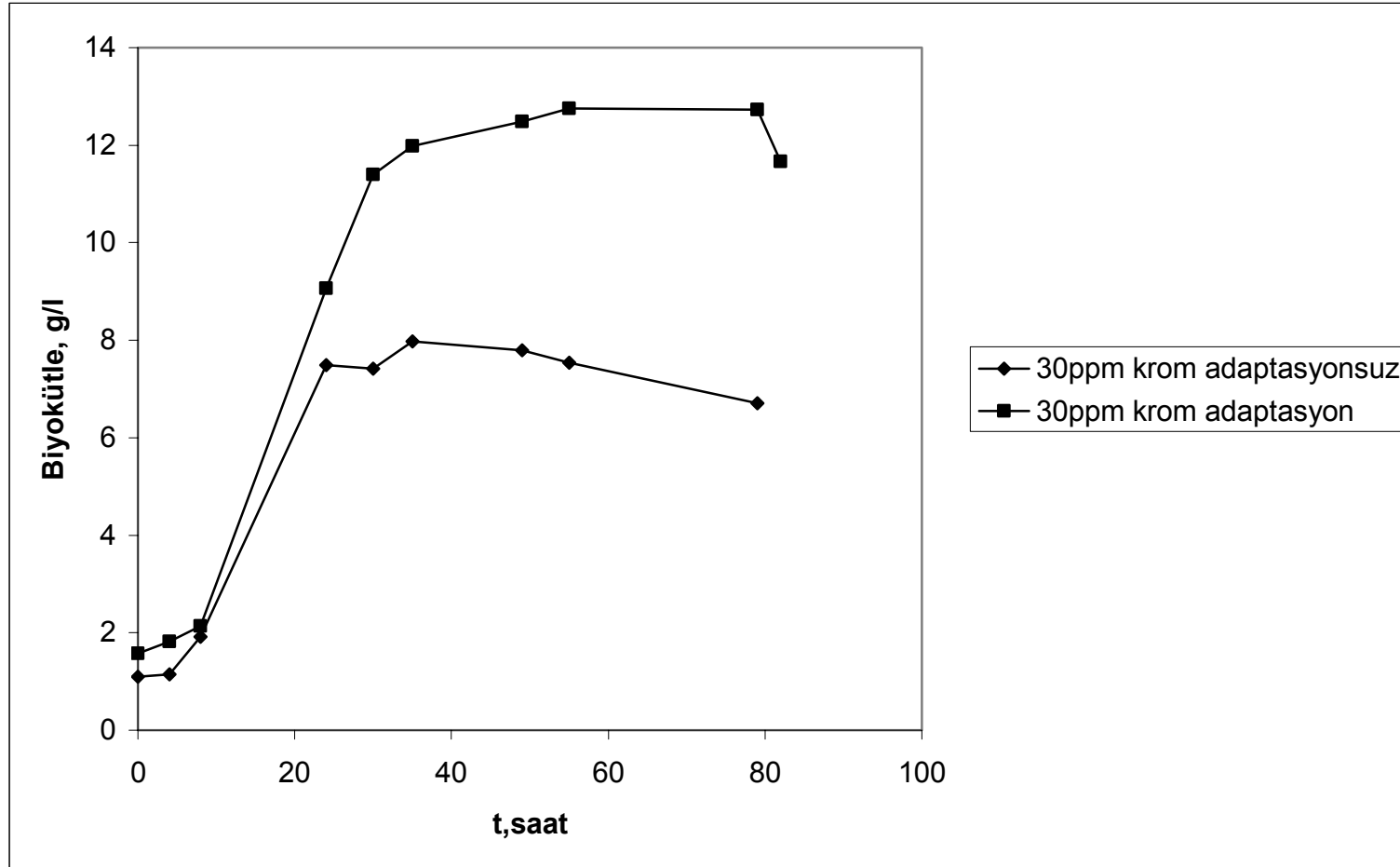
Şekil 6.4. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 75ppm bakır(II) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



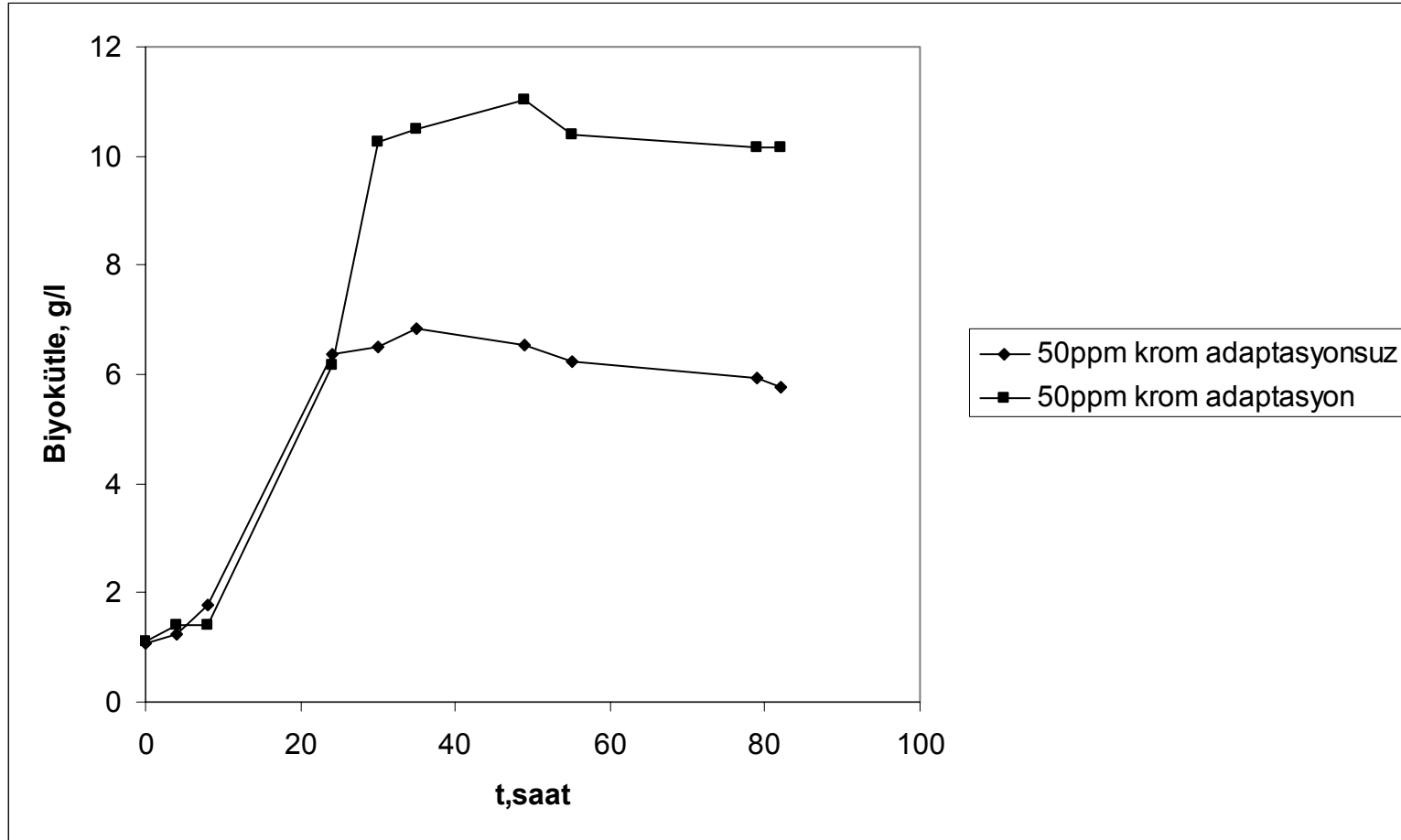
Şekil 6.5. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 100ppm bakır(II) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



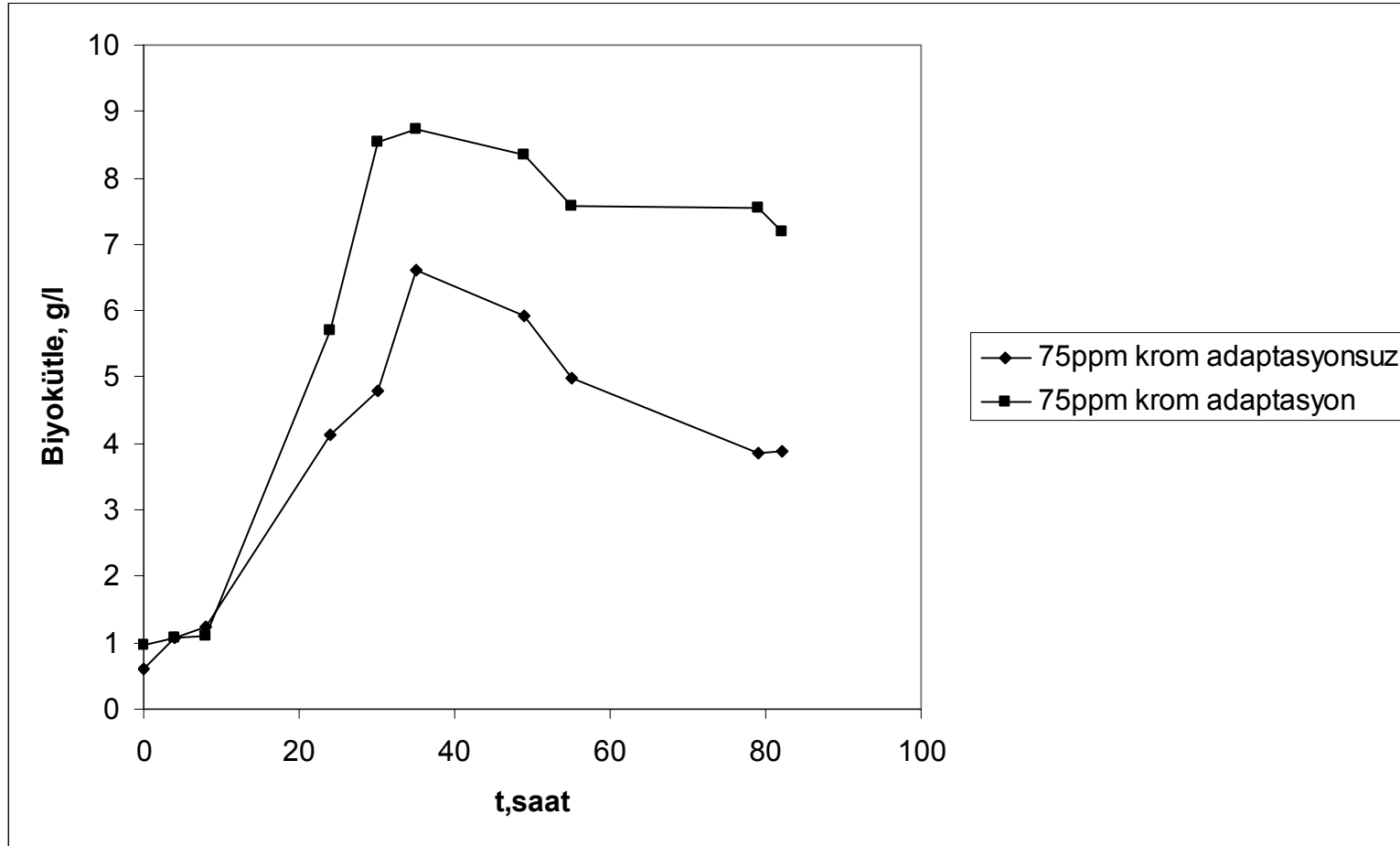
Şekil 6.6. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 10ppm krom(III) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



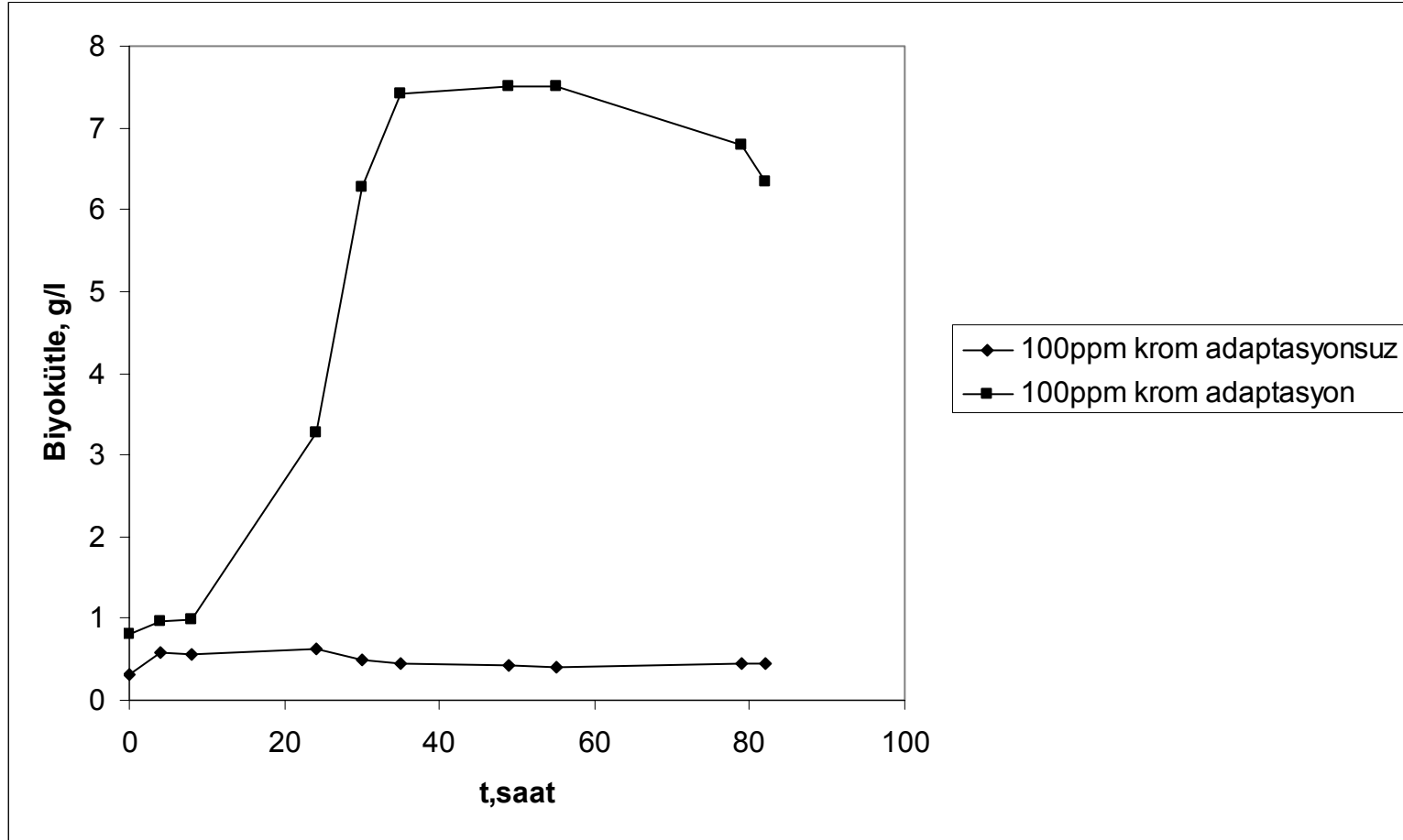
Şekil 6.7. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 30ppm krom(III) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



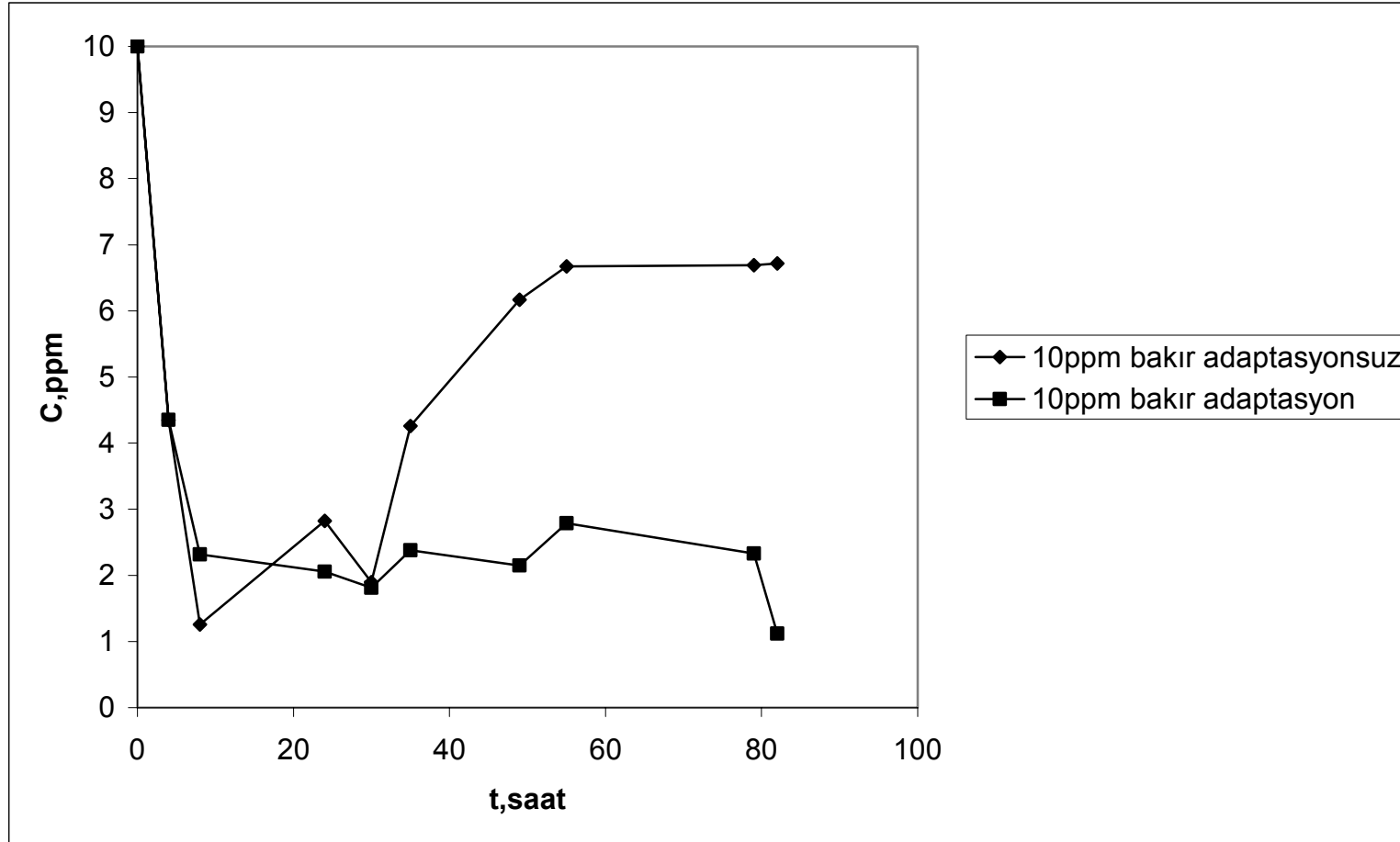
Şekil 6.8. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 50ppm krom(III) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



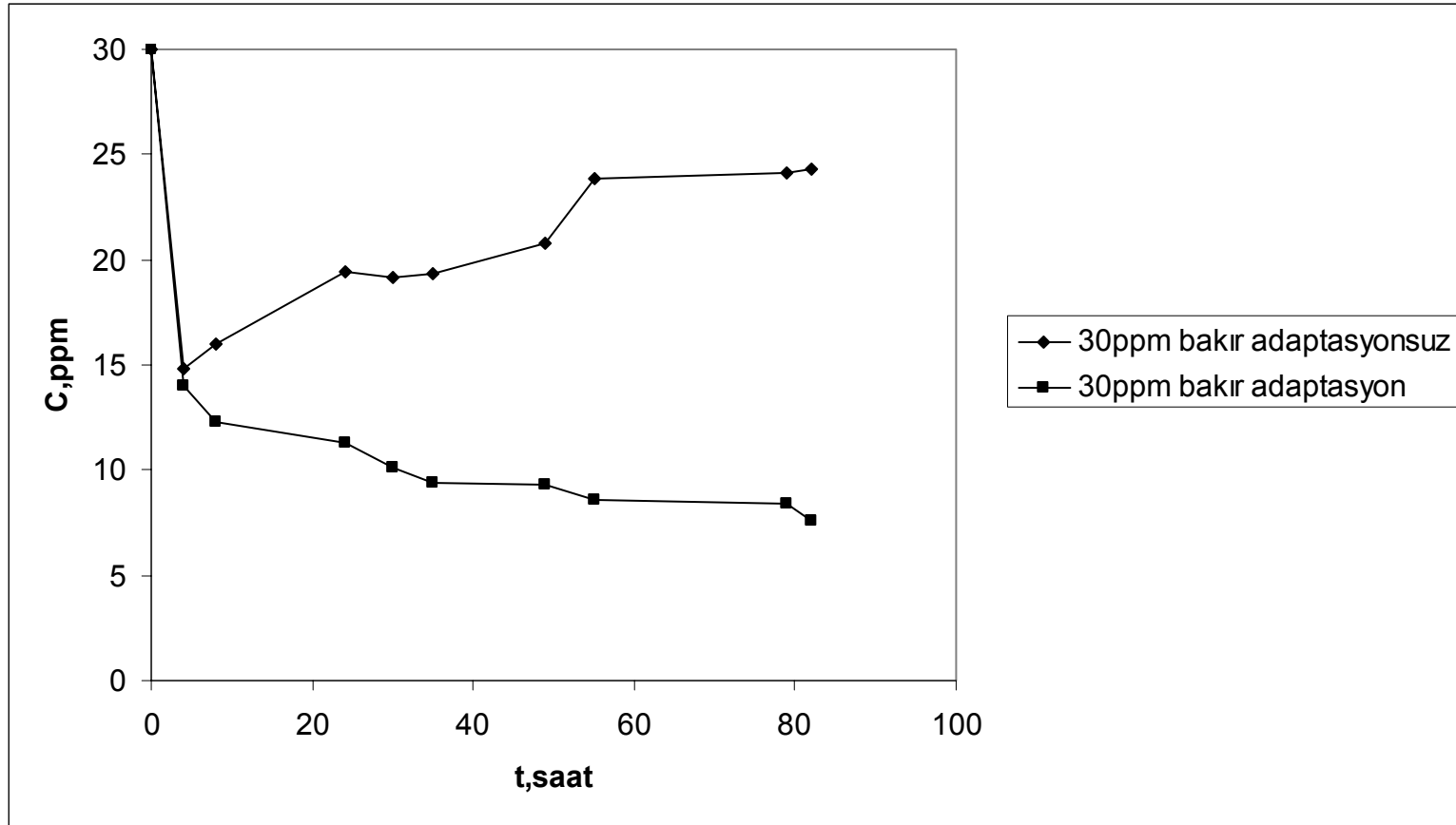
Şekil 6.9. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 75ppm krom(III) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



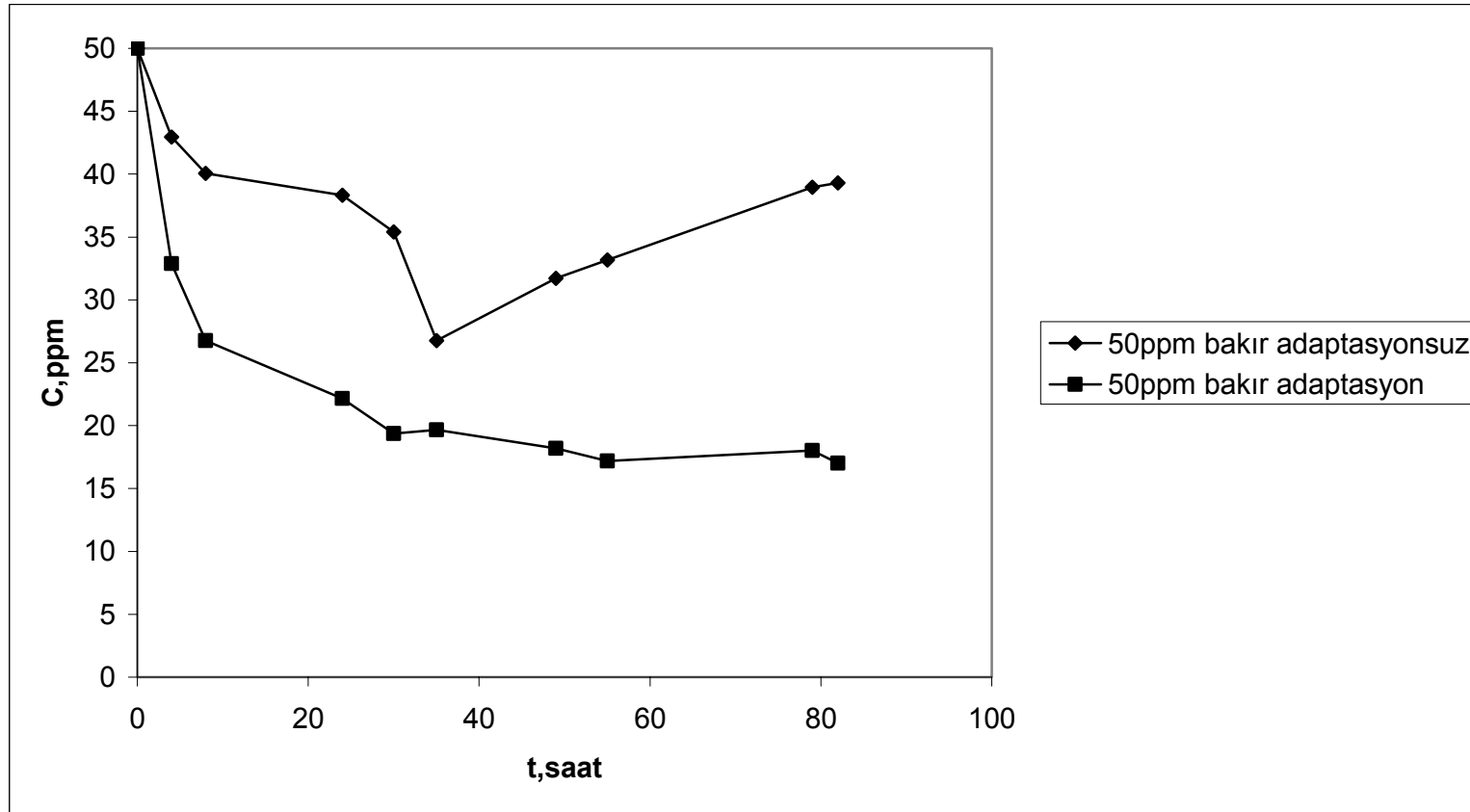
Şekil 6.10. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* in 100ppm krom(III) başlangıç konsantrasyonunda karşılaştırmalı çoğalma eğrileri (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



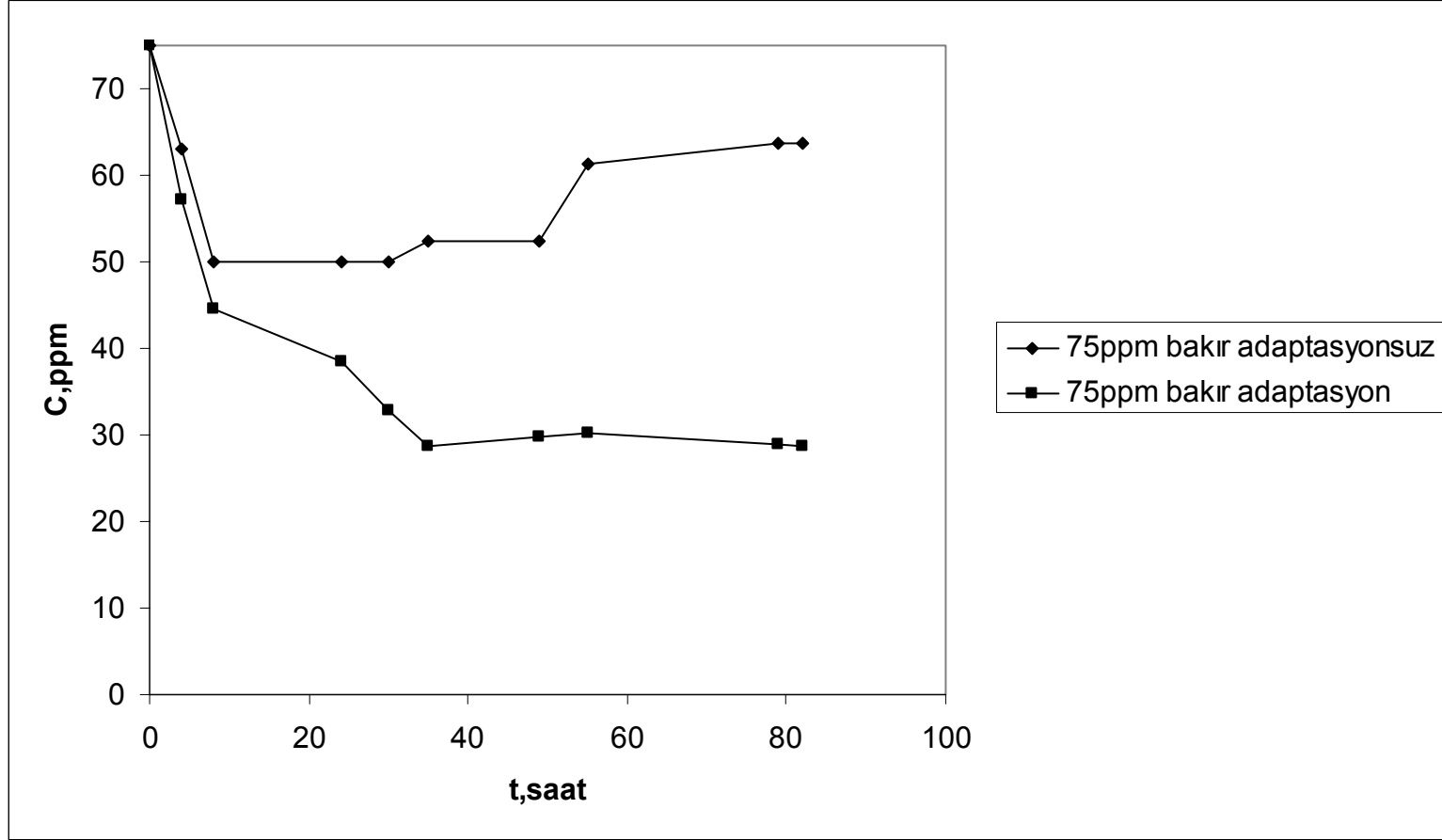
Şekil 6.11. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan bakır(II) miktarının 10ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30⁰C ve Karıştırma hızı=350rpm)



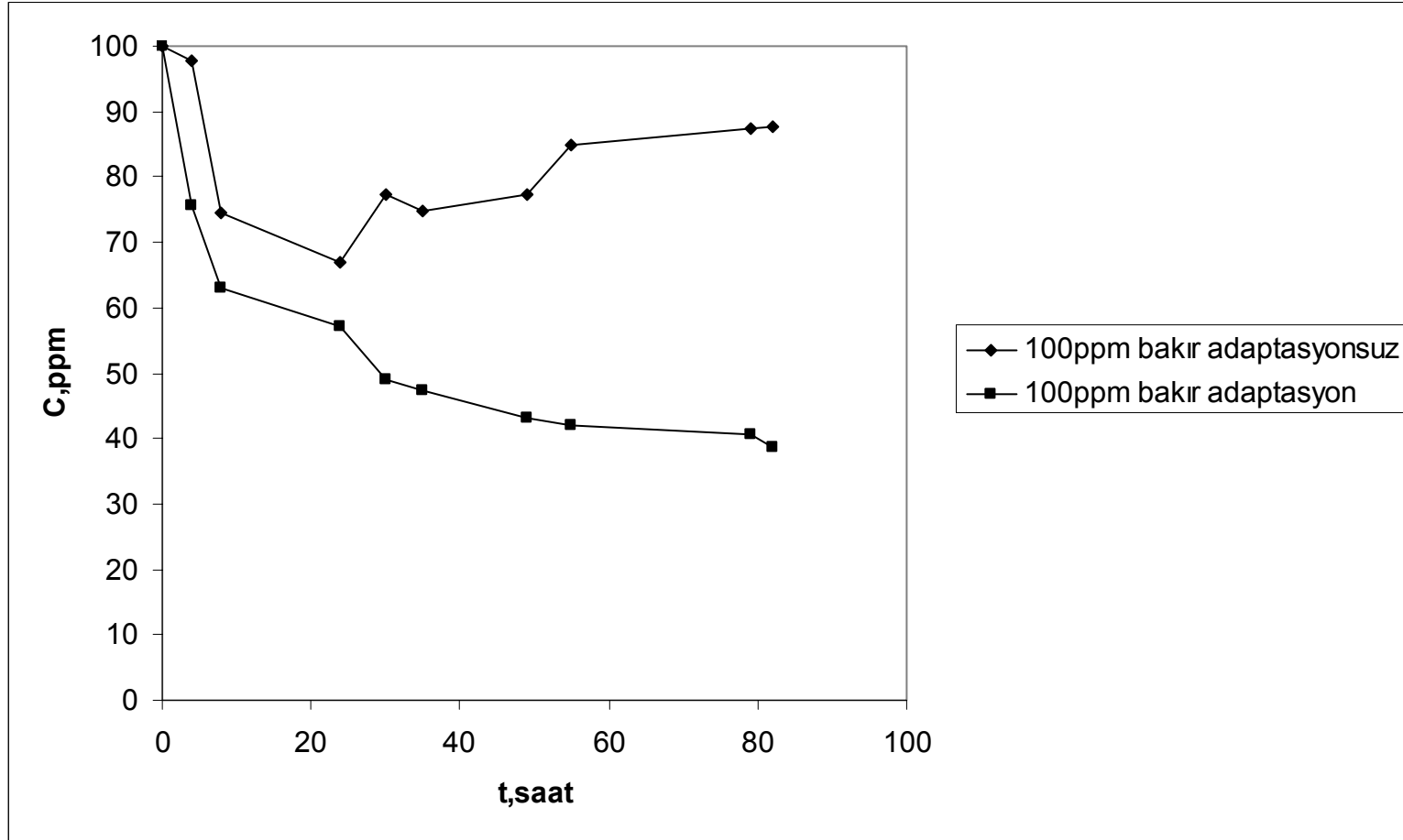
Şekil 6.12. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan bakır(II) miktarının 30ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



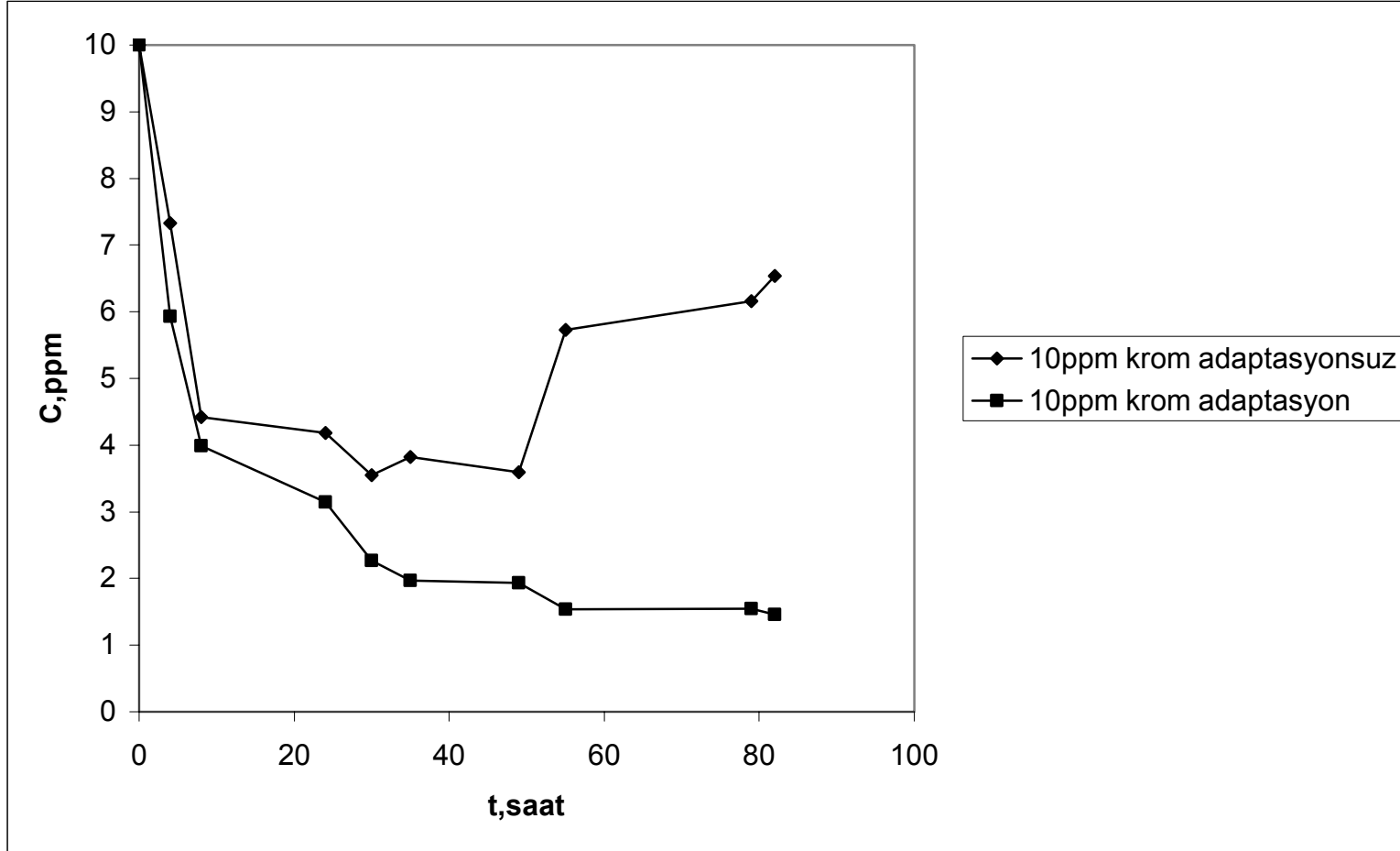
Şekil 6.13. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan bakır(II) miktarının 50ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



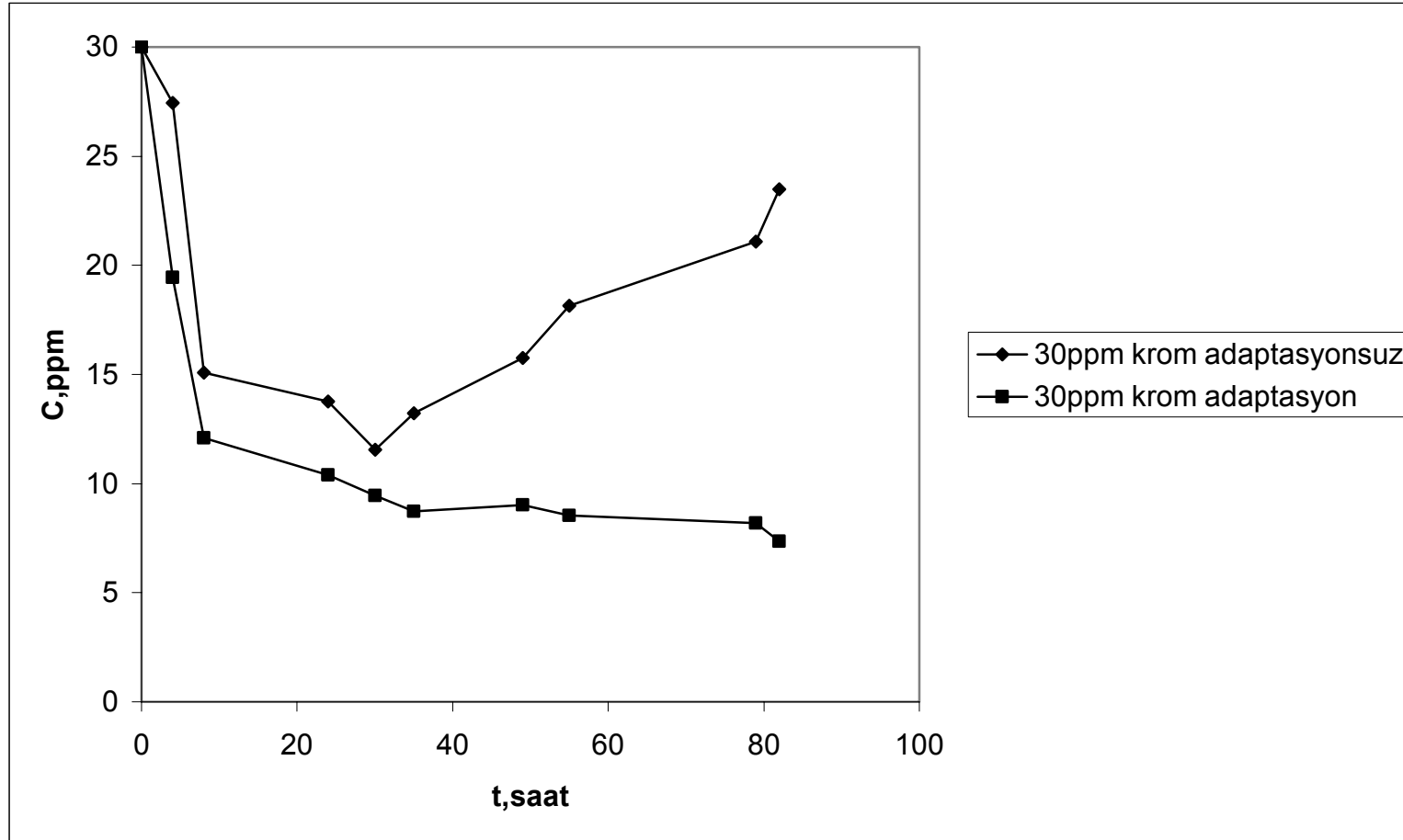
Şekil 6.14. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan bakır(II) miktarının 75ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



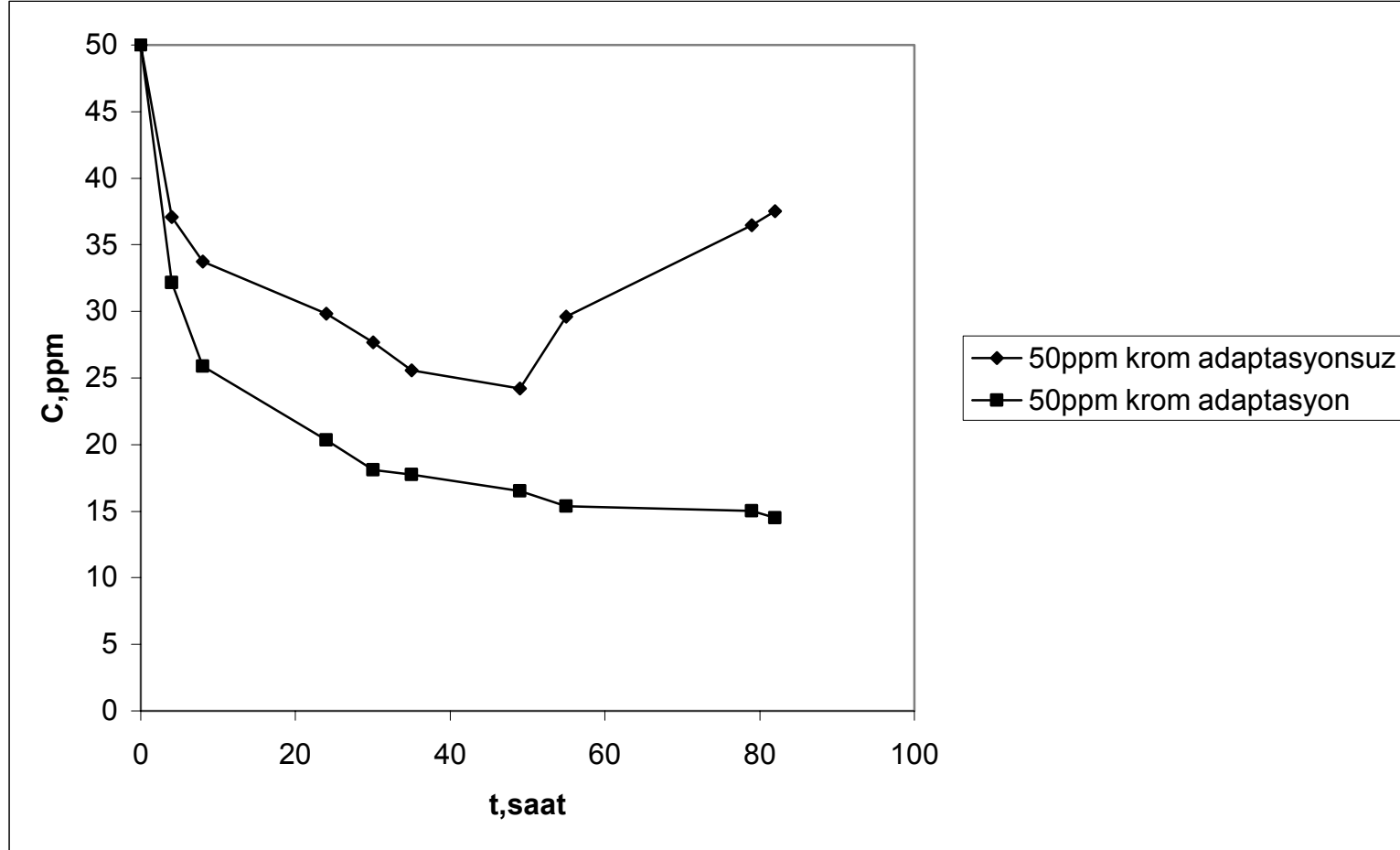
Şekil 6.15. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan bakır(II) miktarının 100ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



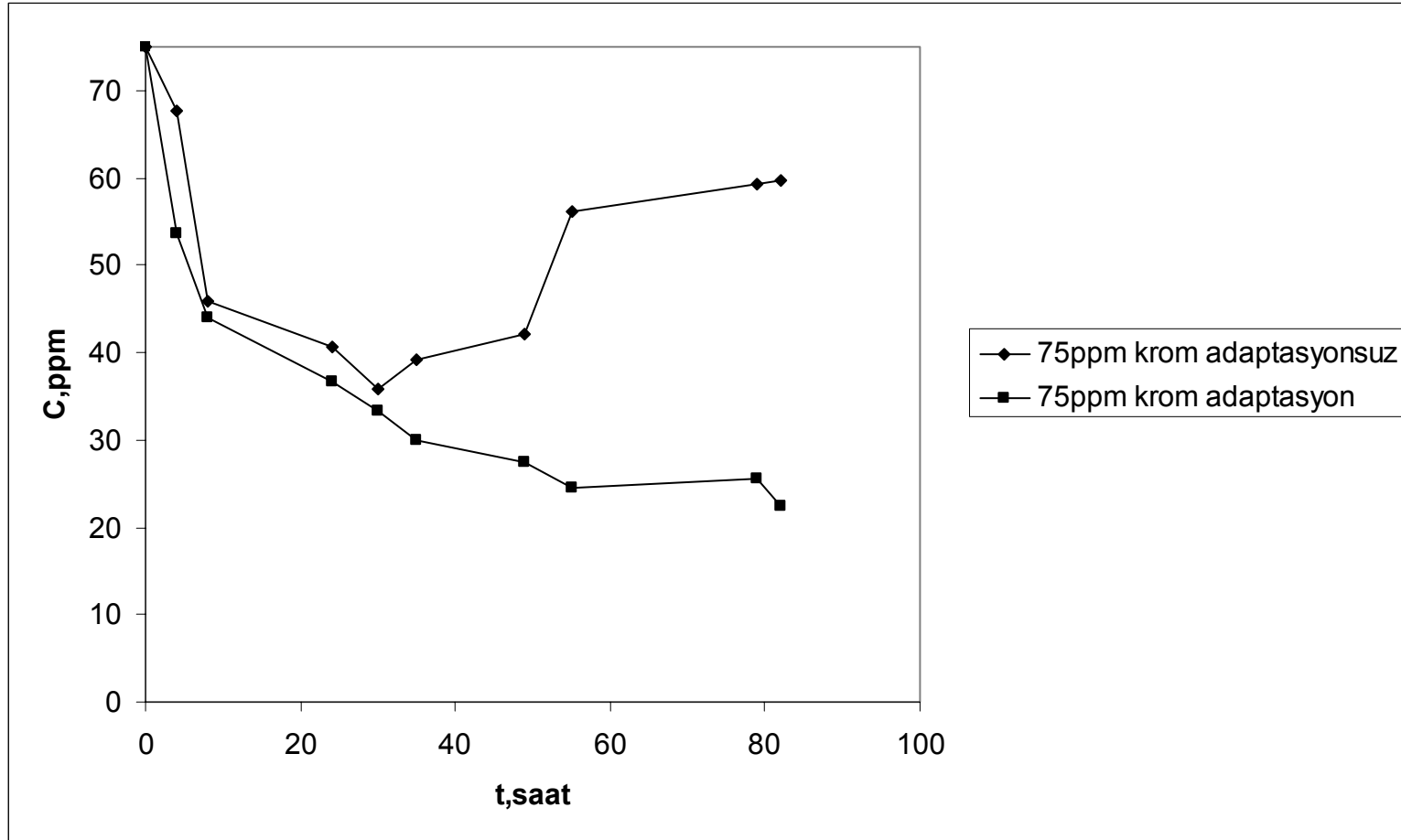
Şekil 6.16. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan krom(III) miktarının 10ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30⁰C ve Karıştırma hızı=350rpm)



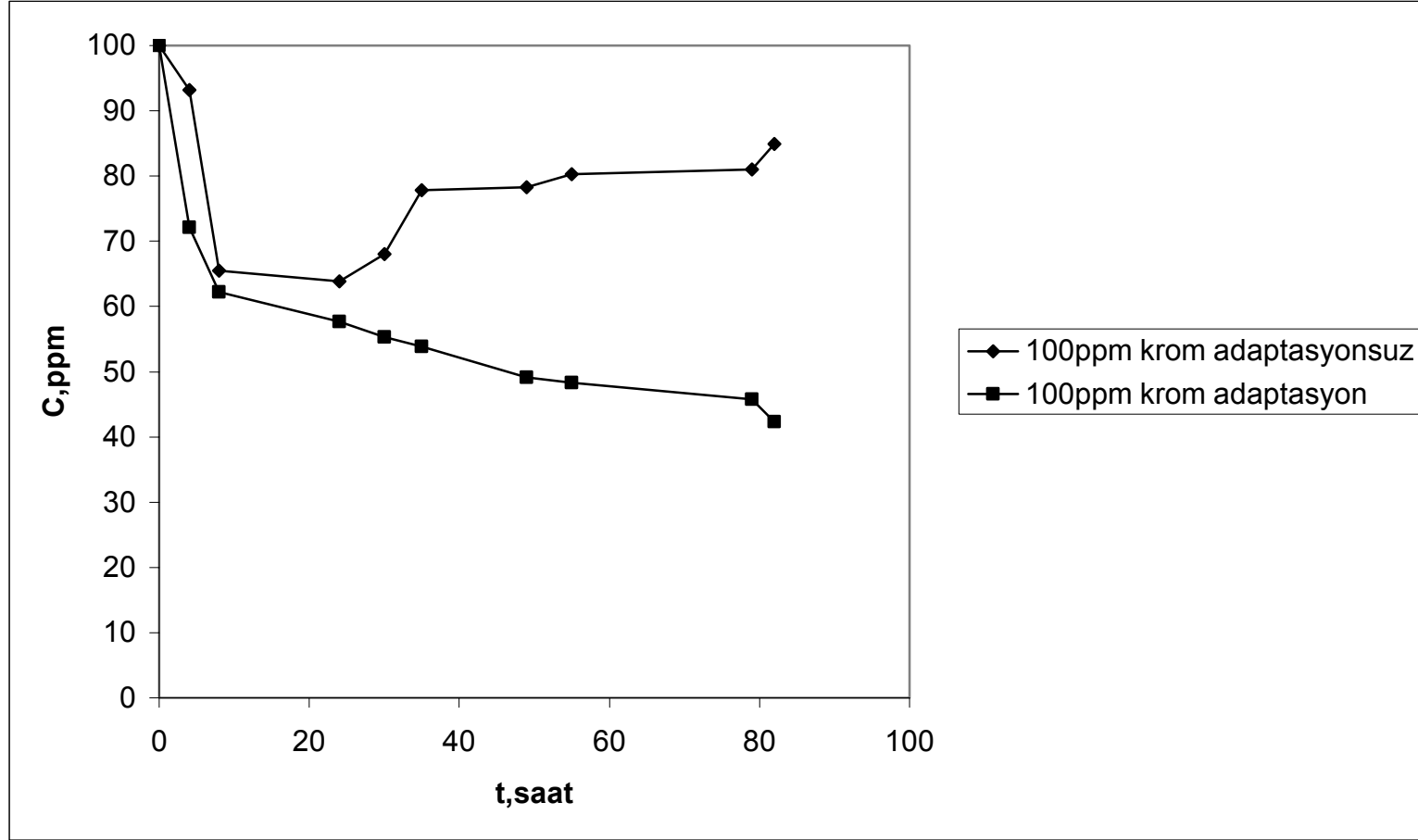
Şekil 6.17. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan krom(III) miktarının 30ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30⁰C ve Karıştırma hızı=350rpm)



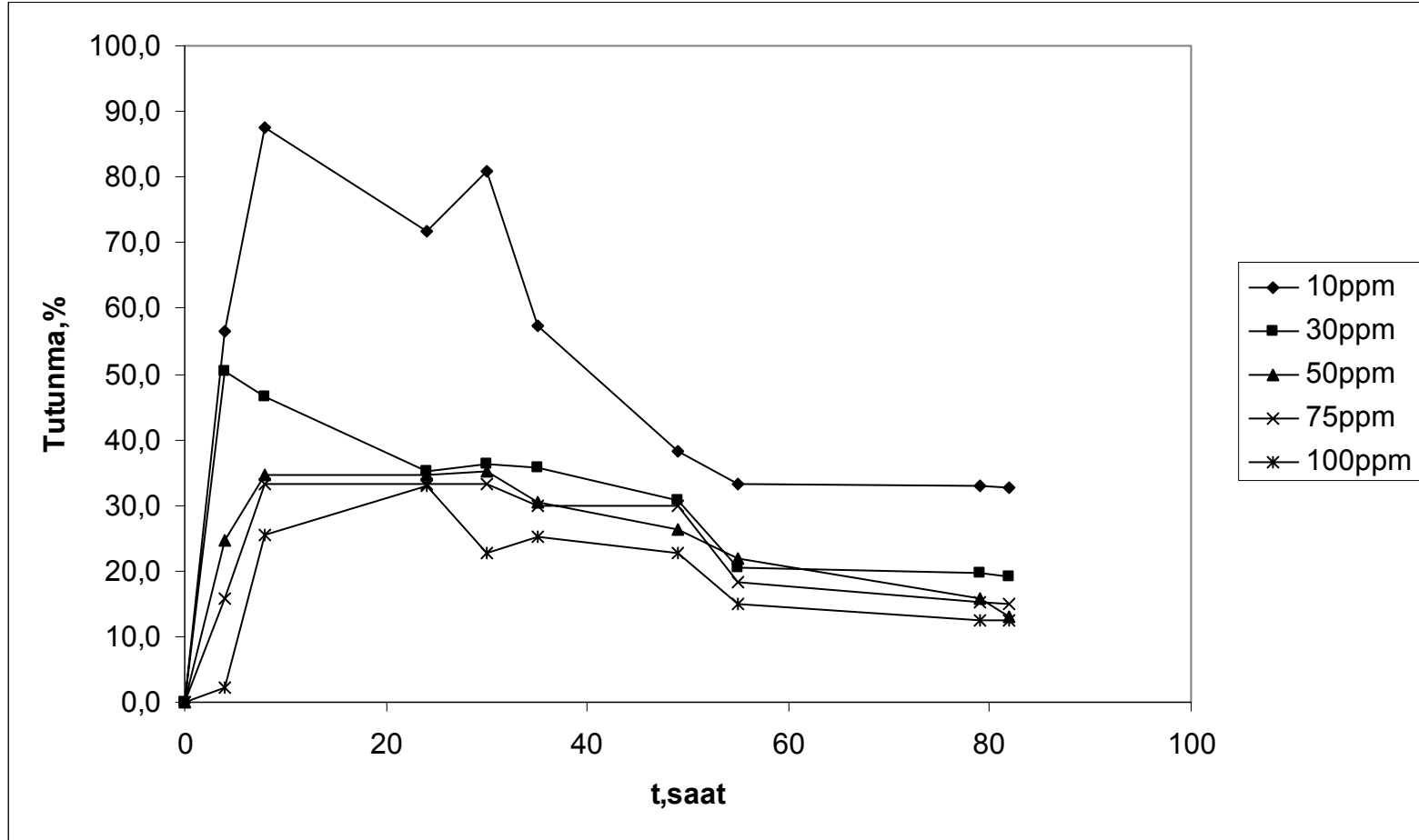
Şekil 6.18. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan krom(III) miktarının 50ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30⁰C ve Karıştırma hızı=350rpm)



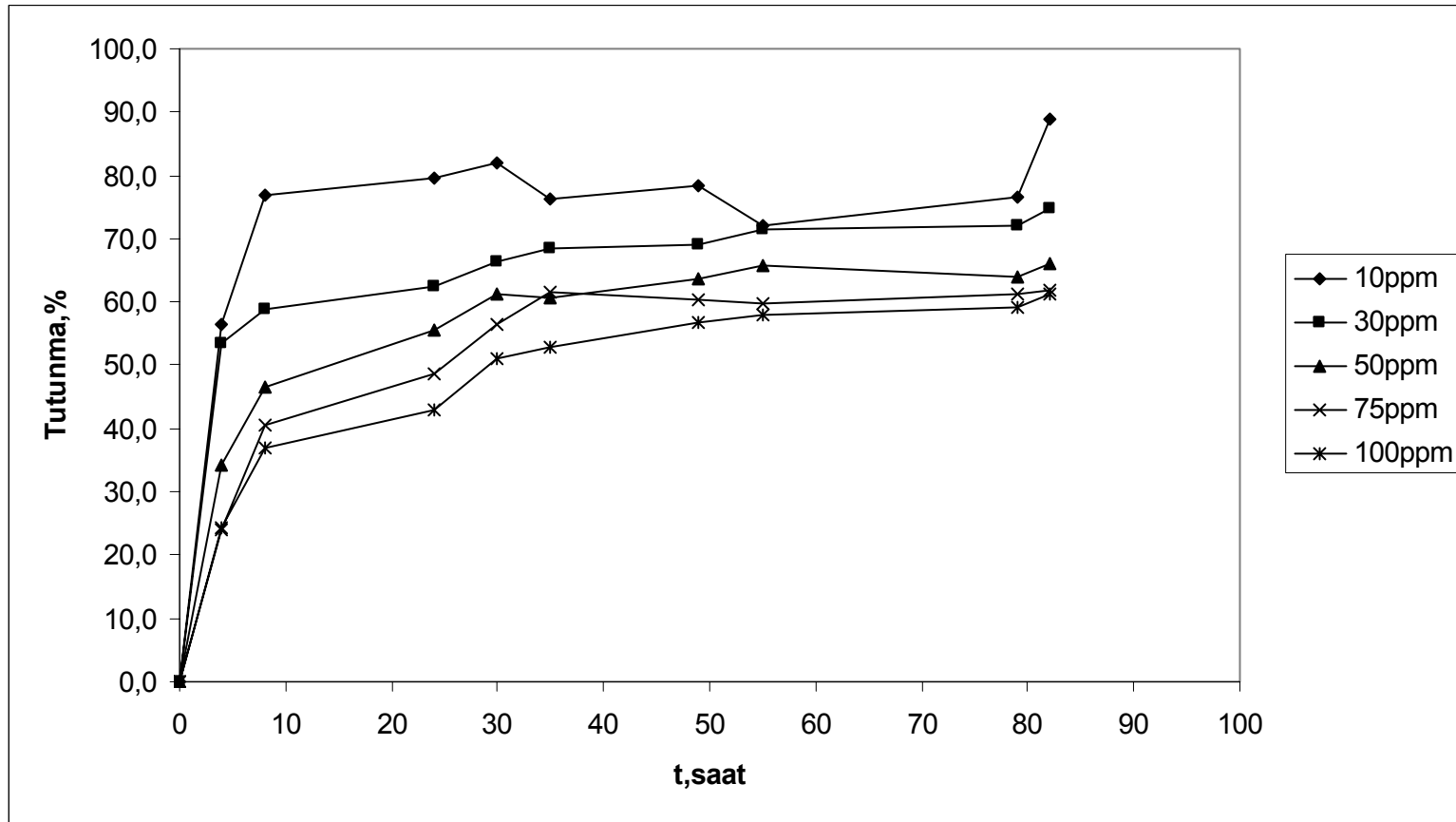
Şekil 6.19. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan krom(III) miktarının 75ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi (T=30⁰C ve Karıştırma hızı=350rpm)



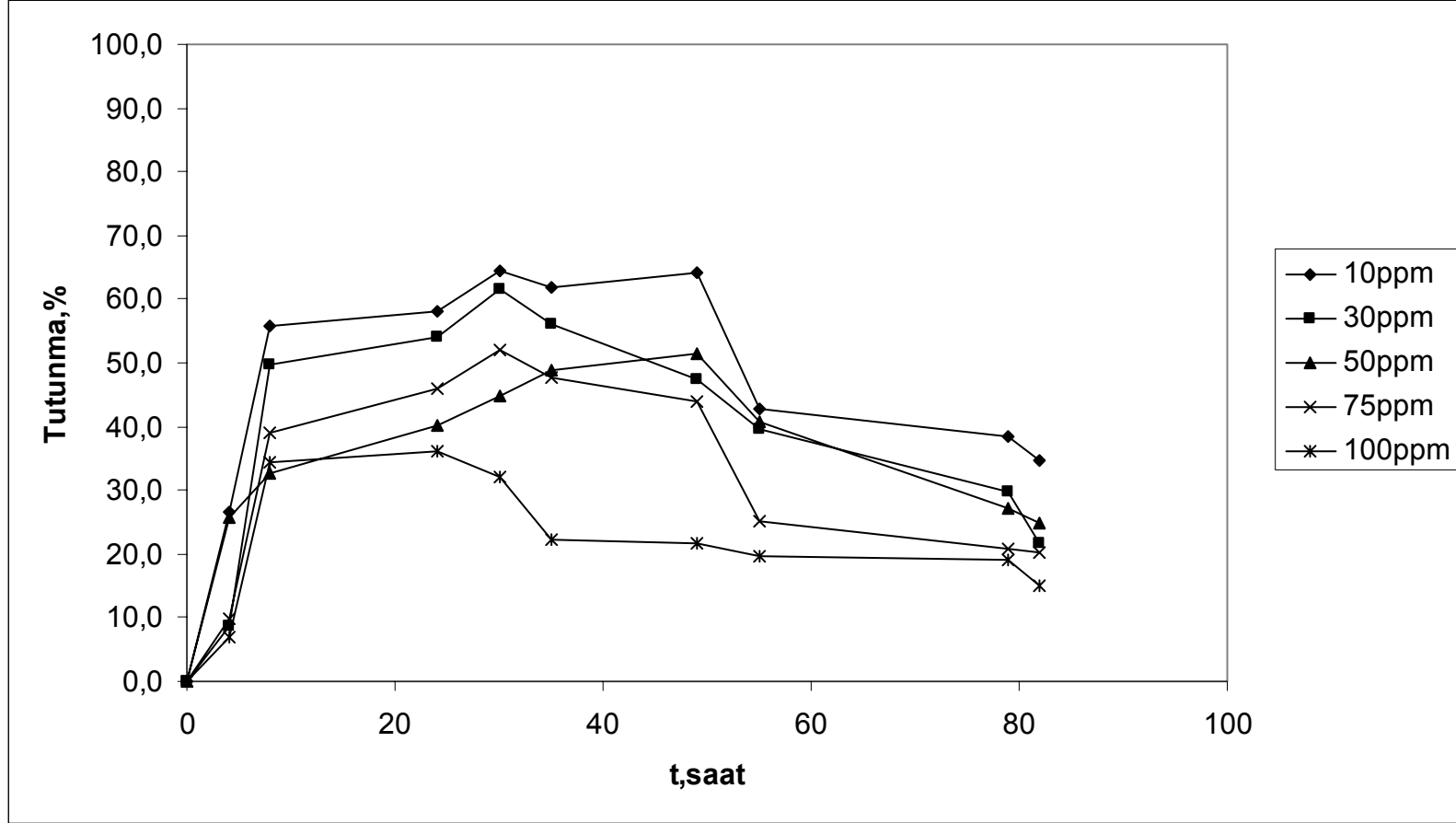
Şekil 6.20. Adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* tarafından adsorplanan krom(III) miktarının 100ppm başlangıç konsantrasyonu için zamanla değişimi ($T=30^{\circ}\text{C}$ ve Karıştırma hızı=350rpm)



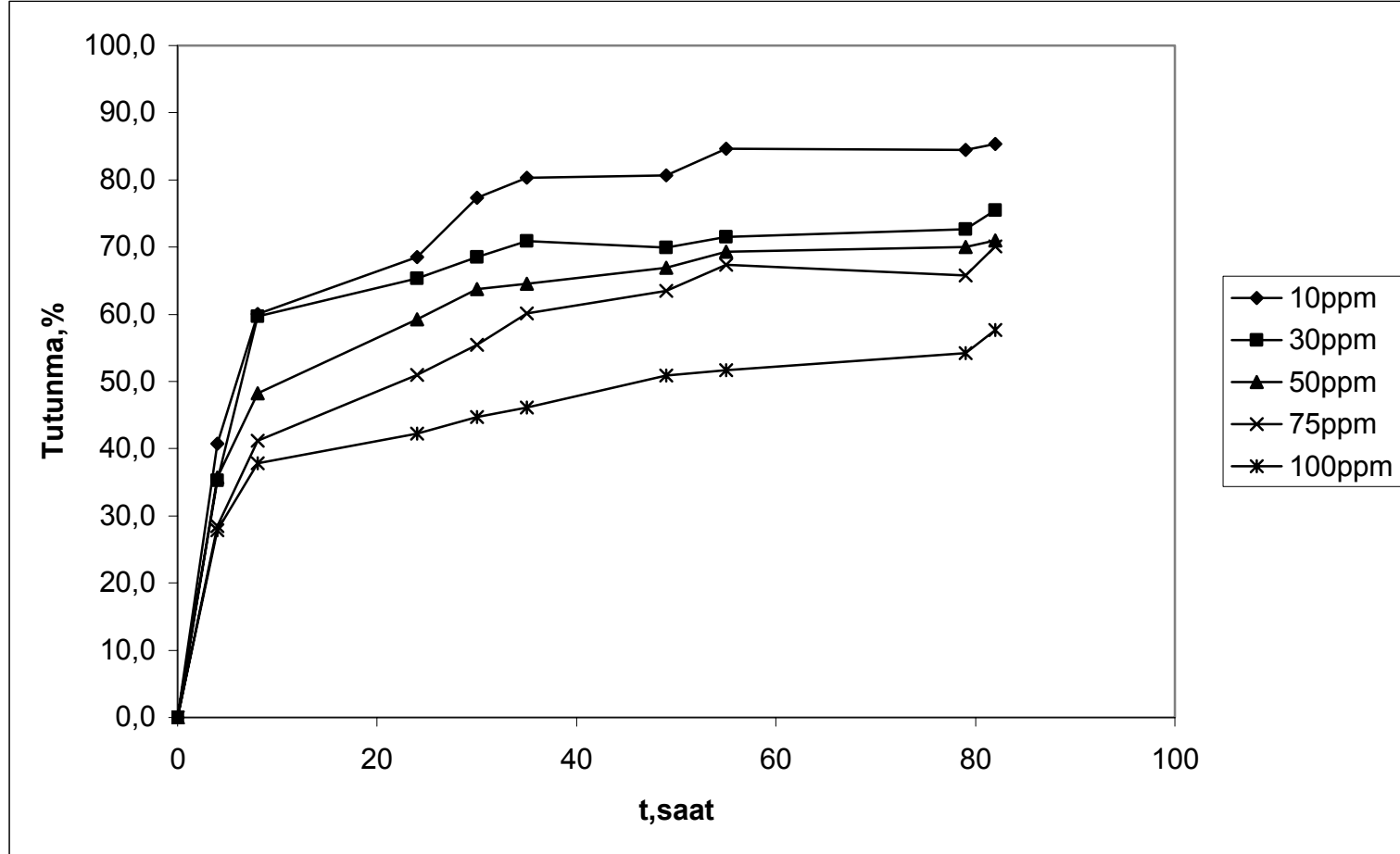
Şekil 6.21. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında tutunan ağır metal miktarları (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



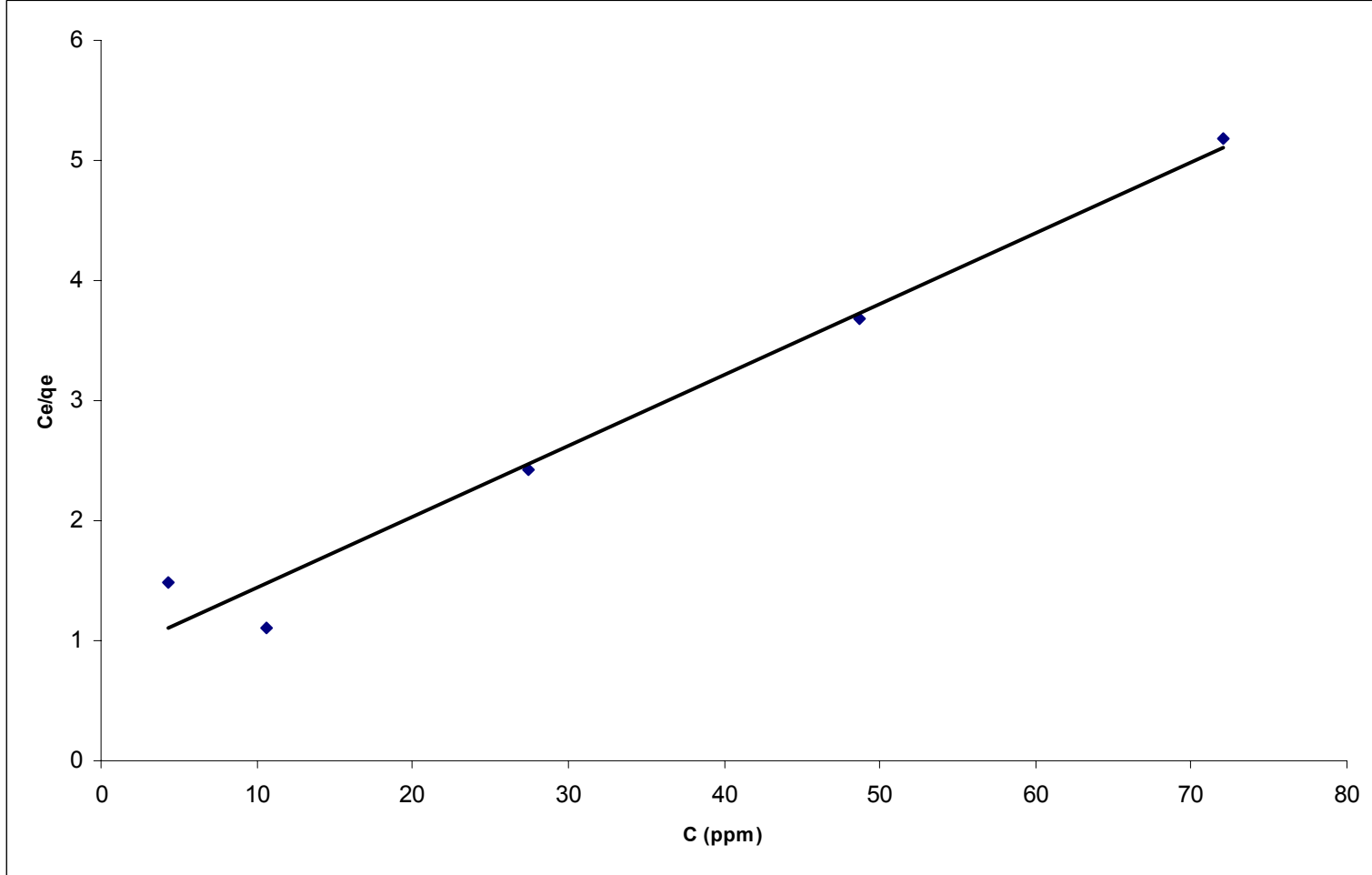
Şekil 6.22. Adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında tutunan ağır metal miktarları (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



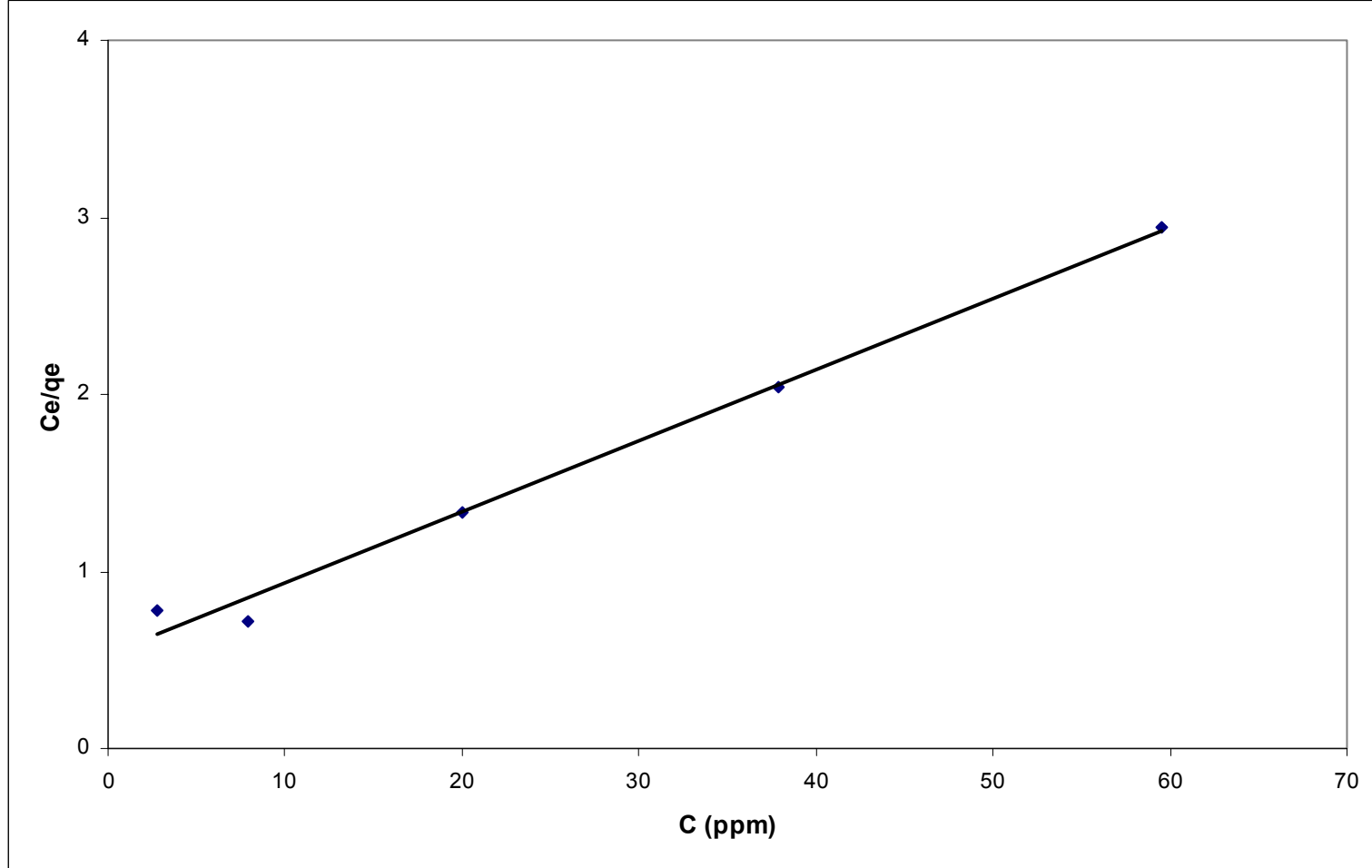
Şekil 6.23. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında tutunan ağır metal miktarları (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



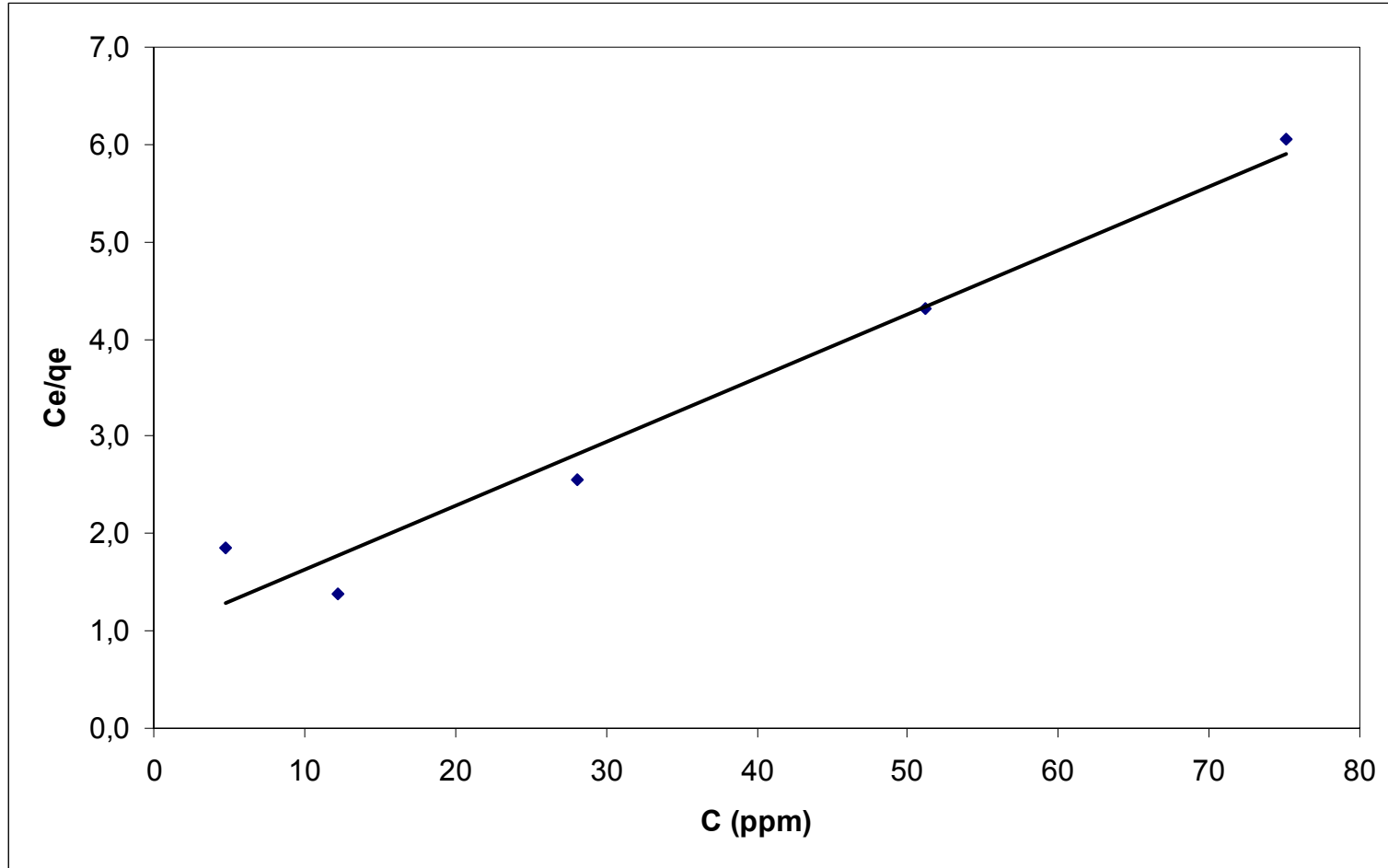
Şekil 6.24. Adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile farklı krom(III) konsantrasyonlarında tutunan ağır metal miktarları (T=30°C ve Karıştırma hızı=350rpm)



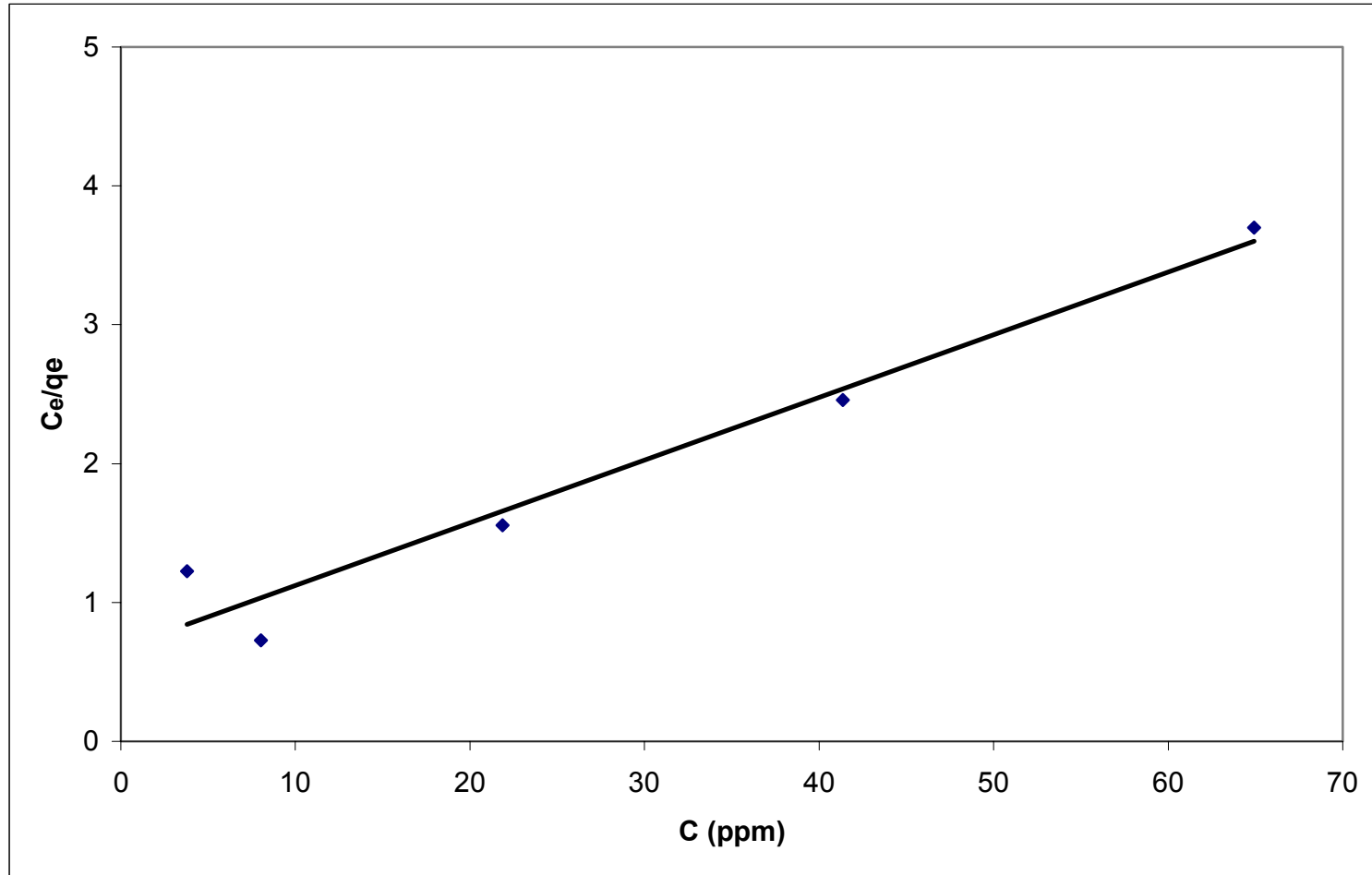
Şekil 6.25. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 4.5 ve T=20⁰C



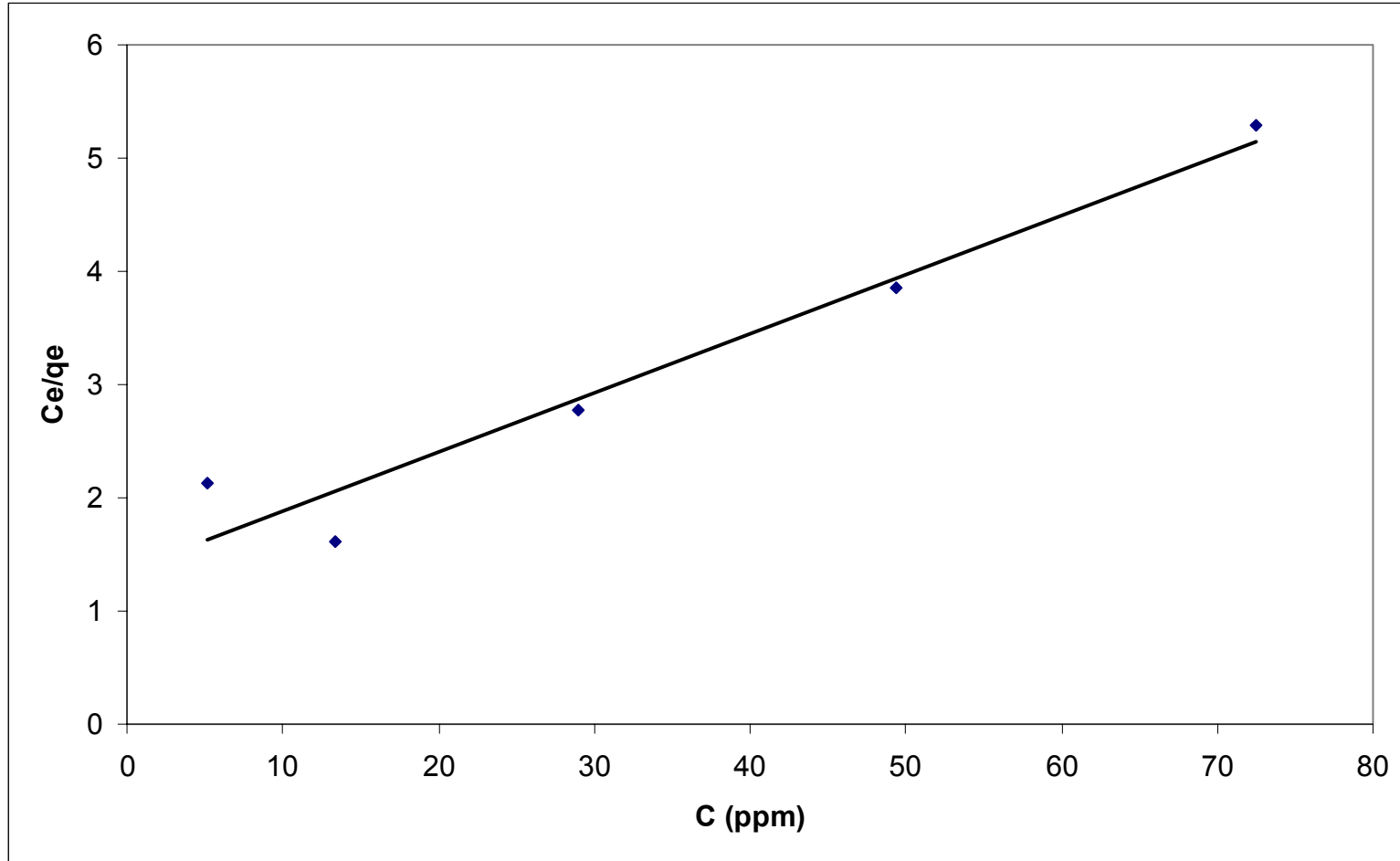
Şekil 6.26. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 3 ve T=20°C



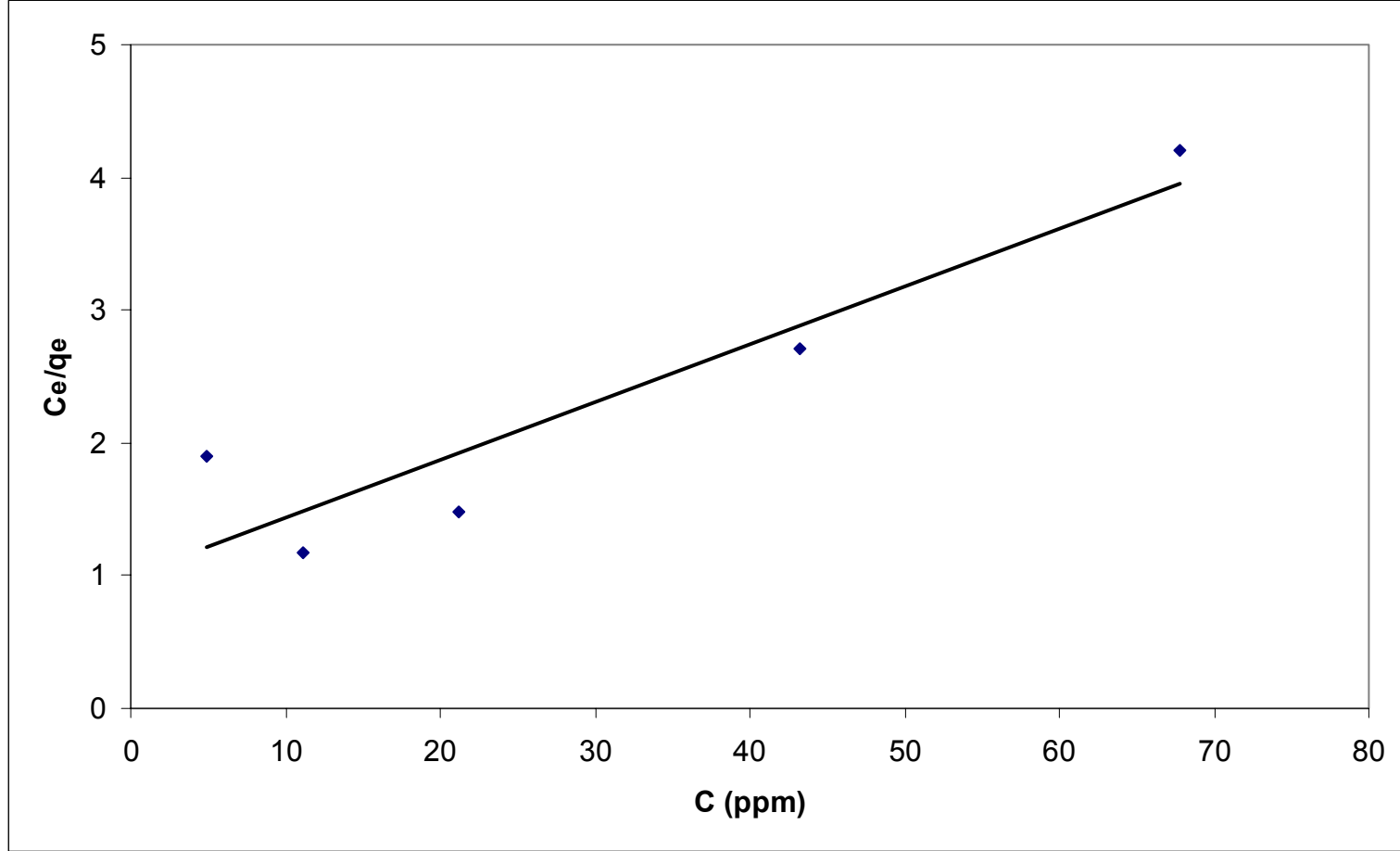
Şekil 6.27. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 4.5 ve T=35°C



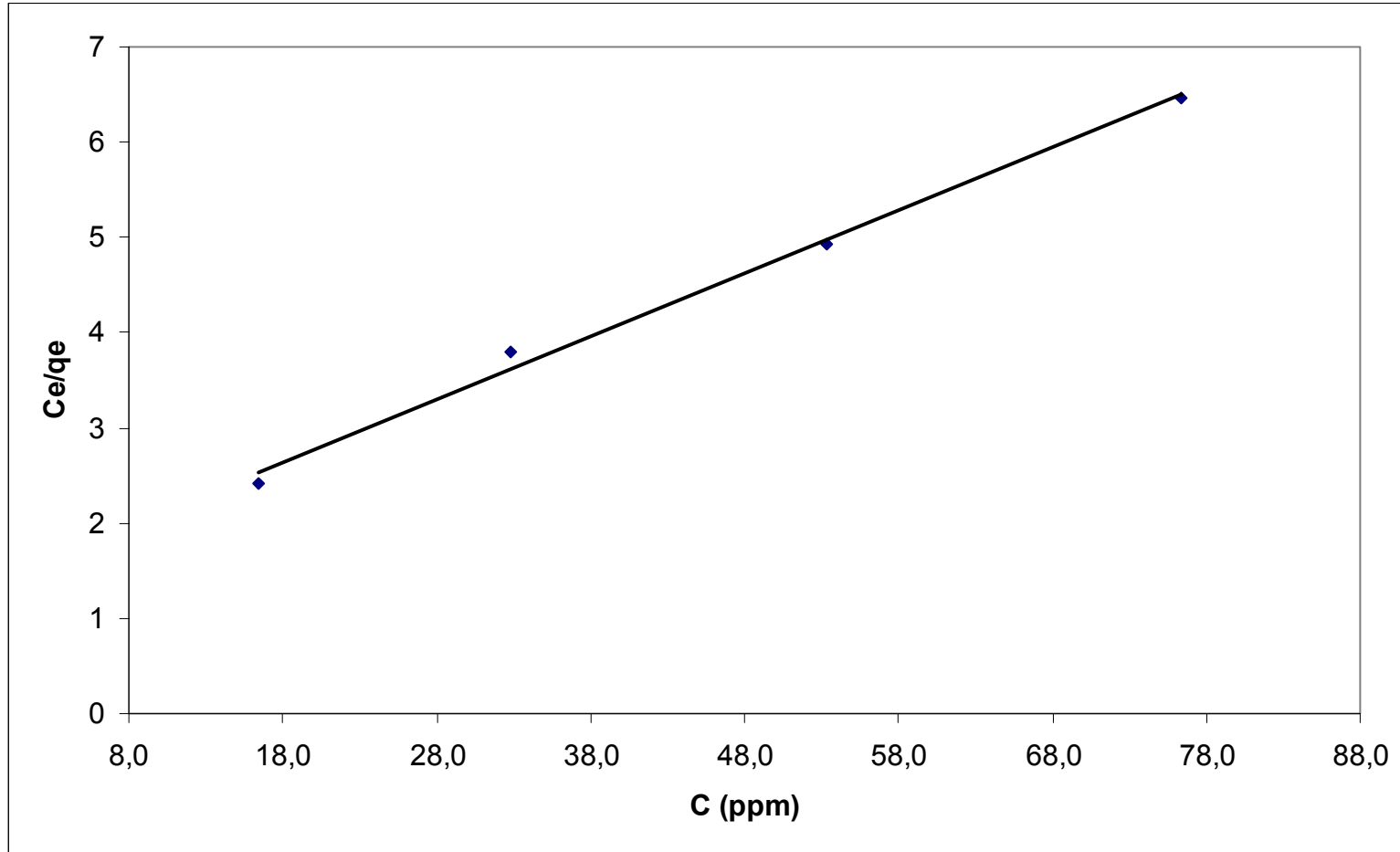
Şekil 6.28. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 3 ve T=35⁰C



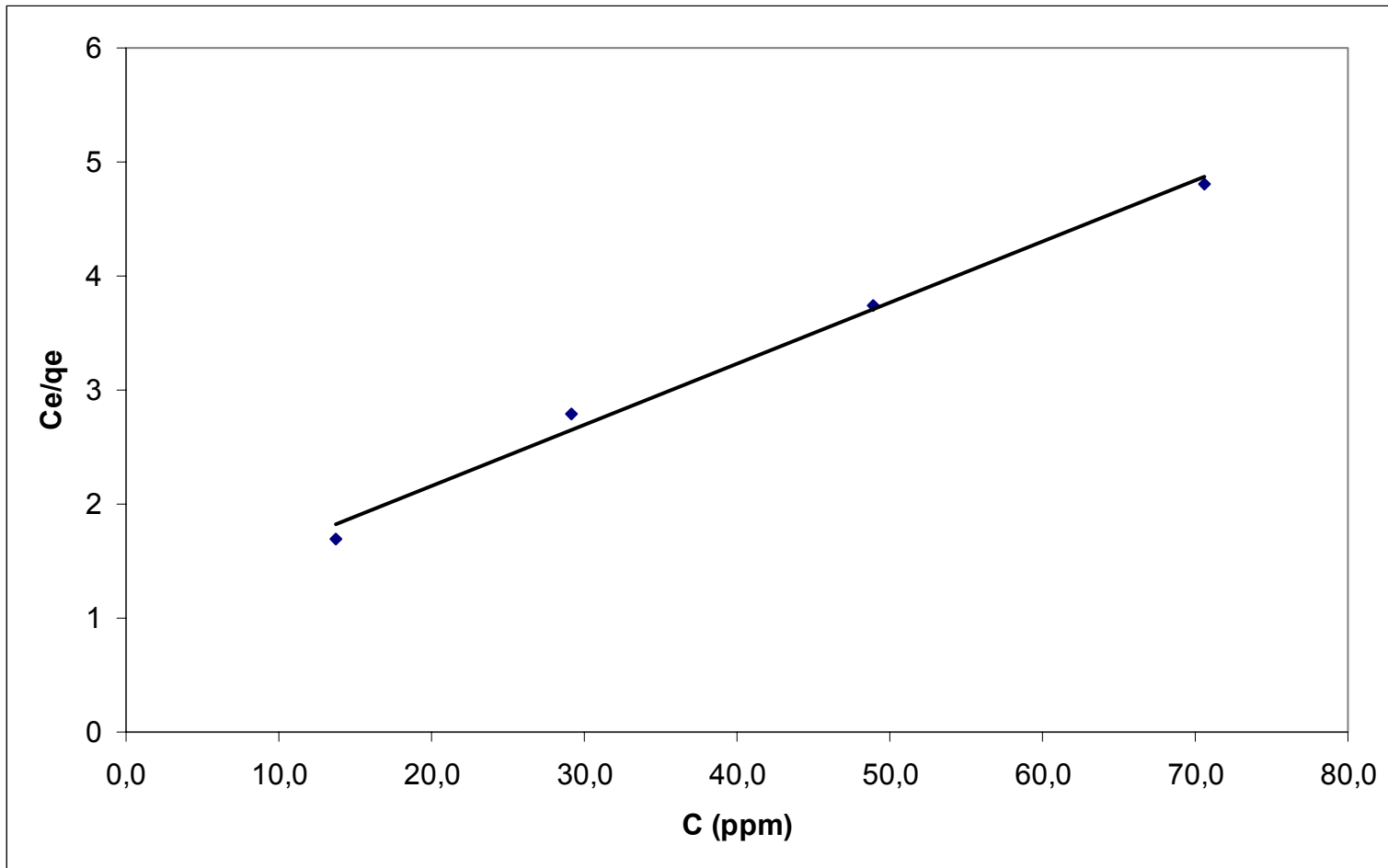
Şekil 6.29. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 4.5 ve T=20°C



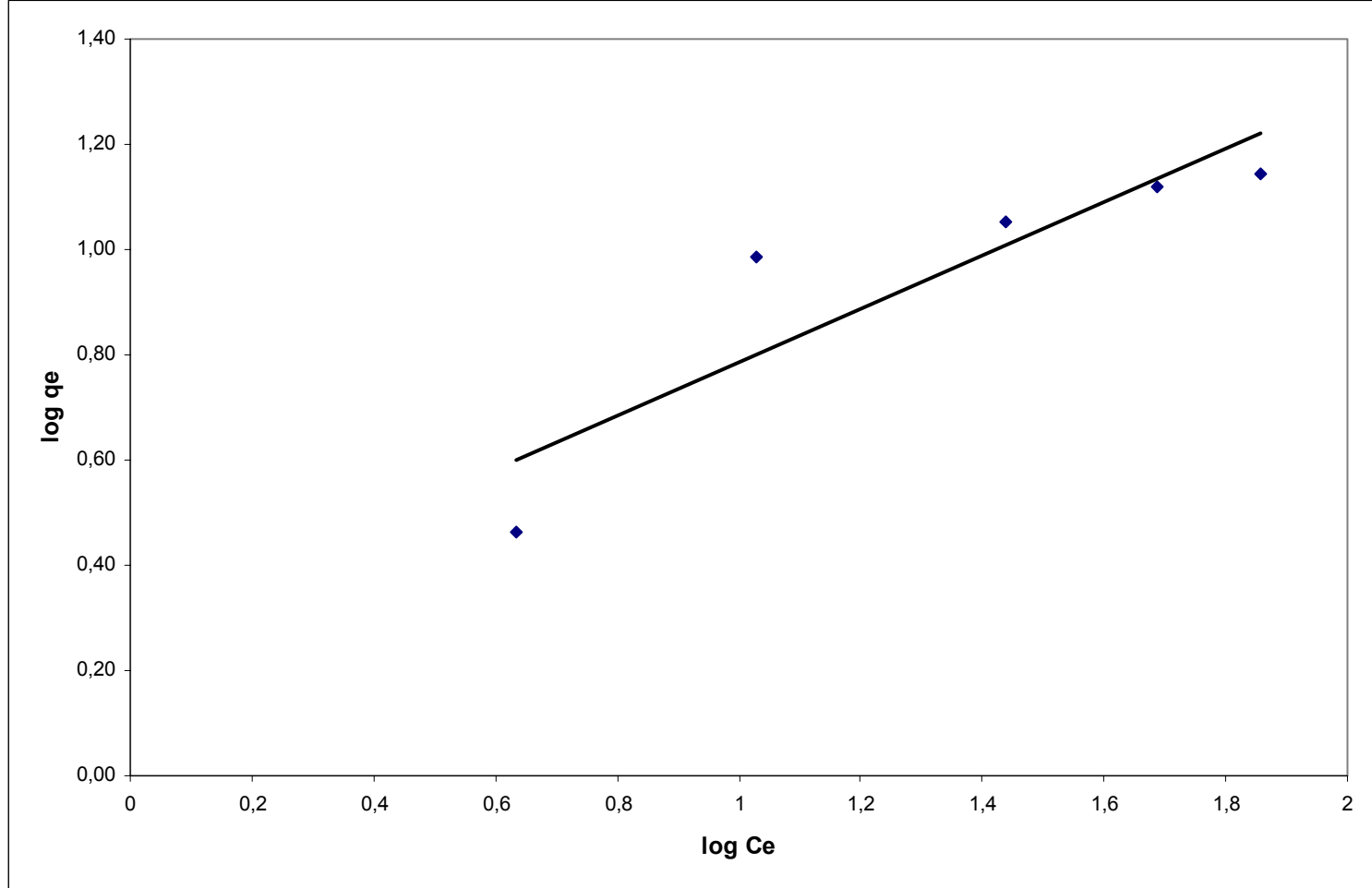
Şekil 6.30. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 3 ve T=20°C



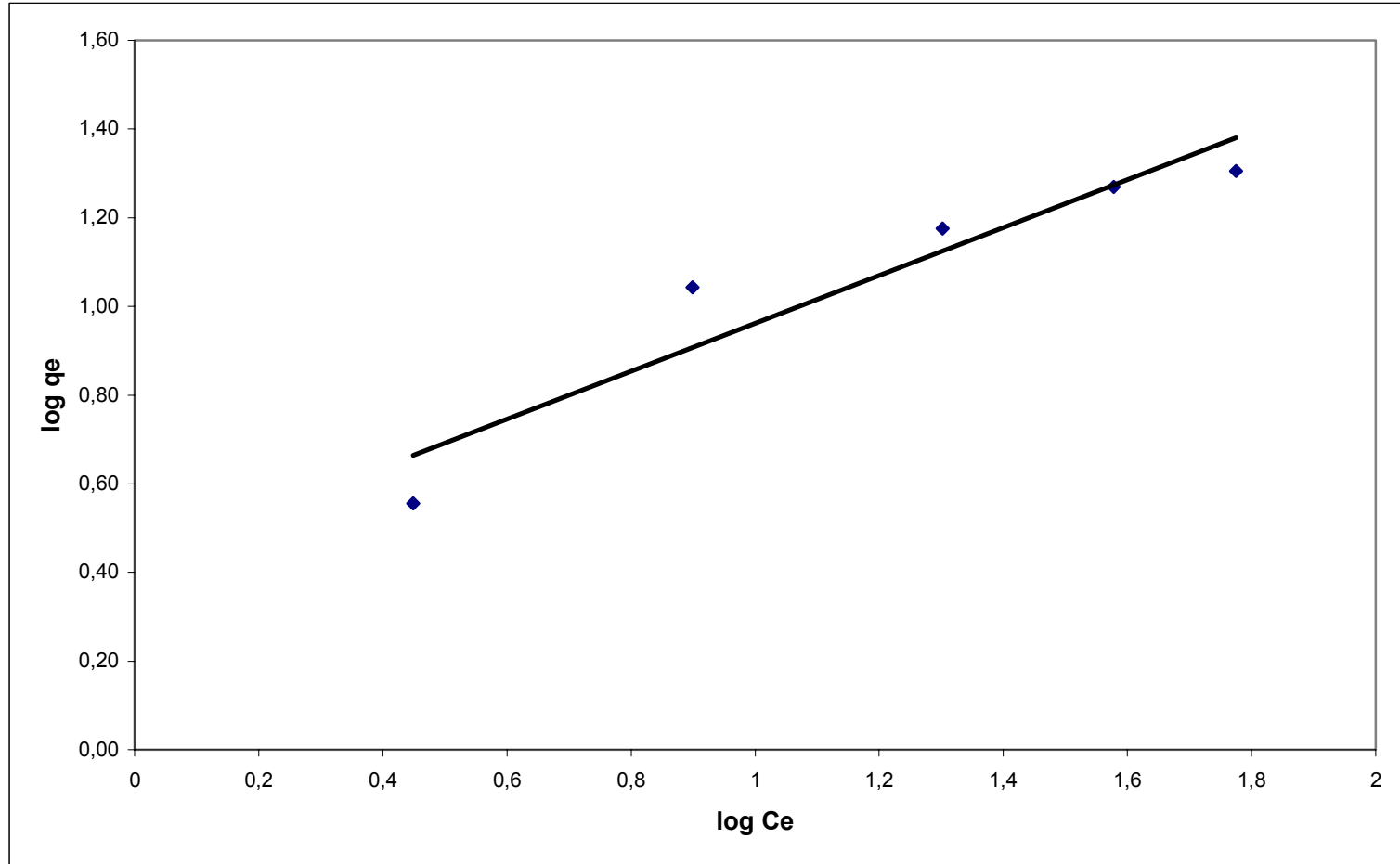
Şekil 6.31. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 4.5 ve T=35⁰C



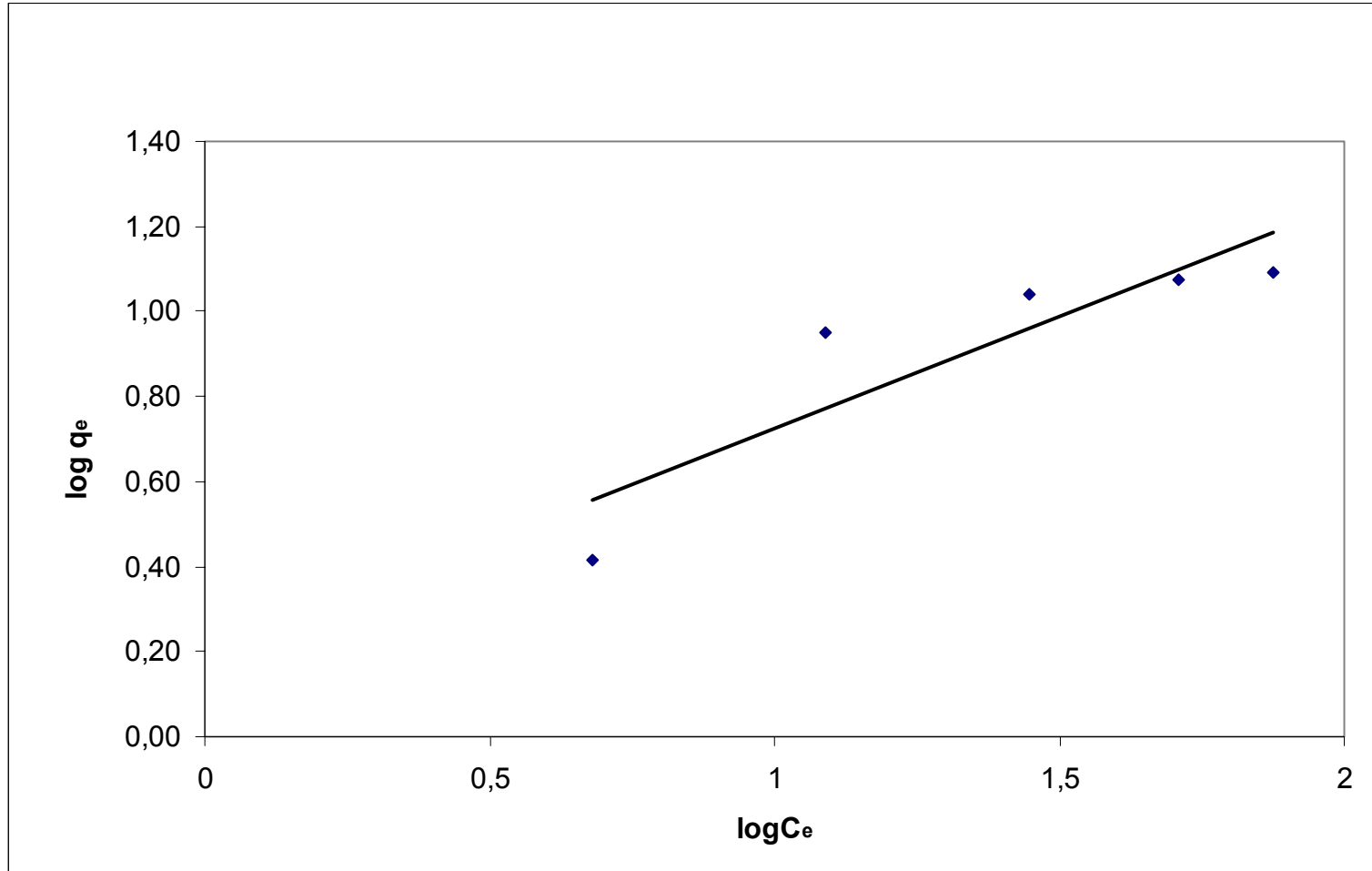
Şekil 6.32. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Langmuir İzotermi pH 3 ve T=35°C



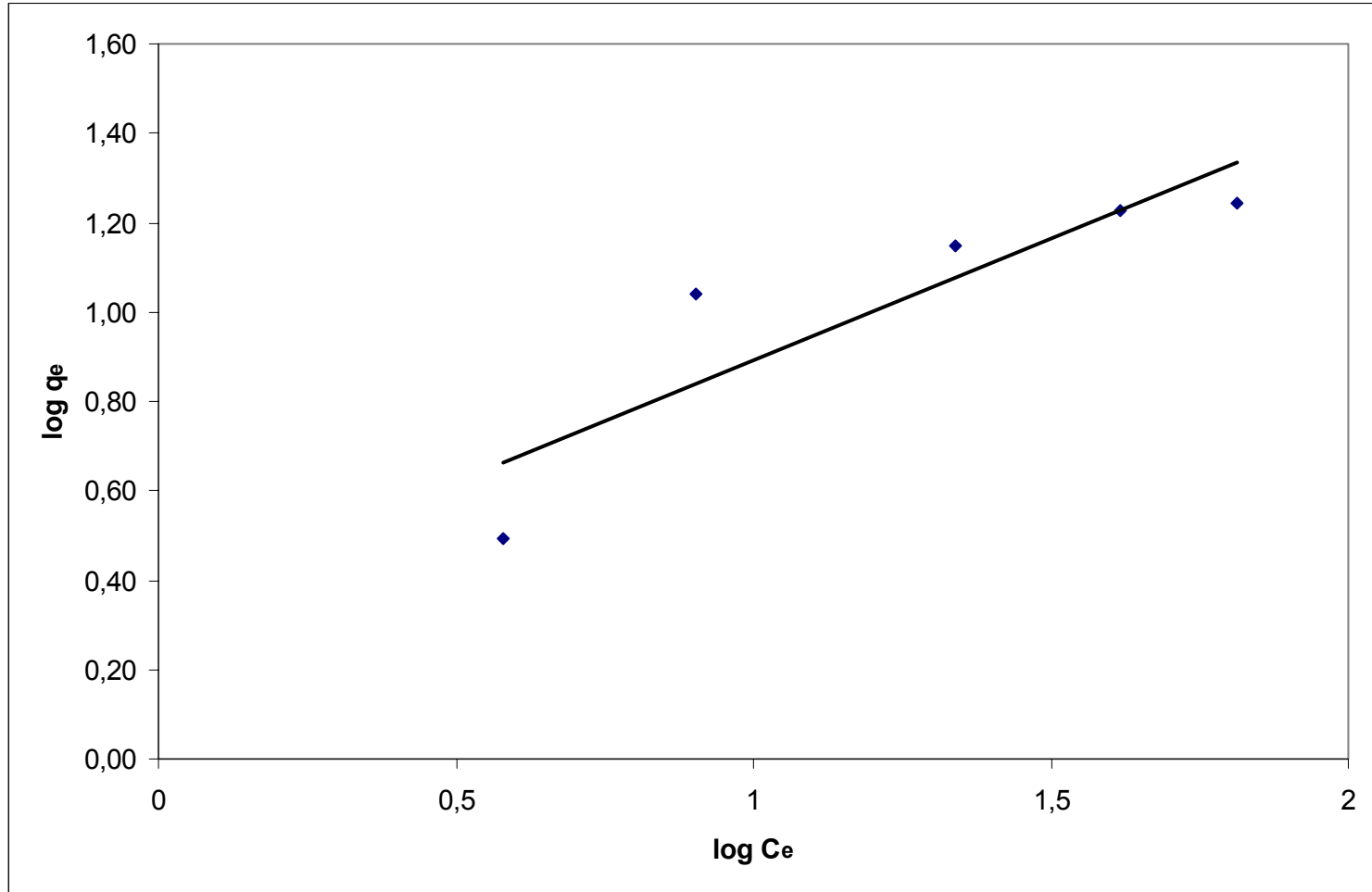
Şekil 6.33. Bakır(II) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 4,5 ve T=20⁰C



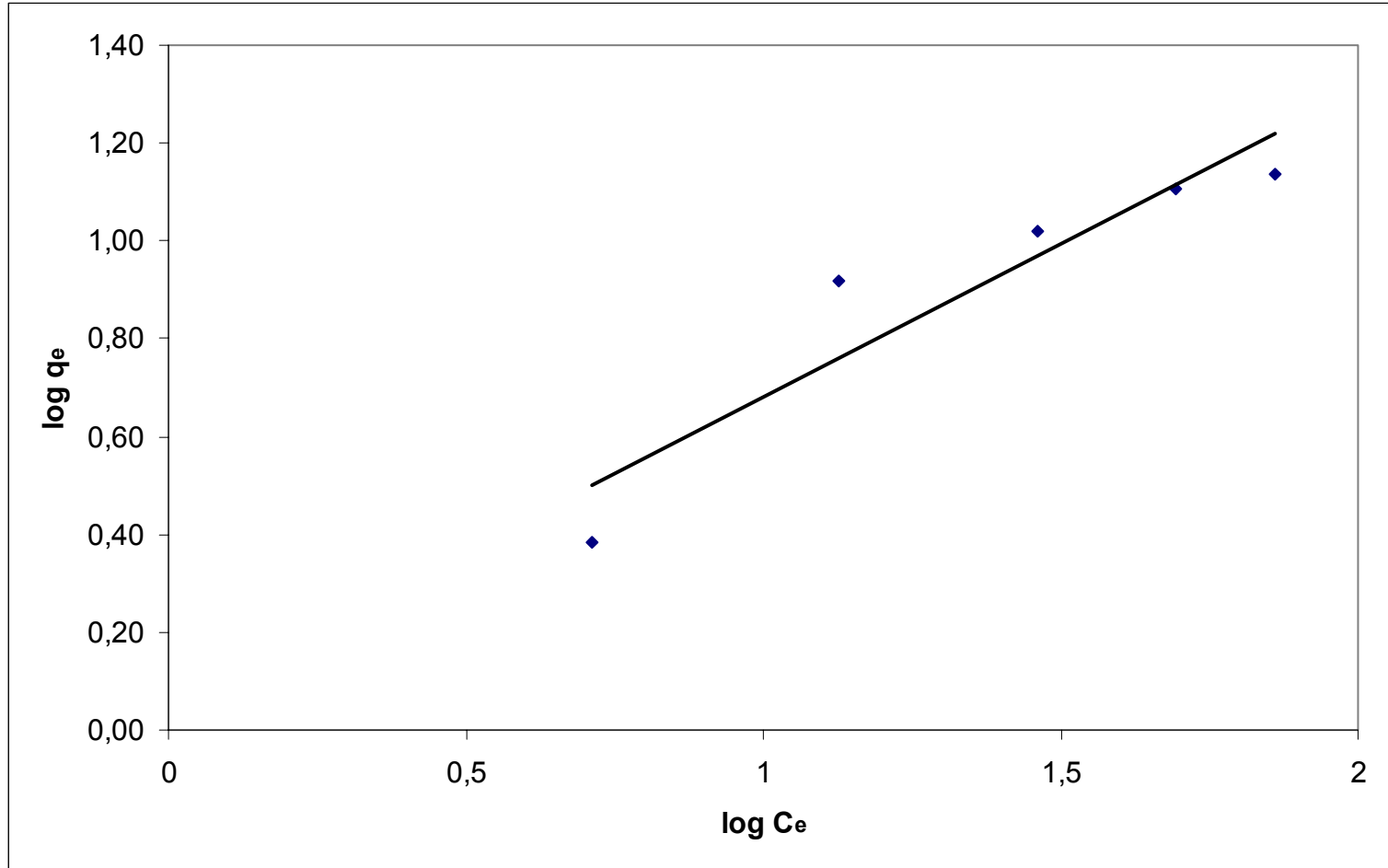
Şekil 6.34. Bakır(II) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 3 ve T=20⁰C



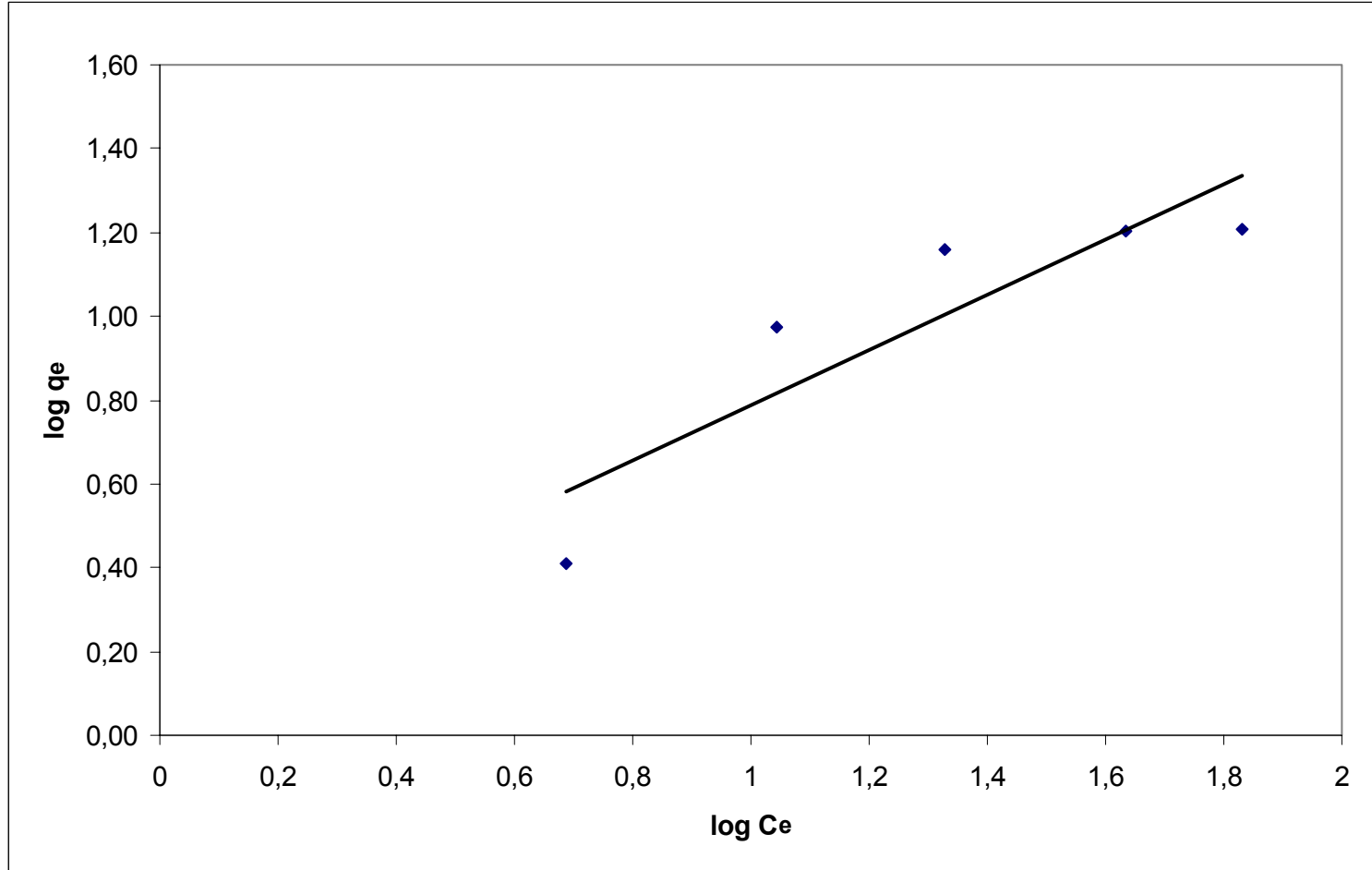
Şekil 6.35. Bakır(II) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 4,5 ve T=35⁰C



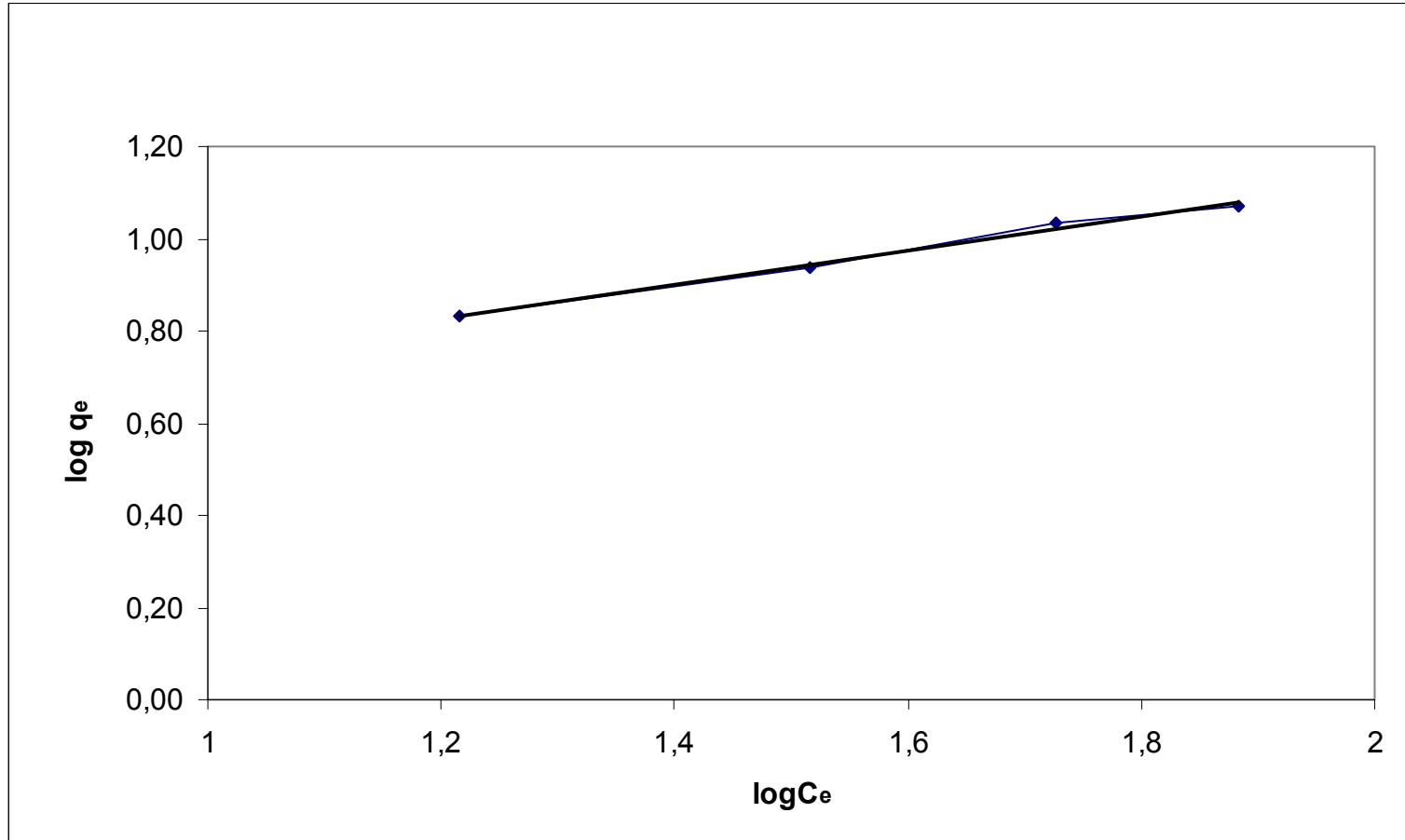
Şekil 6.36. Bakır(II) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 3 ve T=35⁰C



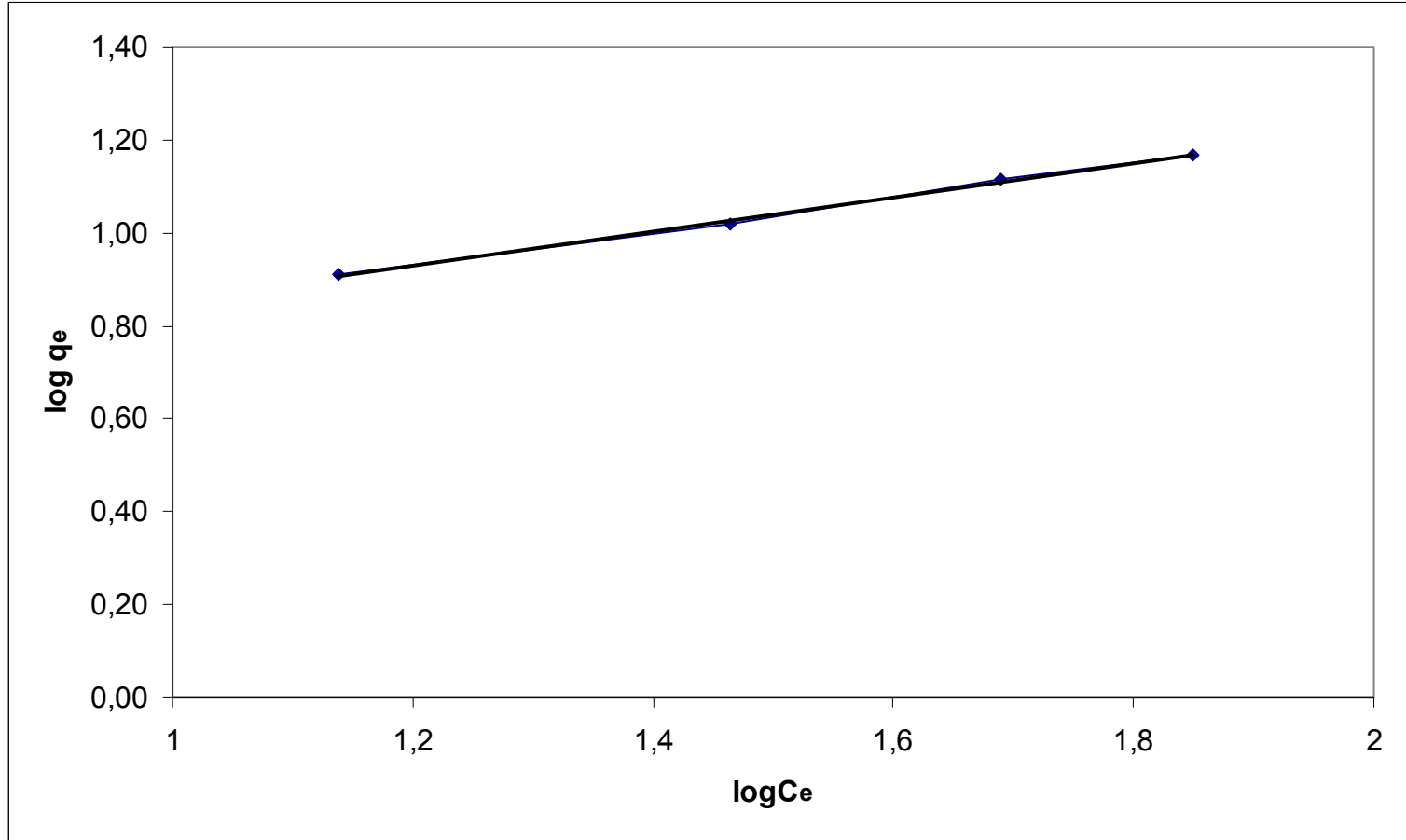
Şekil 6.37. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 4,5 ve T=20⁰C



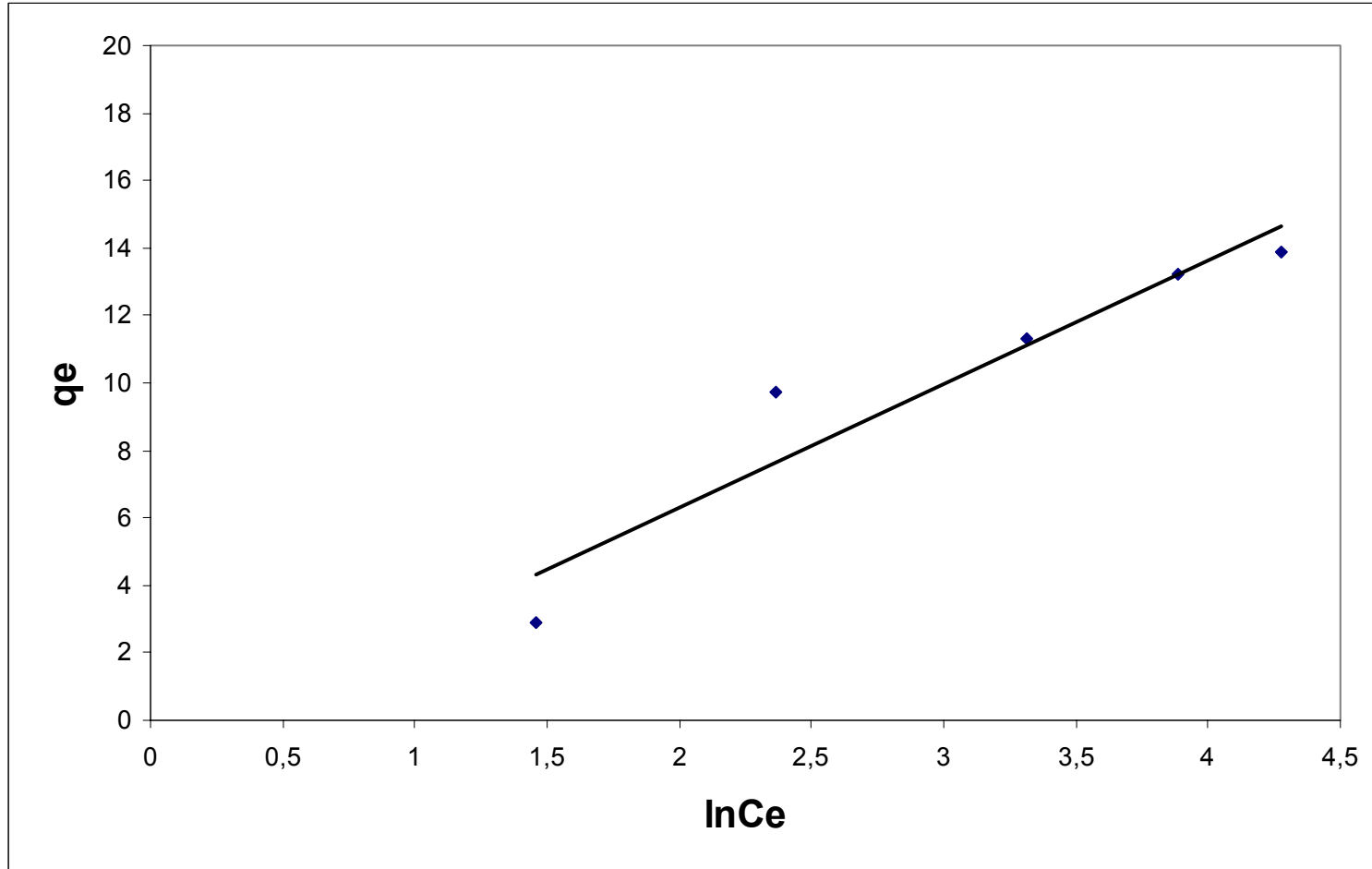
Şekil 6.38. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 3 ve T=20°C



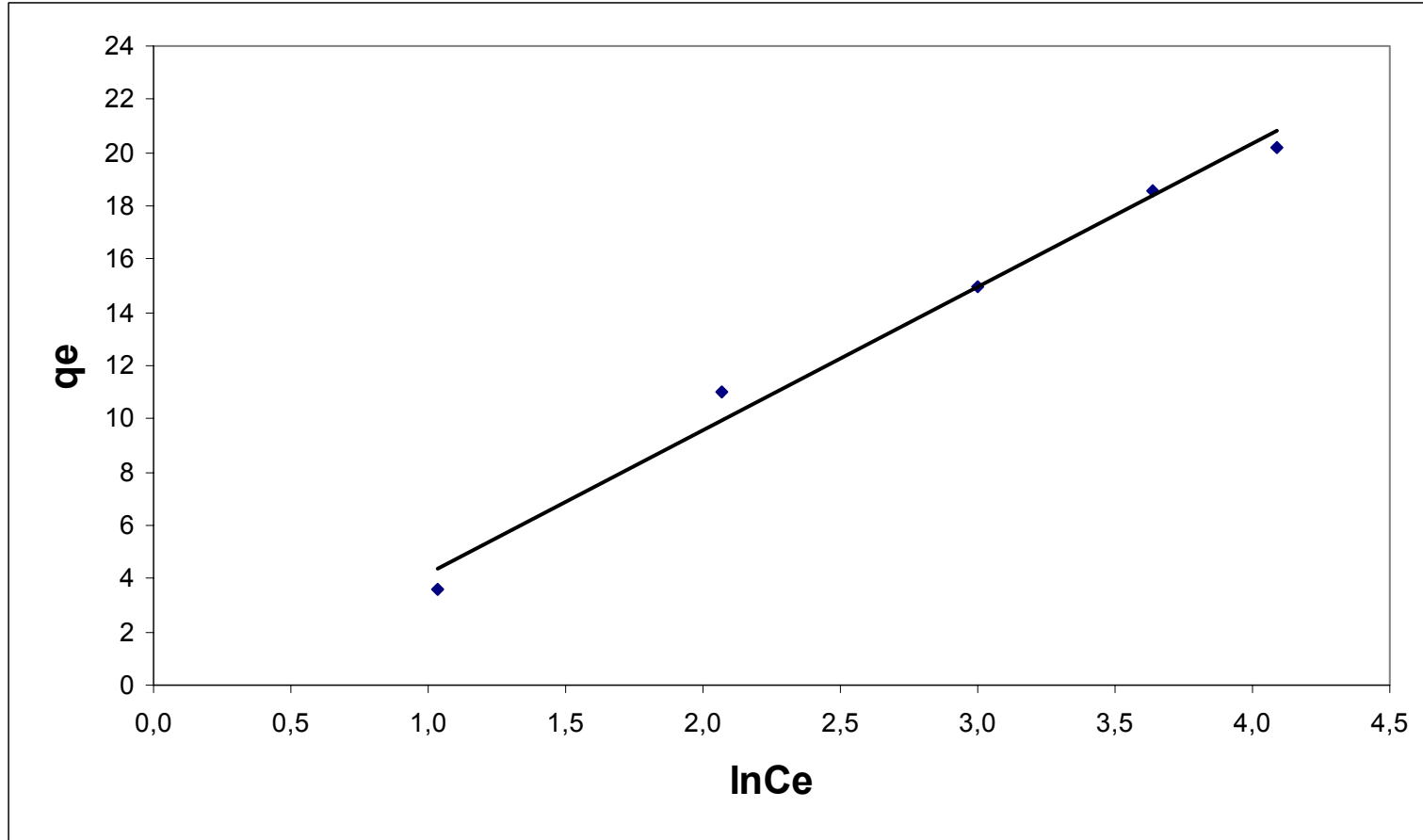
Şekil 6.39. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 4,5 ve T=35⁰C



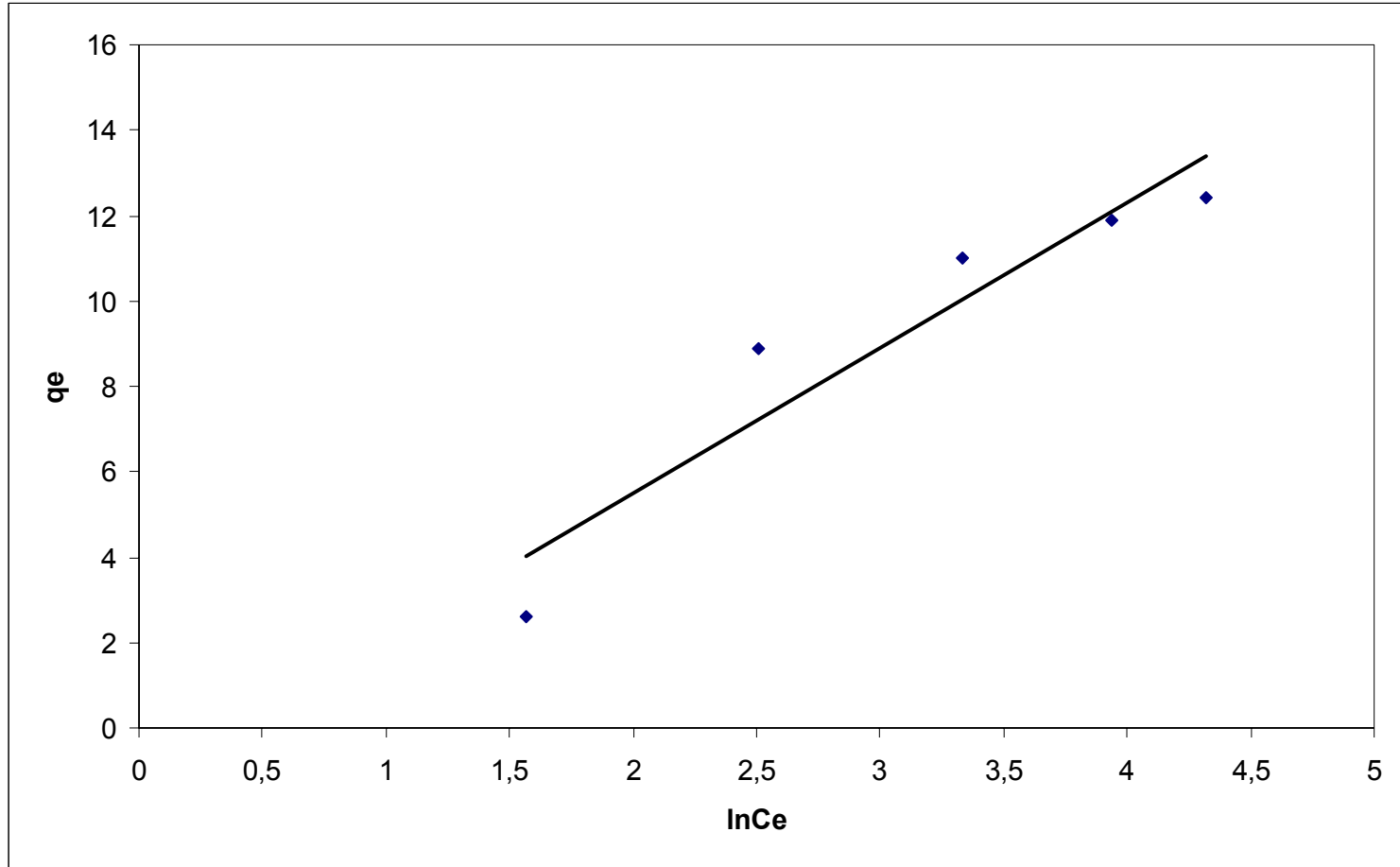
Şekil 6.40. Krom(III) un *Pichia stipitis* üzerindeki Freundlich İzotermi pH 3 ve T=35⁰C



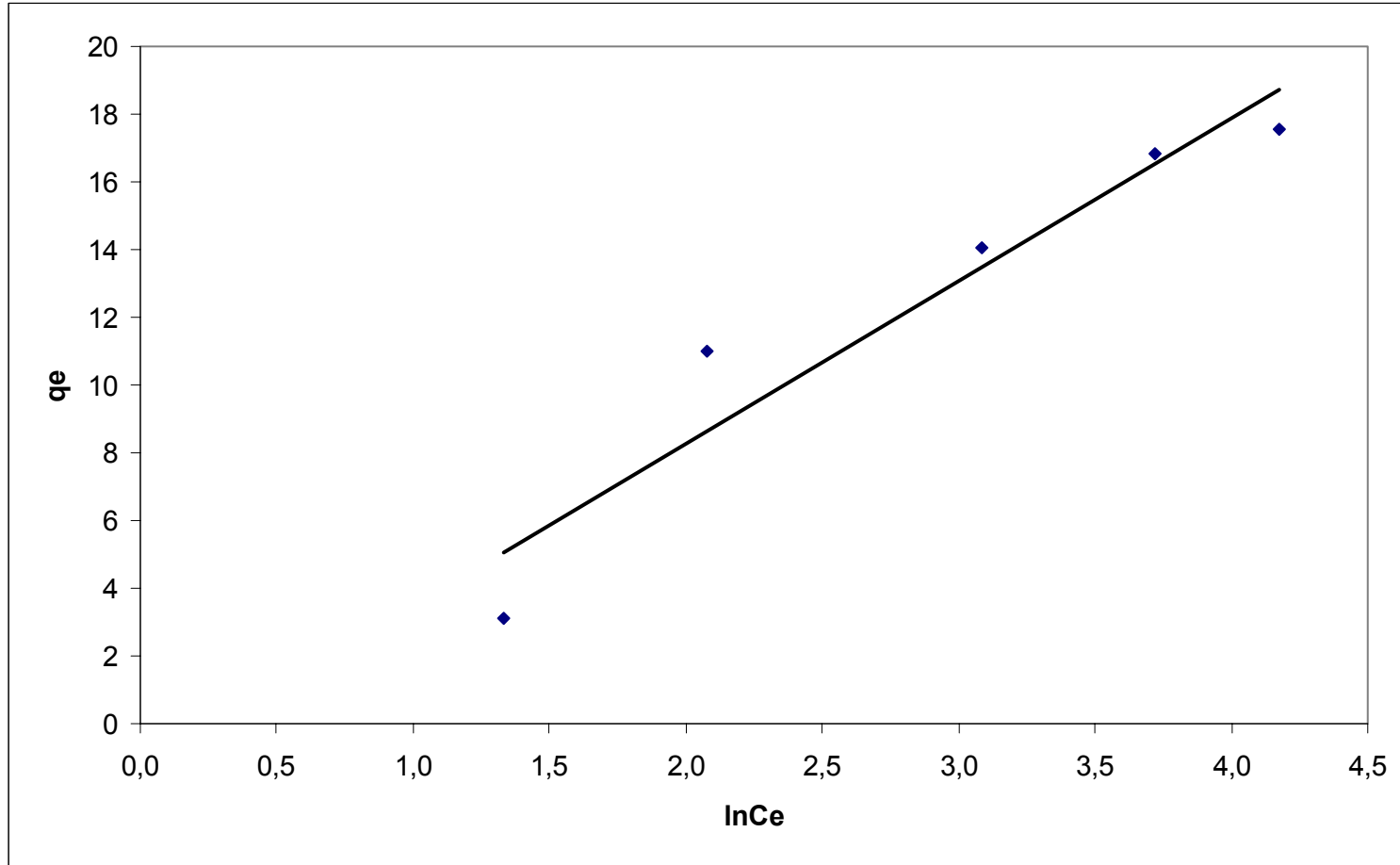
Şekil 6.41. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 4.5 ve T=20°C



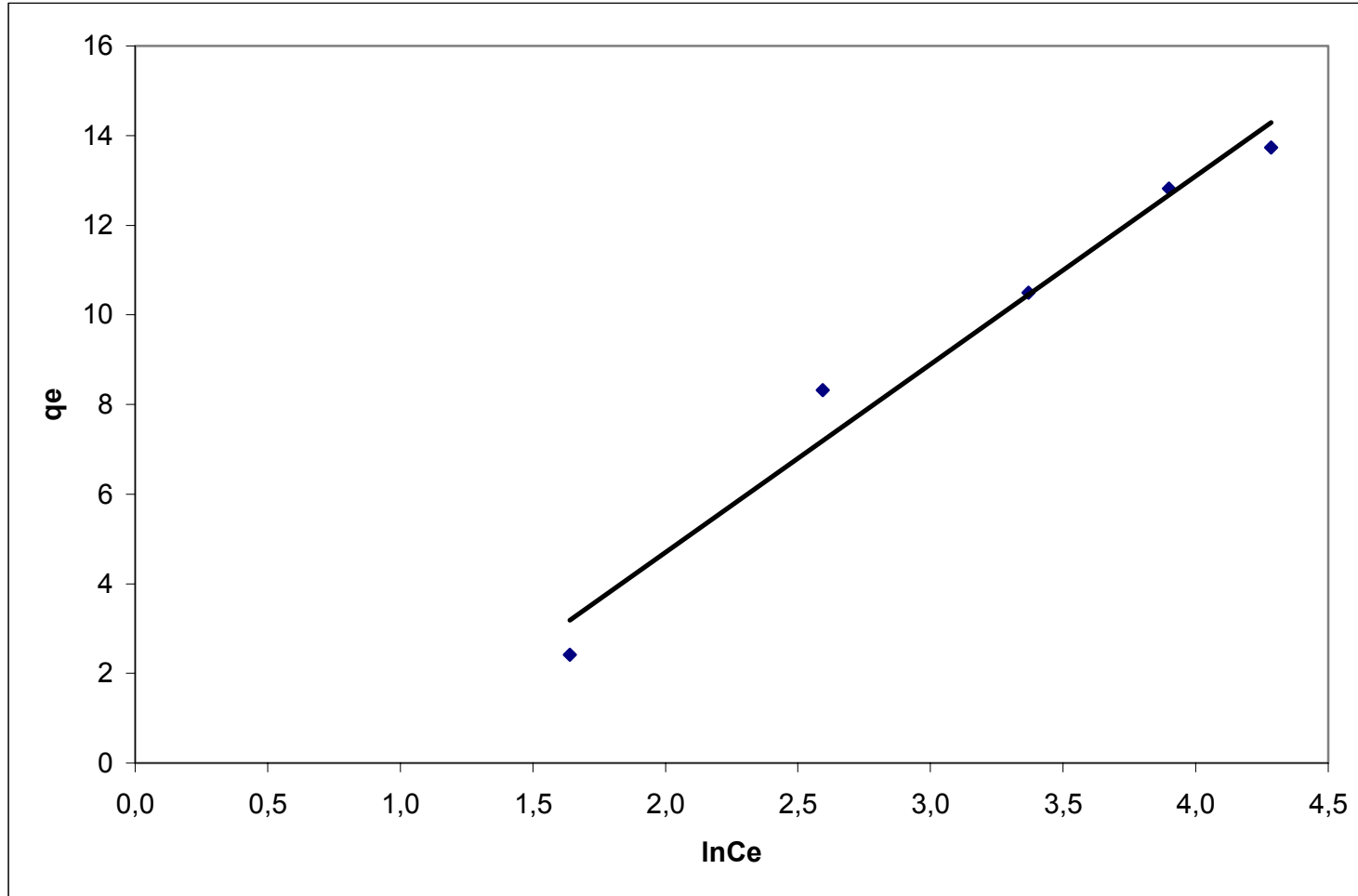
Şekil 6.42. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 3 ve T=20⁰C



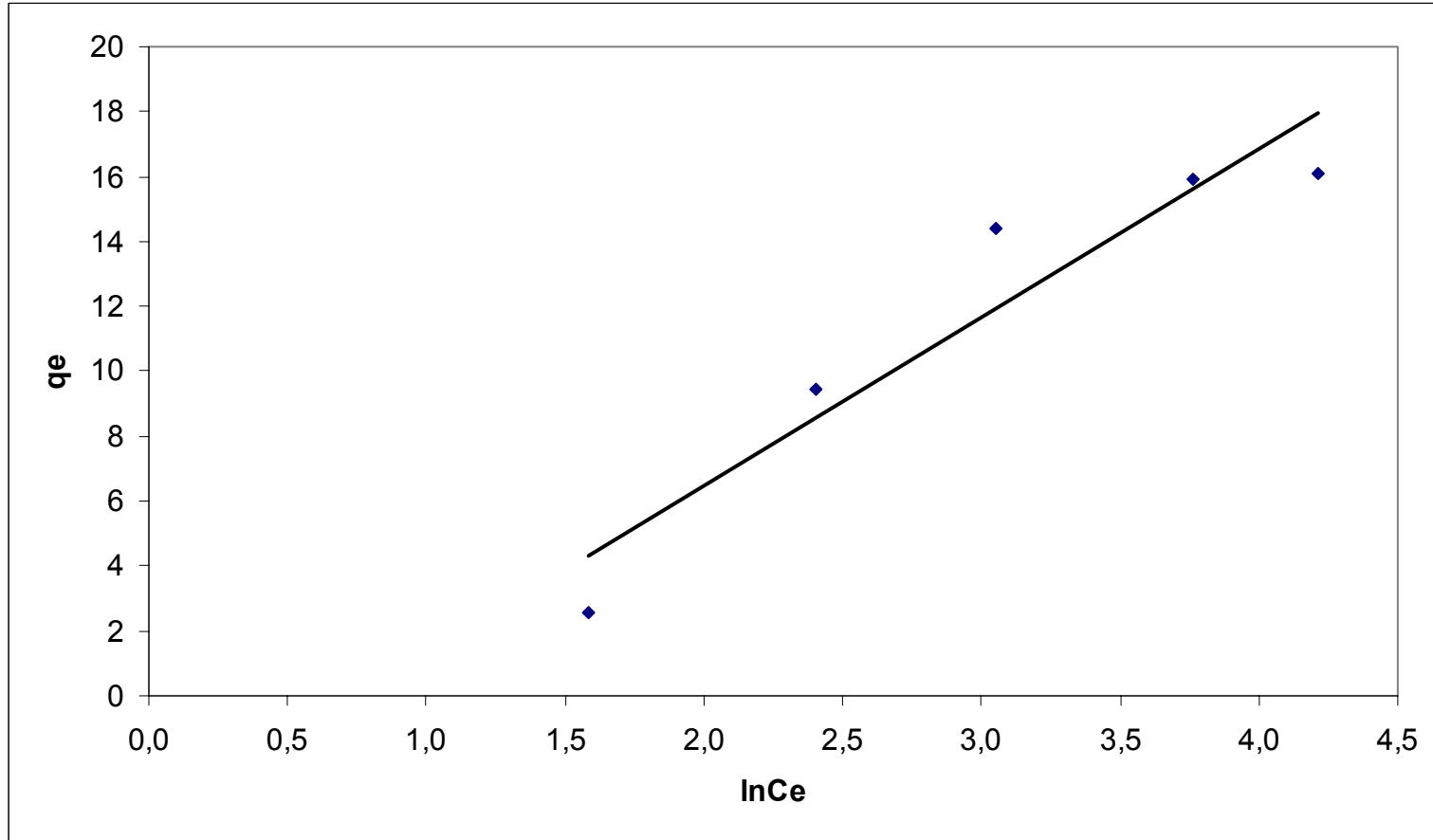
Şekil 6.43. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 4.5 ve T=35⁰C



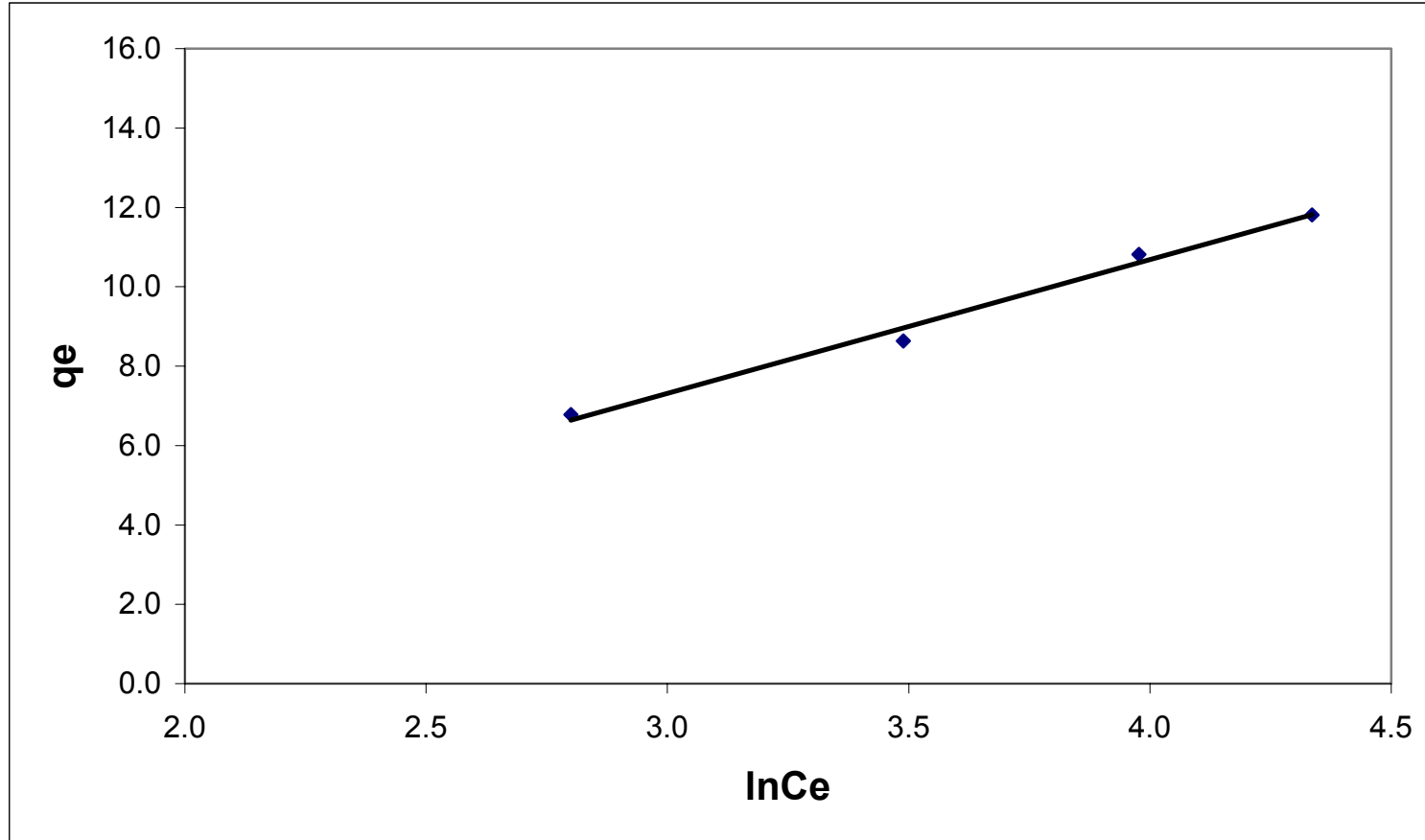
Şekil 6.44. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 3 ve T=35⁰C



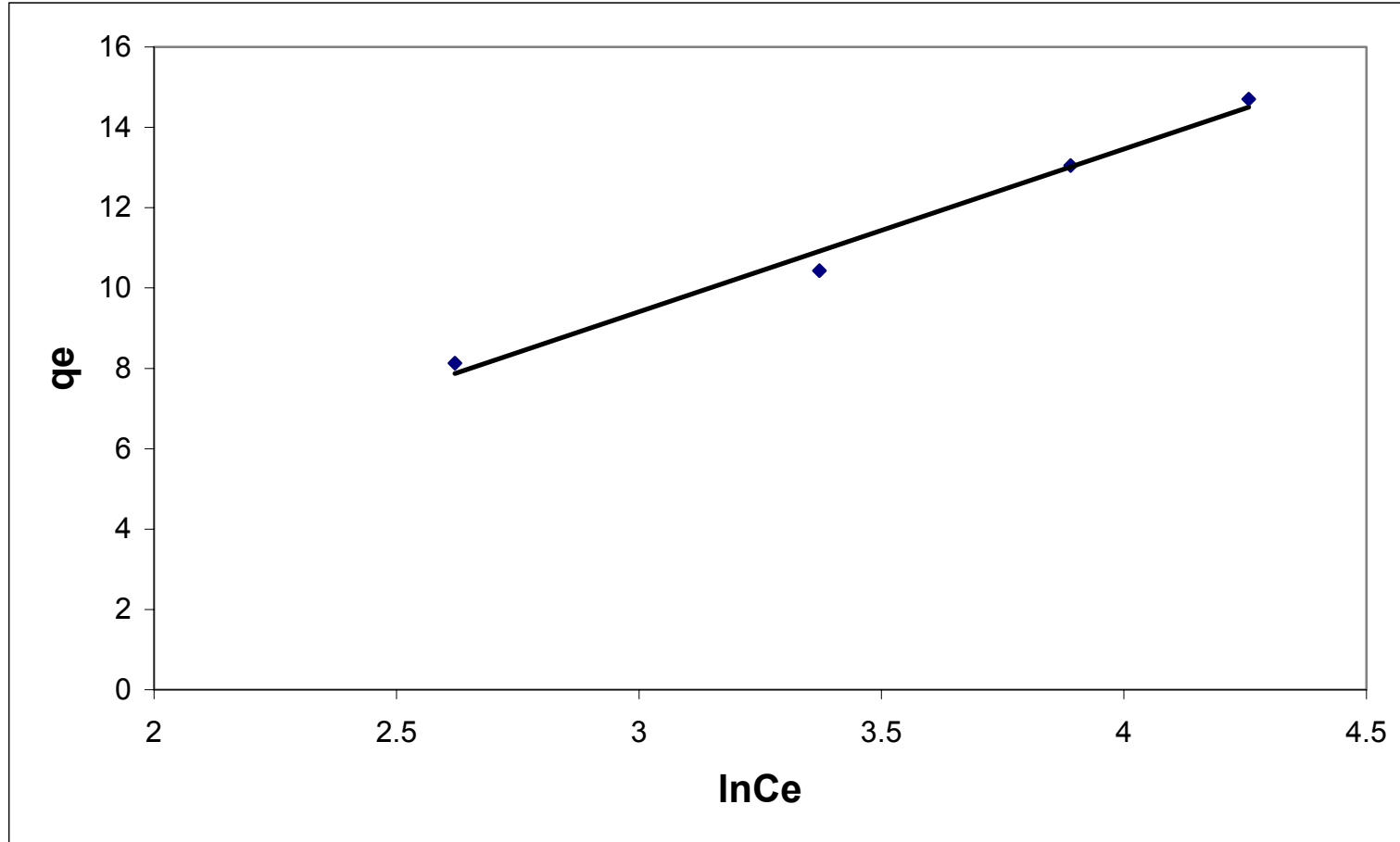
Şekil 6.45. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 4.5 ve T=20°C



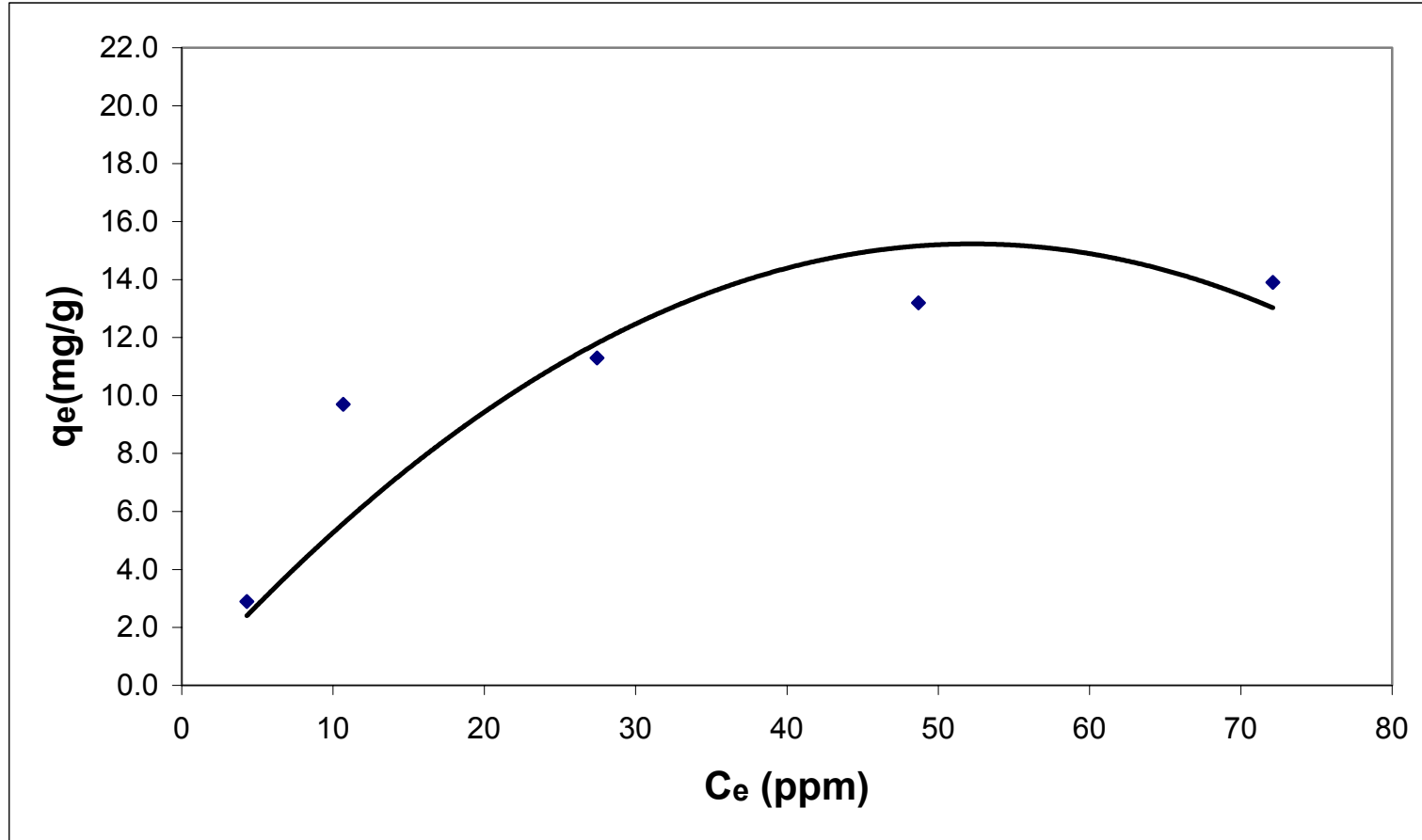
Şekil 6.46. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 3 ve T=20°C



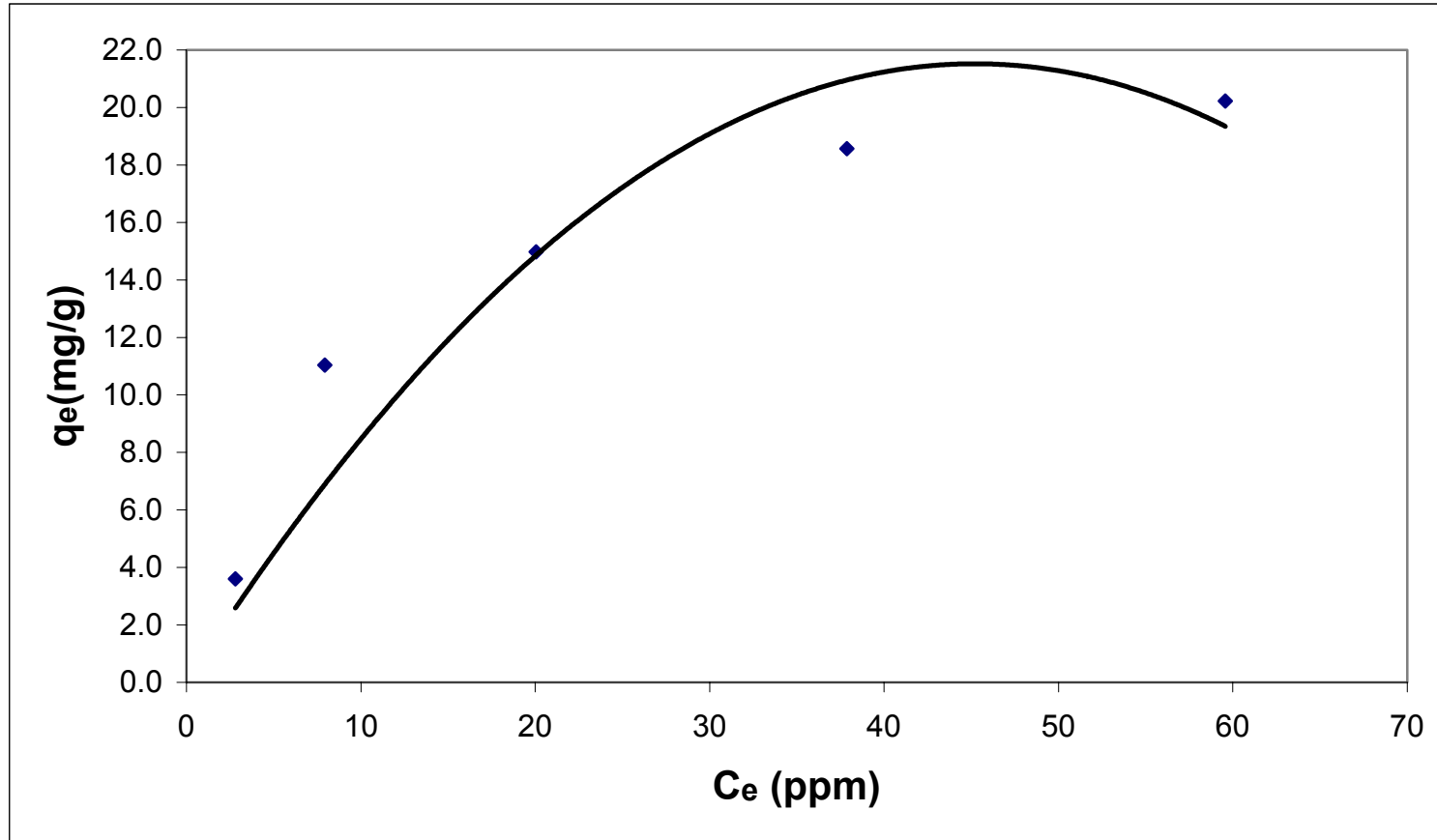
Şekil 6.47. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 4.5 ve T=35⁰C



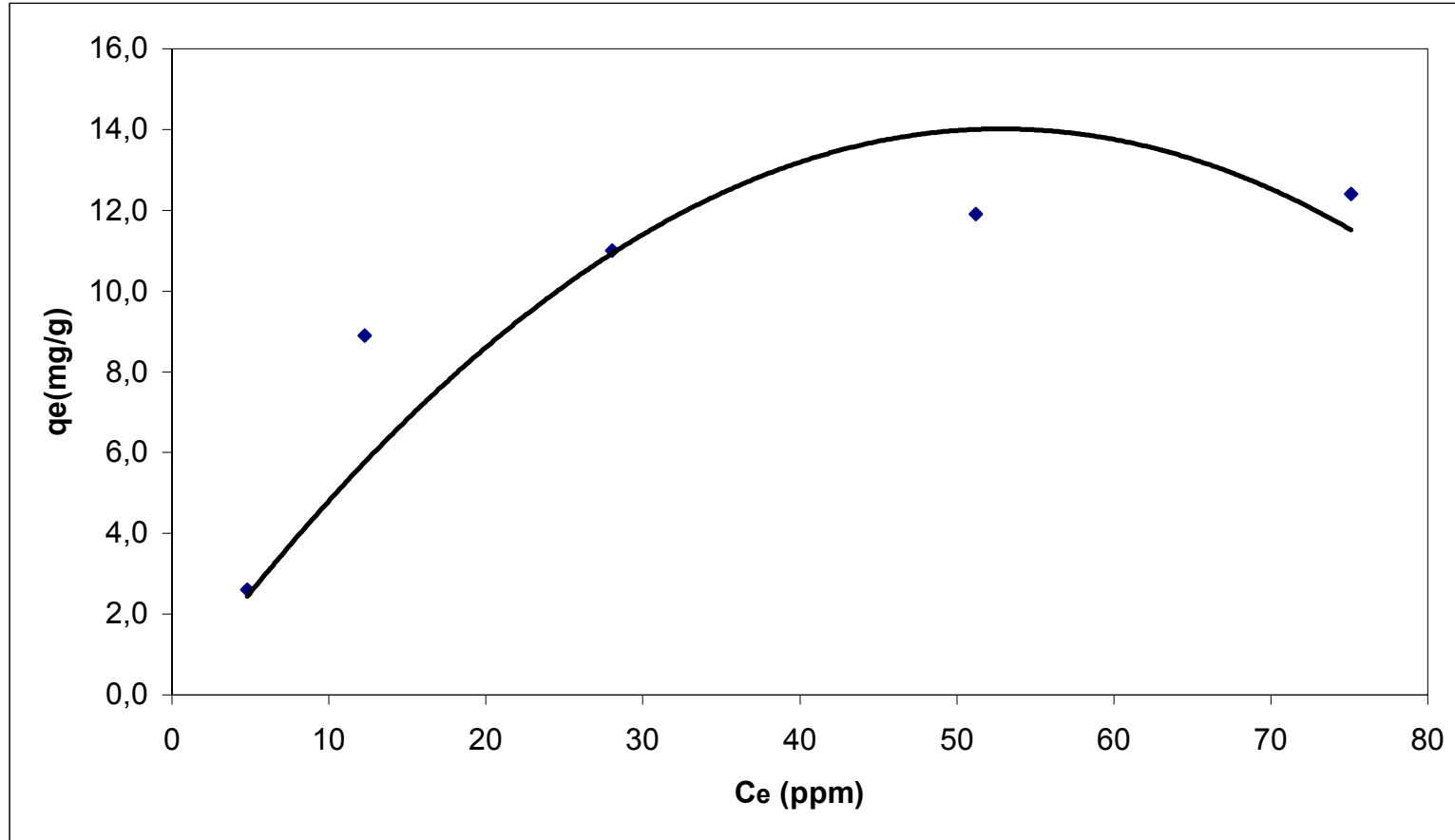
Şekil 6.48. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Tempkin İzotermi pH 3 ve T=35⁰C



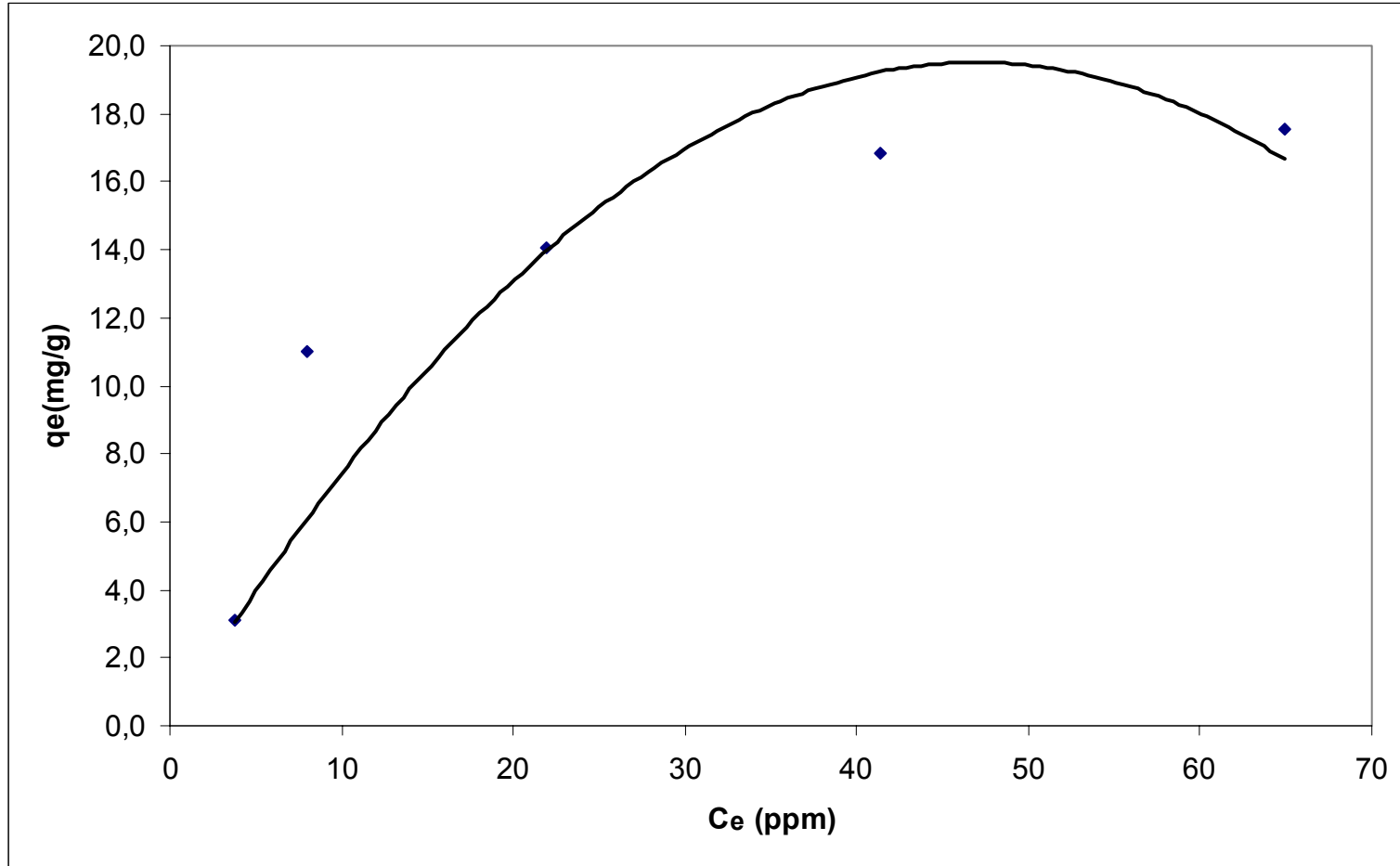
Şekil 6.49. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 4.5 ve $T=20^{\circ}\text{C}$



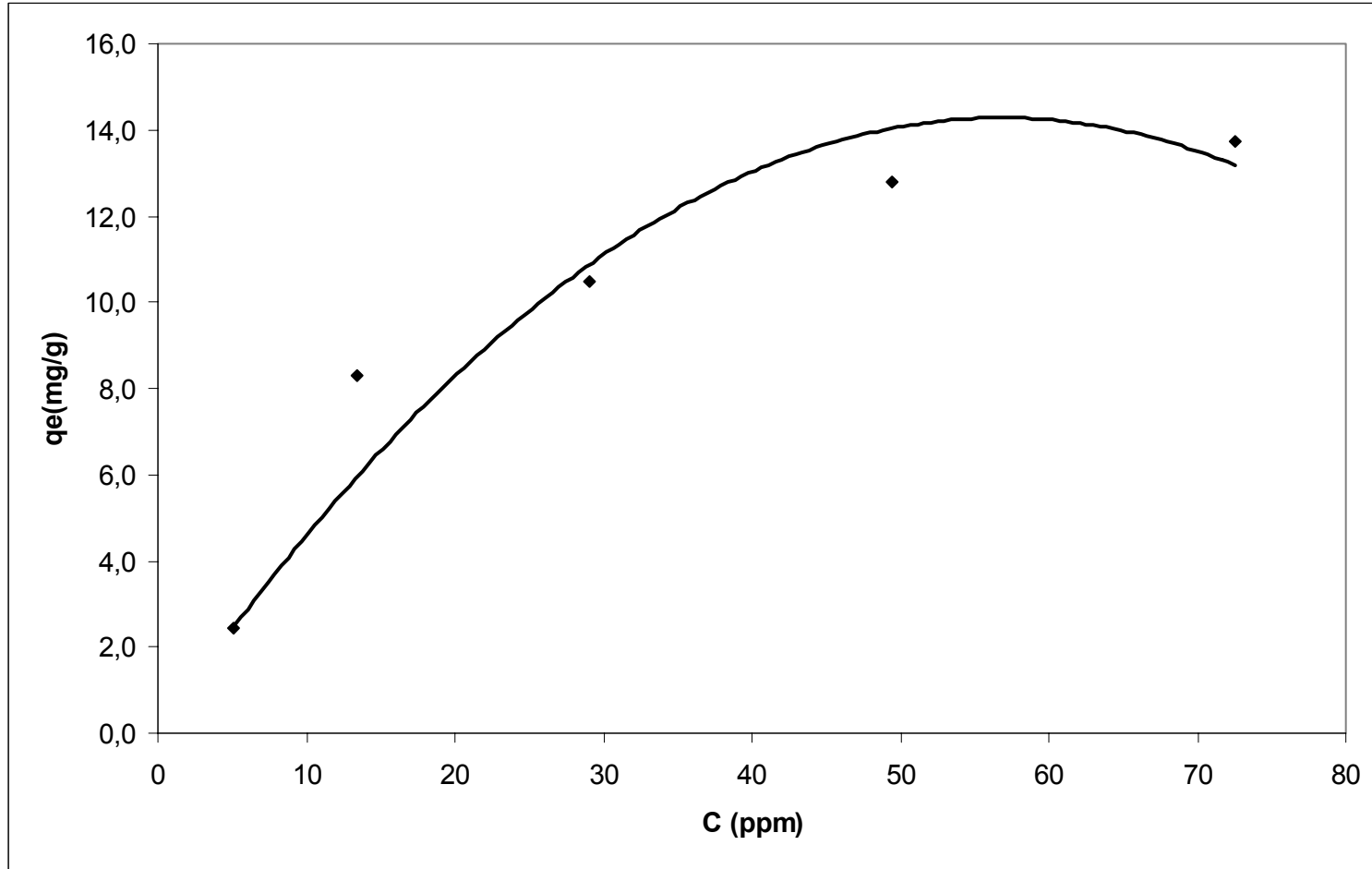
Şekil 6.50. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 3 ve $T=20^{\circ}\text{C}$



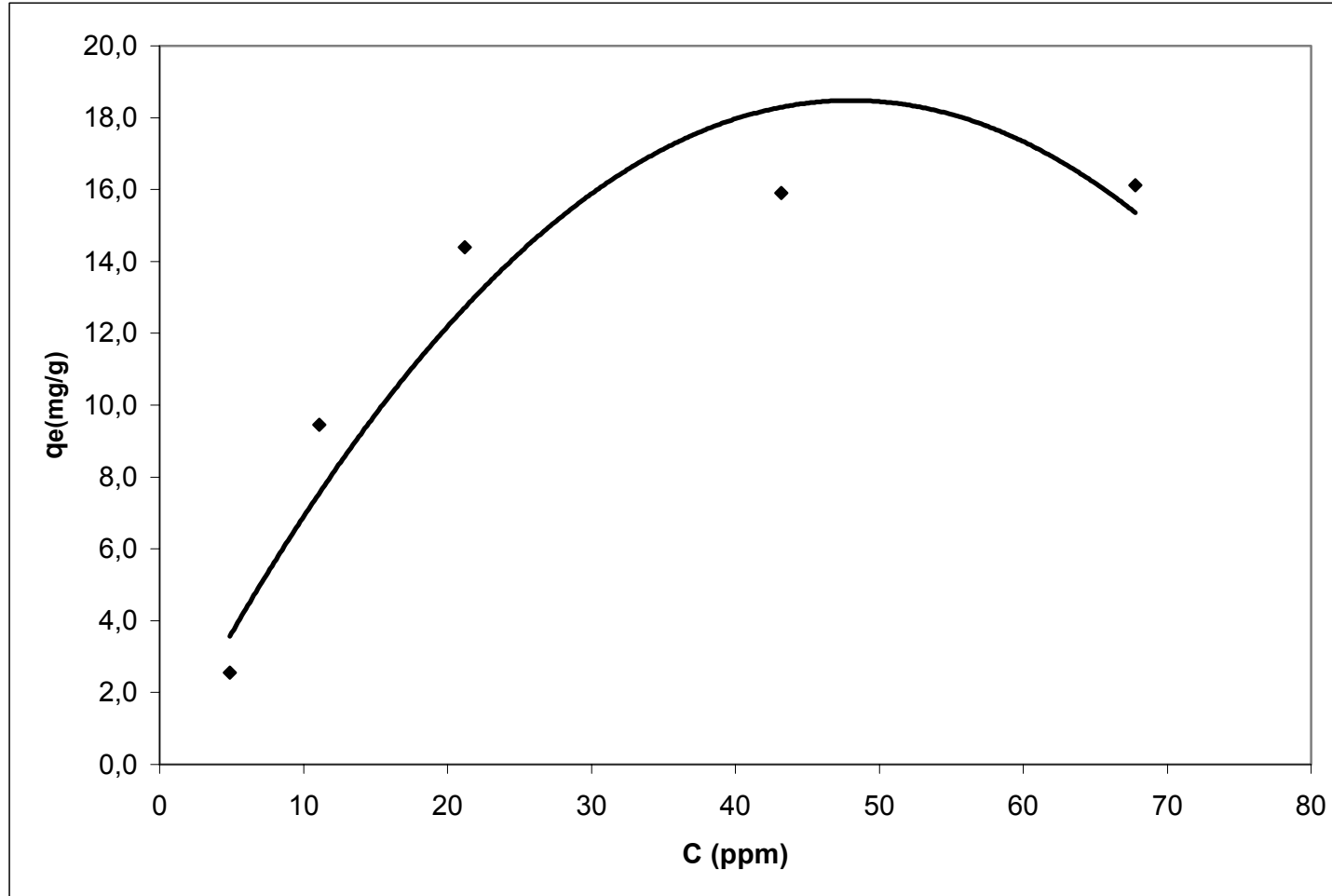
Şekil 6.51. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 4.5 ve $T=35^{\circ}\text{C}$



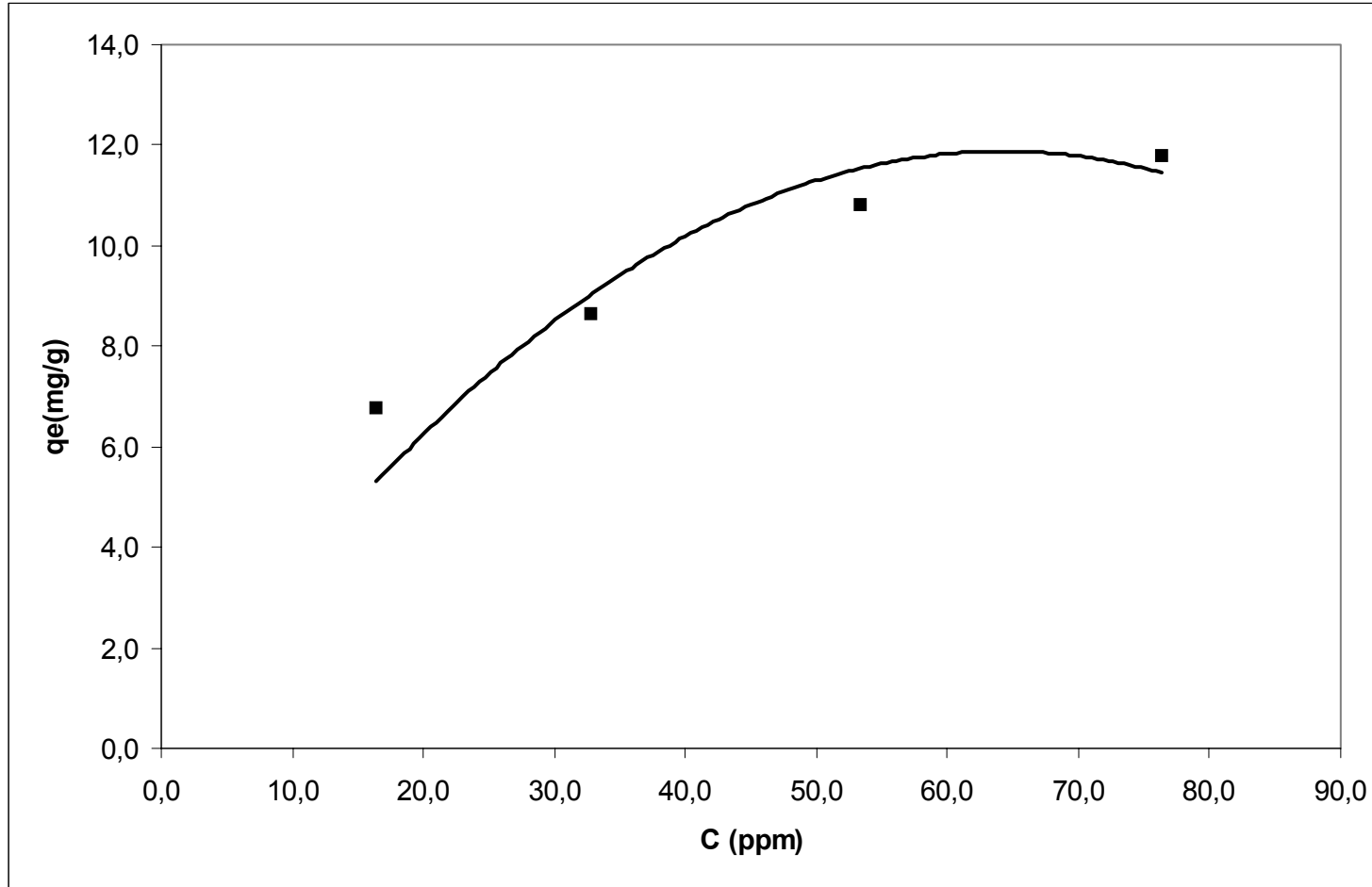
Şekil 6.52. Bakır(II) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 3 ve $T=35^{\circ}\text{C}$



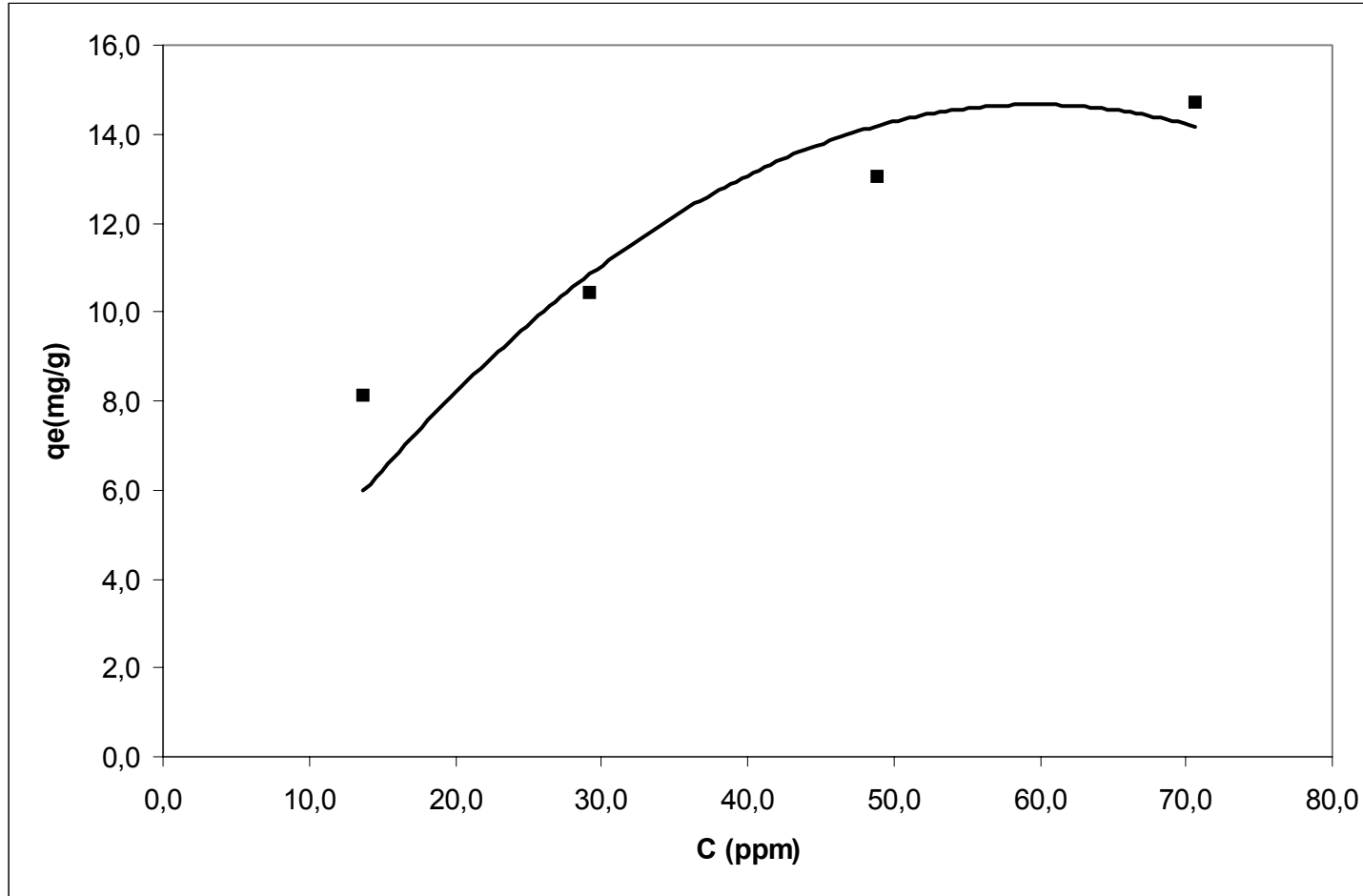
Şekil 6.53. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 4.5 ve $T=20^{\circ}\text{C}$



Şekil 6.54. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 3 ve $T=20^{\circ}\text{C}$



Şekil 6.55. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 4.5 ve $T=35^{\circ}\text{C}$



Şekil 6.56. Krom(III) nin *Pichia stipitis* üzerindeki Jovanovich ($r=1.5$) (J2) İzotermi pH 3 ve $T=35^{\circ}C$

Sonuç ve Öneriler;

- Ağır metal varlığı, biyokütle çoğalmasını olumsuz yönde etkilemektedir.
- *Pichia stipitis* mayasının çoğalması, Cu (II) iyonuna karşı Cr (III) a göre daha hassastır.
- Canlı hücre ile ağır metal giderimi için adaptasyon tekniklerinin kullanılması gerekliliği ortaya çıkmıştır.
- Ağır metallerin başlangıç konsantrasyonu, biyokütle çoğalmasını ve ağır metal tutulumunu etkilemektedir.
- Adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayasının, Cu (II) iyonu için en yüksek tutma kapasitesi 15.85mg/g, Cr (III) iyonu için 9.10 mg/g olarak gerçekleşmiştir.
- Ölü *Pichia stipitis* mayası ile yapılan çalışmalarda kullanılan, ağır metale adapte edilmiş mikroorganizmaları içeren büyüme ortamlarından toplanmış, atık biyoküteller Cu(II) ve Cr(III) iyonlarını tutma özelliğine sahiptir.
- Ölü *Pichia stipitis* mayasının Cu (II) ve Cr (III) biyosorpsiyonu, sıcaklık ve pH ile ters orantılı olarak değişmektedir.
- Çalışılan koşullar içinde, ölü *Pichia stipitis* maksimum ağır metal tutma kapasitesi Cu (II) için 20,22 mg/g ve Cr (III) için 16.12mg/g olarak bulunmuştur.

Bu çalışmanın sonucunda aşağıdaki konular daha sonraki çalışmalar için önerilebilir:

- Farklı adaptasyon teknikleri geliştirilebilir
- Laboratuvar kültürü yerine, kirli ortamlardan izole edilmiş *Pichia stipitis* mayası kullanılabilir.
- PH değişimi ve sübstrat konsantrasyonu takip edilebilir.
- Canlı hücre ile başlangıç pH ve karıştırma hızı değiştirilebilir.

- Başka ağır metaller ile *Pichia stipitis* mayasının biyosorpsiyonu ve biyoakümülyasyonu denenebilir.

KAYNAKLAR

1. Gavrilescu, M., "Removal of heavy metals from environment by biosorption", **Eng. Life Sci.**, 3: 219-232 (2004).
2. Senthilkumaar,S., Bharathi,S., Nithyanandhi, D., Subburram,V., "Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solutions", **Bioresource Technology**, 75 : 163-165 (2000).
3. Malik, A., "Metal bioremediation through growing cells", **Enviromental International** 30 : 261-278 (2004).
4. Skontzou, P., Soupioni, M., Bekatorou, A., Kanellaki, M., Koutinas, A.A., Marchant, R., Banat, I.M., "Lead (II) uptake during baker`s yeast production by aerobic fermentation of molasses", **Process Biochemistry** 38 : 1479-1482 (2003).
5. Cossoich,E.S., Tavares, C.R.G., Ravagnani, T.M.K., "Biosorption of chromium (III) by *Sargassum sp.* Biomass", **Process Biotechnology**,5 (2) : 133-141 (2002).
6. Uslu,O., Türkman, A., "Su kirliliği ve kontrolü", **T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi 1**, Ankara, 1-18 (1987).
7. Ewan KB, Pamphlett R., "Increased inorganic mercury in spinal motor neurons following chelating agents", **Department of Pathology** (Neuropathology Division), University of Sydney, Australia 17:343-349 (1996).
8. Silóniz, M.I., Balsalobre, L., Alsa, C., Valderrama, M.J., Peinado, J.M., "Feasibility of copper uptake by the yeast *Pichia guilliermondii* isolated from sewage sludge", **Research in Microbiology**,153 : 173-180 (2002).
9. Tsezos,M., Volesky, B., "The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizus*", **Biotechnology and Bioengineering**, 24: 385-401(1982).
10. Dönmez G, Aksu Z., "The effect of copper(II) ions on the growth and bioaccumulation properties of some yeast", **Process Biochemistry**, 35 : 135-143 (1999).
11. İlhan, S., Nourbakhsh, M.N., Kılıcarslan, S., Ozdag, H., "Removal of chromium, lead and copper ions from industrial waste waters by *Staphylococcus saprophyticus*", **Turkish Electronic Journal of Biotechnology**, 2 : 50-57 (2004).

12. Dursun, A.Y., Uslu, G., Cuci, Y., Aksu, Z., "Bioaccumulation of Cu(II), Pb(II) and Cr(VI) by growing *Aspergillus niger*", **Process Biochemistry** 38:1647-1651(2003).
13. Donmez, G., Aksu, Z., " Bioaccumulation of copper(II) and nickel(II) by the nonadapted and adapted growing *Candida* spp", **Water Res.** 35(6):1425-1434 (2001).
14. Kratochvil, D., Volesky, B., "Advantages in biosorption of heavy metals", **Tib tech**, 16 : 291-300 (1998).
15. Volesky, B., "Biosorption of heavy metals", **CRC Press Boca Raton, USA** (1990).
16. Baik, W.Y., Bae, J.H., Cho, K.M, Hartmeier, W., "Biosorption of heavy metals using whole mold mycelia and parts thereof", **Bioresource Technology**, 81 : 167-170 (2002).
17. Conrad, K., Hansen, H.C.B., "Sorption of zinc and lead on coir", **Bioresource Technology**, xxx (2006).
18. Matheickal, J.T., Yu, Q., "Biosorption of lead(II) and copper(II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of Australian marine algae", **Biosource Technology**, 69 : 223-229, (1999).
19. Norton, L., Baskaran, K., McKenzie, T., "Biosorption of zinc from aqueous solutions using biosolids", **Advanges in Enviromental Research**, 8: 629-635, (2004).
20. Gadd, G.M., " Fungi and yeast for metal accumulation", In: Ehrlich HL, Briery CL (eds) Microbial mineral recovery. **McGraw-Hill**, New York, 249-276 (1990).
21. Cossich, E.S., Tavares, C.R.G., Ravagnani, T.M.K., "Biosorption of chromium (III) by *Sargassum* sp. Biomass", **Process Biotechnology**, 5 (2) : 133-141 (2003).
22. Öztürk, A., Artan, A., Ayar, A., "Biosorption of nickel(II) and copper(II) ions from aqueous solution by *Streptomyces coelicolor*", A3(2). **Colloids and Surface B: Biointerfaces**, 34 : 105-111, (2004).
23. Slininger, P.J., Bothast, R.J., Cauwenberge, J.E. And Kurtzman, C.P., "Conversion of D-xylose to Ethanol by the yeast *Pachysolen tannophilus*", **Biotechnology and Bioengineering**, 24,:371-384 (1982).
24. Scragg, A.H., "Bioreactors in biotechnology", **Ellis Horwood Limited**, West Sussex, England, 45-53 (1991).

25. Mihova, St., Godjevargova, T., "Biosorption of heavy metals from aqueous solutions". *Journal of International Research Publication* 2000/01 Issue1 ISSN 1311-8978.
26. Hart, E.B., Steenbock, H., Waddell, J., Elvehjem, C.A., "Iron in nutrition. VII. Copper is supplement to iron for hemoglobin building in rat. 1928", *J. Biol. Chem.*, 77: 797-812 (2002).
27. Uriu-Adams JY and Keen CL., "Copper, oxidative stress, and human health", *Molec. Asp. Med.*, 26: 268-298 (2005).
28. Harris, E.D., "Basic and clinical aspects of copper", *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* 40: 547-586 (2003).
29. Saari, J.T., "Copper deficiency and cardiovascular disease: role of peroxidation, glycation, and nitration", *Can. J. Physiol. Pharmacol.* , 78:848-855 (2000).
30. Cecconi, I., Scaloni, A., Rastelli, G., Moroni, M., Vilardo, P.G., Costantino, L., Cappiello, M., Garland, D., Carper, D., Petrash, J.M., Del Coroso, A., Mura U., "Oxidative modification of aldose reductase induced by copper ion. Definition of the metal-protein interaction mechanism. *J. Biol. Chem.* 277: 42017-42027 (2002).
31. Davanzo, F., Settini, L., Faraoni, L., Maiozzi, P., Travaglia, A., Marcello, I., "Agricultural pesticide-related poisonings in Italy : cases reported to the Poison Control Centre of Milan in 2000- 2001", *Epidemiol. Prev.* 28:330-337 (2004).
32. Strivastava, A., Peshin, S.S., Kaleekal, T., Gupta, S.K., "An epidemiological study of poisoning cases reported to the National Poisons Information Centre, All Indian Institute of Medical Sciences, New Delhi. Hum. " *Exp. Toxicol.*, 24 : 279-285 (2005).
33. Internet:USA, EPA Online. <http://www.epa.gov/iris/subst/0144.htm>(1998).
34. Gaetke, L.M., and Chow, C.K., "Copper toxicity, oxidative stress, and antioxidant nutrients", *Toxicology* 189 : 147-163 (2003).
35. Handy, R.D., "Chronic effects of copper exposure versus endocrine toxicity : two sides of the same toxicological process", *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol.* 135: 25-38 (2003).
36. Hawari, AH., Mulligon, CN., "Biosorption of Pb(II), Cd(II), Cu(II), Ni(II) by anaerobic granular biomass", *Bioresource Technology*, 97 : 692-700 (2006).

37. Özer A, Özer D., "Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae*: determination of biosorption heats", **J Hazard Mater.** , B100 : 219-229 (2003).
38. Nuhoğlu, Y., Malkoç, E., Gürses, A., Canpolat, N., "The removal of copper (II) from aqueous solutions by *Ulothrix zonola*", **Bioresource Technology**, 85 (3) : 331 – 333 (2002).
39. Volesky, B., "Detoksification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century", **Hydrometallurgy**, 59 : 203-216 (2001).
40. Gadd, G.M., "Accumulation of metal by microorganisms and algae. In: Rehm H, editor". **Biotechnology: a complete treatise**, vol. 6B, special microbial processes vol. 4 Veelagsgesellschaft, Weinheim: VCH; 401-430 (1988).
41. Brierly, C.L., "Bioremediation of metal contaminated surface and ground water", **Geomicrobiol J.**, 8:201-223 (1990).
42. Ahuja, P., Gupta, R., Saxena, R.K., "Sorption and desorption of Co by *Oscillatoria angustissima*", **Curr. Microbiol** , 39:49-52(1999).
43. Mehta, S.K., Gaur, J.P., "Characterization and optimization of Ni and Cu sorption from aquatic solution by *Chlorella vulgaris*", **Ecological Eng.**, 18: 1-13 (2001).
44. Rome, L., Gadd, G.M., "Use of pelleted and immobilized yeast and fungal biomass for heavy metal and radionuclide recovery", **J Industrial Microbiol.**, 7: 97-104 (1991).
45. Mullen, M.D., Wolf, D.C., Beveridge, T.J., Bailey, G.W., "Sorption of heavy metals by soil fungi *Aspergillus niger* and *Mucor rouxii*". **Soil Biol. Biochem** 24:129–135(1992).
46. Beveridge, T.J., "The role of cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization". **Annual Review of Microbiol.**, 43:147–171 (1989).
47. Renner, R., " On the trail of bioremediating microbes", **Environ. Sci. Technol.**, 31: 188-189(1997).
48. Gupta, G., Keegan, B., "Bioaccumulation and biosorption of Pb by poultry litter microorganisms", **Poultry Sci.**, 77:400-404(1998).
49. Nuzhat, A., Uzma, B., Ralhan, S., "Resistance and accumulation of heavy metals by Indigenous Bacteria: bioremediation", In: Nuzhat, A., Qureshi, F.M., Khan, O., Khan, Y. editors, **Industrial and environmental**

- biotechnology.** Whymondham, UK: Horizon Scientific Press, 81-102 (2001).
50. Kuyucak, N., Volesky, B., "Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions", **Biotechnol. Let.**, 10 (2):137-142 (1988).
51. Aksu, Z., "The biosorption of copper(II) by *C.vulgaris* and *Z.ramigera*". **Environ. Technol.**, 13: 579-586 (1992).
52. Gadd, G.M., "Heavy metal and radionuclide by fungi and yeasts", In: P.R Norris and D.P. Kelly (Editors) **Biohydrometallurgy** A. Rowe, Chippenham, Wilts, U.K., (1988).
53. Sannasi P, Kader J, Ismail BS, Salmijah S., "Sorption of Cr(VI), Cu(II) and Pb(II) by growing and non-growing cells of a bacterial consortium", **Bioresour Technol.** 97(5):740-747(2006).
54. Anand P, Isar J, Saran S, Saxena RK., "Bioaccumulation of copper by *Trichoderma viride*", **Bioresour Technol.** 97:1018-1025(2006).
55. Özer, D., Aksu, Z., Kutsal, T., Çağlar, A., "Adsorption – isotherms of lead(II) and chromium (VI) on *Cladophora crispata*", **Environmental Technology**, 15 (5) : 439 – 448 (1994).
56. Nourbakhsh, M., Sağ, Y., Özer, D., Aksu, Z., Kutsal, T. and Çağlar, A., "A comparative study of various biosorbents for removal of Cr (IV) ions from industrial waste water", **Process Biochemistry**, 29(1):1-5 (1994).
57. Aksu, Z., Açikel, Ü., "A Single-Stage Bioseparation Process for Simultaneous Removal of Copper(II) and Chromium(VI) by Using *C. vulgaris*", **Process Biochemistry**, 34: p.589-599 (1999).
58. Sağ, Y. and Kutsal, T., "Determination of the biosorption heats of heavy metal ions on *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus*", **Biochemical Engineering Journal**, 6 :145-151(2000).
59. Aksu Z, Dönmez G., "Comparison of copper(II) biosorptive properties of live and treated *Candida sp*", **J Environ Sci Health** ; A36(3):367-381(2001).

EKLER

EK-1 Mikroorganizma için ağırlık tayini ve Cu(II), Cr(III) analizi

Mikroorganizma için ağırlık tayini

Hücre miktarı kuru ağırlık üzerinden belirleneceğinden hücrelerin kuru ağırlıkları tespit edildi. Büyüme ortamından alınan 10ml lik iki örneğin absorbansı 600nm dalga boyunda UV spektrofotometrede ölçüldü. Örnekler santrifüj tüplerine kondu ve 10 dakika boyunca 2000 rpm de santrifüj edildi. Sulu kısım alındı ve çöken kısma 5ml %0.9 luk NaCl eklendi ve tekrar aynı koşullarda santrifüj edildi. Üst kısım mikropipet ile çekildi. Santrifüj tüpleri etüvde 90⁰ C de 20 saat kurutuldu ve desikatöre alındı. Tüpler tekrar tartılarak kuru mikroorganizma ağırlığı elde edildi. Bu işlem sonucunda absorbans ile kuru ağırlık arasındaki ilişkiyi veren,

$$Absorbans = 2.3 \times kuru \ ağırlık \ (g/l)$$

şeklinde bir bağıntı elde edilmiştir.

Mikroorganizma sayısındaki değişim Shimadzu Marka 210UV spektrofotometresinde absorbans tayini yapılarak gerçekleştirilmiştir. 10 ppm, 30 ppm, 50 ppm, 75 ppm ve 100 ppm Cu ve Cr konsantrasyonlarında hazırlanan, 30⁰C ve 350rpm deki büyüme ortamında bulunan adapte edilmiş ve adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayalarından belli zaman aralıklarında alınan örnekler gerekli ölçülerde seyreltilmiş, 1cm kalınlığındaki dört köşe, kuartz küvetler kullanılarak, 600nm dalga boyunda UV spektrofotometresinde absorbans ölçümleri yapılmıştır.

Cu(II), Cr(III) analizi

Metal analizleri UNICAM929 Marka atomik absorpsiyon spektrofotometresinde gerçekleştirilmiştir. Belli zamanlarda çözeltilerden alınan numuneler 2000rpm de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Ölçümler süzüntü

EK-1 (Devam) Mikroorganizma için ağırlık tayini ve Cu(II), Cr(III) analizi

kısından alınan örnekler üzerinden gerçekleştirilmiştir. Surechem Products Ltd., $\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ve Merck, $\text{CrCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ kimyasalları kullanılarak 1000ppm lik stok Cu^{+2} ve Cr^{+3} solüsyonları hazırlanmıştır. Solüsyonların hazırlanmasında deiyonize su kullanılmıştır. 1000ppm lik stok çözeltilerden deiyonize su ile seyreltmeler yapılarak 1, 2, 3, 4 ve 5ppm lik standart çözeltiler hazırlanmıştır. Bu standart çözeltilerin kalibrasyon denklemleri belirlenmiştir (Bakır için; $y = 0,0221x + 0,0268$ ve Krom için; $y = 0,0134x + 0,023$). Analizi yapılacak numuneler gerekli oranlarda seyreltilmiş ve konsantrasyon değerleri okunmuştur. Alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresinde yakıt olarak asetilen-hava karışımı ve ışık kaynağı olarak D_2 (döteryum) lambası kullanılmıştır.

EK-2 Farklı başlangıç konsntrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen biyokütle sonuçları

Çizelge2.1. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen çoğalma sonuçları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Biyokütle (g/l)					
	0ppm	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	3.09	0.46	0.40	0.30	0.25	0.044
4	3.39	0.73	0.48	0.36	0.31	0.059
8	10.16	2.06	1.59	1.43	1.30	0.055
24	10.75	6.67	5.11	3.48	2.10	0.055
30	14.81	6.95	6.25	3.64	2.51	0.055
35	15.24	6.72	6.44	3.77	2.94	0.055
49	16.17	6.89	6.06	3.39	2.55	0.054
55	16.34	6.57	5.48	3.19	2.44	0.045
79	16.28	6.31	5.43	3.16	2.30	0.047
82	15.32	5.72	5.09	2.96	2.27	0.046

EK-2 (Devam) Farklı başlangıç konsntrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen biyokütle sonuçları

Çizelge 2.2. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen çoğalma sonuçları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Biyokütle (g/l)					
	0ppm	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	3.09	1.33	1.09	1.06	0.61	0.32
4	3.39	1.59	1.15	1.24	1.07	0.59
8	10.16	2.50	1.92	1.76	1.24	0.57
24	10.75	8.49	7.49	6.37	4.14	0.63
30	14.81	8.58	7.41	6.51	4.80	0.49
35	15.24	8.73	7.98	6.85	6.62	0.46
49	16.17	8.89	7.79	6.53	5.93	0.43
55	16.34	8.98	7.54	6.23	4.98	0.41
79	16.28	8.96	6.71	5.93	3.87	0.45
82	15.32	7.85	6.66	5.78	3.87	0.45

EK-3 Farklı başlangıç konsntrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen biyokütle sonuçları

Çizelge 3.1. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen çoğalma sonuçları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30⁰C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Biyokütle (g/l)					
	0ppm	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	3.09	1.51	0.85	0.65	0.73	0.75
4	3.39	1.63	1.33	1.37	1.31	0.97
8	10.16	4.91	4.48	3.14	2.16	1.81
24	10.75	6.04	5.72	4.81	4.25	2.13
30	14.81	8.29	7.74	5.52	4.17	3.55
35	15.24	8.50	7.36	5.72	5.14	4.02
49	16.17	8.76	7.80	7.53	6.64	3.97
55	16.34	9.40	7.60	7.11	6.31	4.01
79	16.28	8.76	8.23	7.05	5.46	4.08
82	15.32	9.05	7.89	6.68	5.29	3.87

EK-3 (Devam) Farklı başlangıç konsntrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen biyokütle sonuçları

Çizelge 3.2. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen çoğalma sonuçları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Biyokütle (g/l)					
	0ppm	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	3.09	1.61	1.60	1.12	0.97	0.81
4	3.39	1.98	1.82	1.42	1.08	0.95
8	10.16	2.58	2.14	1.42	1.10	0.99
24	10.75	10.07	9.07	6.17	5.71	3.28
30	14.81	13.40	11.40	10.26	8.55	6.28
35	15.24	13.79	11.99	10.49	8.74	7.41
49	16.17	14.49	12.49	11.04	8.33	7.51
55	16.34	14.75	12.75	10.39	7.58	7.50
79	16.28	14.73	12.73	10.14	7.55	6.79
82	15.32	14.70	11.67	10.14	7.19	6.34

EK-4 Farklı başlangıç konsntrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge 4.1. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	C _{bakır} (ppm)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	10.00	30.00	50.00	75.00	100.00
4	4.35	14.9	42.9	63.1	97.85
8	1.26	16.0	40.1	50.00	74.41
24	2.82	19.4	38.3	50.00	66.95
30	1.90	19.1	35.4	50.00	77.36
35	4.26	19.3	26.8	52.5	74.8
49	6.17	20.8	31.7	52.5	77.41
55	6.67	23.8	33.2	61.3	84.99
79	6.69	24.1	39.0	63.7	87.40
82	6.72	24.3	39.3	63.8	87.60

EK-4 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge 4.2. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	C _{krom} (ppm)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	10.00	30.00	50.00	75.00	100.00
4	7.33	27.43	37.09	67.72	93.20
8	4.42	15.09	33.73	45.81	65.48
24	4.18	13.77	29.85	40.64	63.81
30	3.55	11.55	27.66	35.90	67.99
35	3.82	13.22	25.57	39.22	77.81
49	3.59	15.76	24.22	42.05	78.29
55	5.73	18.15	29.62	56.11	80.26
79	6.16	21.08	36.48	59.30	81.00
82	6.54	23.47	37.54	59.77	84.96

EK-4 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge4.3. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal tutunma değerleri (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Tutunma (%)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	56.6	50.5	24.6	15.9	2.2
8	87.4	46.5	34.6	33.3	25.6
24	71.8	35.2	34.6	33.3	33.1
30	81.0	36.3	35.3	33.3	22.6
35	57.4	35.6	30.6	30.0	25.2
49	38.3	30.8	26.4	30.0	22.6
55	33.3	20.6	22	18.3	15
79	33.1	19.7	15.9	15.1	12.6
82	32.8	19.0	13.0	14.9	12.4

EK-4 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmemiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge 4.4. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal tutunma değerleri (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Tutunma (%)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	26.7	8.57	25.82	9.71	6.8
8	55.8	49.7	32.54	38.92	43.52
24	58.2	54.1	40.3	45.81	36.19
30	64.5	61.5	44.68	52.13	32.01
35	61.8	55.93	48.87	47.71	22.19
49	64.1	47.47	51.56	43.93	21.71
55	42.7	39.50	40.77	25.19	19.74
79	38.36	29.73	27.04	20.93	19.0
82	34.59	21.77	24.92	20.31	15.04

EK-5 Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge 5.1. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	C _{bakır} (ppm)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	10.00	30.00	50.00	75.00	100.00
4	4.35	13.97	32.88	57.07	75.70
8	2.32	12.32	26.77	44.48	62.92
24	2.05	11.26	22.17	38.46	57.13
30	1.81	10.13	19.38	32.75	49.02
35	2.38	9.43	19.66	28.76	47.21
49	2.15	9.31	18.20	29.75	43.25
55	2.79	8.58	17.19	30.13	42.09
79	2.33	8.37	18.02	28.99	40.72
82	1.12	7.58	17.02	28.68	38.64

EK-5 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge 5.2. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	C _{krom} (ppm)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	10.00	30.00	50.00	75.00	100.00
4	5.93	19.43	32.14	53.65	72.15
8	3.99	12.08	25.89	44.08	62.19
24	3.15	10.39	20.36	36.75	57.72
30	2.27	9.45	18.11	33.41	55.27
35	1.97	8.72	17.73	29.92	53.88
49	1.93	9.03	16.54	27.37	49.09
55	1.54	8.54	15.36	24.48	48.33
79	1.55	8.20	15.01	25.65	45.75
82	1.46	7.36	14.49	22.45	42.31

EK-5 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge 5.3. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal tutunma değerleri (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Tutunma (%)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	56.5	53.43	32.24	23.91	24.3
8	76.8	58.93	46.46	40.69	37.08
24	79.46	62.47	55.66	48.72	42.87
30	81.87	66.23	61.24	56.33	50.98
35	76.2	68.57	60.68	61.65	52.79
49	78.5	68.97	63.6	60.33	56.75
55	72.1	71.4	65.62	59.83	57.91
79	76.7	72.1	63.96	61.35	59.28
82	88.8	74.73	65.96	61.76	61.36

EK-5 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait adapte edilmiş *Pichia stipitis* ile gerçekleştirilen ağır metal konsantrasyonları ve % tutunma sonuçları

Çizelge 5.4. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarında, adapte edilmiş *Pichia stipitis* mayası ile gerçekleştirilen ağır metal tutunma değerleri (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

t (saat)	Tutunma (%)				
	10ppm	30ppm	50ppm	75ppm	100ppm
0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4	40.7	35.23	35.72	28.47	27.85
8	60.09	59.73	48.22	41.22	37.81
24	68.5	65.38	59.28	51.0	42.28
30	77.3	68.51	63.78	55.45	44.73
35	80.3	70.93	64.54	60.11	46.12
49	80.7	69.9	66.92	63.51	50.91
55	84.63	71.53	69.28	67.36	51.67
79	84.5	72.67	69.98	65.8	54.25
82	85.4	75.47	71.02	70.07	57.69

EK-6 Farklı başlangıç konsntrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait, *Pichia stipitis* in adaptasyonu sırasında eksponansiyel fazdaki örnekleme zamanları

Çizelge 6.1. Farklı bakır(II) başlangıç konsantrasyonlarına ait *Pichia stipitis* mayasının adaptasyonu sırasında, eksponansiyel fazdaki numune alma zamanları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30⁰C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

Bakır başlangıç konsntrasyonu, ppm	Eksponansiyel fazdaki örnekleme zamanı, saat
5	20.
10	19.
30	21.
50	22.
75	18.
100	-

EK-6 (Devam) Farklı başlangıç konsntrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait, *Pichia stipitis* in adaptasyonu sırasında eksponansiyel fazdaki örnekleme zamanları

Çizelge 6.2. Farklı krom(III) başlangıç konsantrasyonlarına ait *Pichia stipitis* mayasının adaptasyonu sırasında, eksponansiyel fazdaki numune alma zamanları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30⁰C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

Krom başlangıç konsntrasyonu, ppm	Eksponansiyel fazdaki örnekleme zamanı, saat
5	19.
10	19.
30	23.
50	21.
75	20.
100	-

EK-7 Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait, ölü *Pichia stipitis* in denge sorpsiyonundaki ağır metal konsantrasyonları

Çizelge 7.1.Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen bakır(II) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 4.5 , T = 20°C ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge bakır konsantrasyonu, ppm	Tutunan bakır miktarı, mg/g
4.3	2.9
10.67	9.7
27.44	11.3
48.69	13.2
72.11	13.9

Çizelge 7.2.Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen bakır(II) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 3 , T = 20°C ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge bakır konsantrasyonu, ppm	Tutunan bakır miktarı, mg/g
2.81	3.60
7.93	11.04
20.05	14.98
37.86	18.57
59.57	20.22

EK-7 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait, ölü *Pichia stipitis* in denge sorpsiyonundaki ağır metal konsantrasyonları

Çizelge 7.3.Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen krom(III) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 4.5 , T = 20°C ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge krom konsantrasyonu, ppm	Tutunan krom miktarı, mg/g
5.2	2.42
13.4	8.32
29.0	10.49
49.4	12.81
72.6	13.73

Çizelge 7.4.Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen krom(III) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 3 , T = 20°C, Ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge krom konsantrasyonu, ppm	Tutunan krom miktarı, mg/g
4.9	2.56
11.1	9.45
21.2	14.39
43.2	15.91
67.8	16.12

EK-7 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait, ölü *Pichia stipitis* in denge sorpsiyonundaki ağır metal konsantrasyonları

Çizelge 7.5. Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen bakır(II) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 4.5 , T = 35°C ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge bakır konsantrasyonu, ppm	Tutunan bakır miktarı, mg/g
4.8	2.6
12.27	8.9
28.05	11.0
51.23	11.9
75.11	12.4

Çizelge 7.6.Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen bakır(II) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 3 , T = 35°C ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge bakır konsantrasyonu, ppm	Tutunan bakır miktarı, mg/g
3.8	3.10
8.01	11.00
21.88	14.06
41.36	16.82
64.91	17.55

EK-7 (Devam) Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki bakır(II) ve krom(III) a ait, ölü *Pichia stipitis* in denge sorpsiyonundaki ağır metal konsantrasyonları

Çizelge 7.7.Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen krom(III) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 4.5 , T = 35°C ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge krom konsantrasyonu, ppm	Tutunan krom miktarı, mg/g
8.0	1.02
16.4	6.78
32.8	8.63
53.4	10.81
76.4	11.81

Çizelge 7.8 Ölü biyokütle (*Pichia stipitis*) ile gerçekleştirilen krom(III) tutunma değerleri (Ortam hacmi =20 ml , pH = 3 , T = 35°C ölü hücre ağırlığı = 40 mg)

Denge krom konsantrasyonu, ppm	Tutunan krom miktarı, mg/g
6.8	1.60
13.7	8.13
29.1	10.43
48.9	13.05
70.6	14.70

EK-8 *Pichia stipitis* in adapte edilmiş formu kullanılarak gerçekleştirilen büyüme ortamlarındaki spesifik büyüme hızları

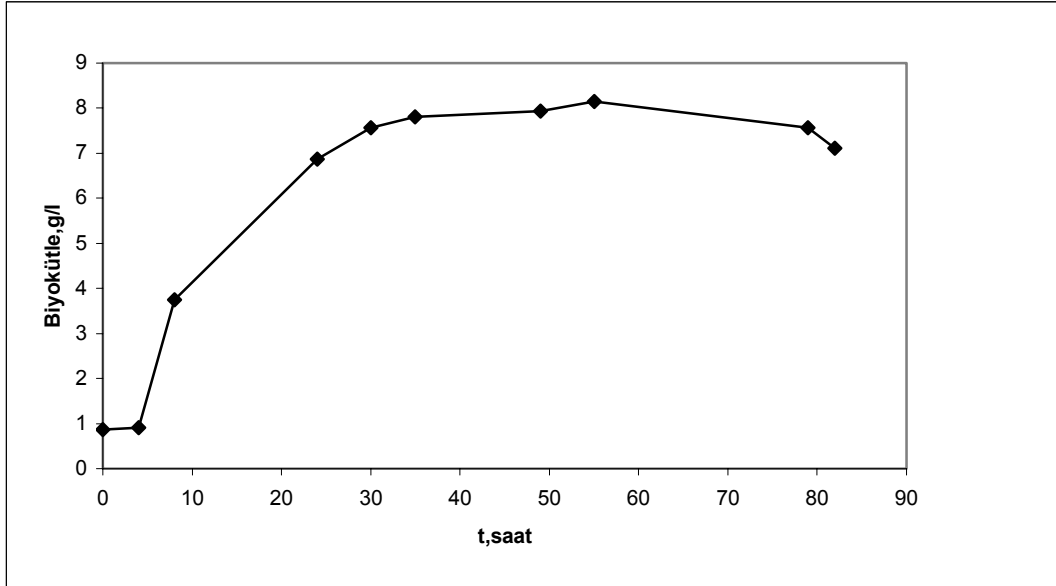
Çizelge 8.1. Bakır(II) varlığında, adapte edilmiş biyokütlenin (*Pichia stipitis*) eksponansiyel fazdaki spesifik büyüme hızları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

Başlangıç bakır(II) konsantrasyonu (C), ppm	Spesifik büyüme hızı (μ), h ⁻¹
0	0.349
10	0,070
30	0,058
50	0,035
75	0,029
100	0,011

Çizelge 8.2. Krom(III) varlığında, adapte edilmiş biyokütlenin (*Pichia stipitis*) eksponansiyel fazdaki spesifik büyüme hızları (Büyüme ortamı hacmi =100 ml , pH = 4.5 , T = 30°C, Karıştırma hızı = 350 rpm)

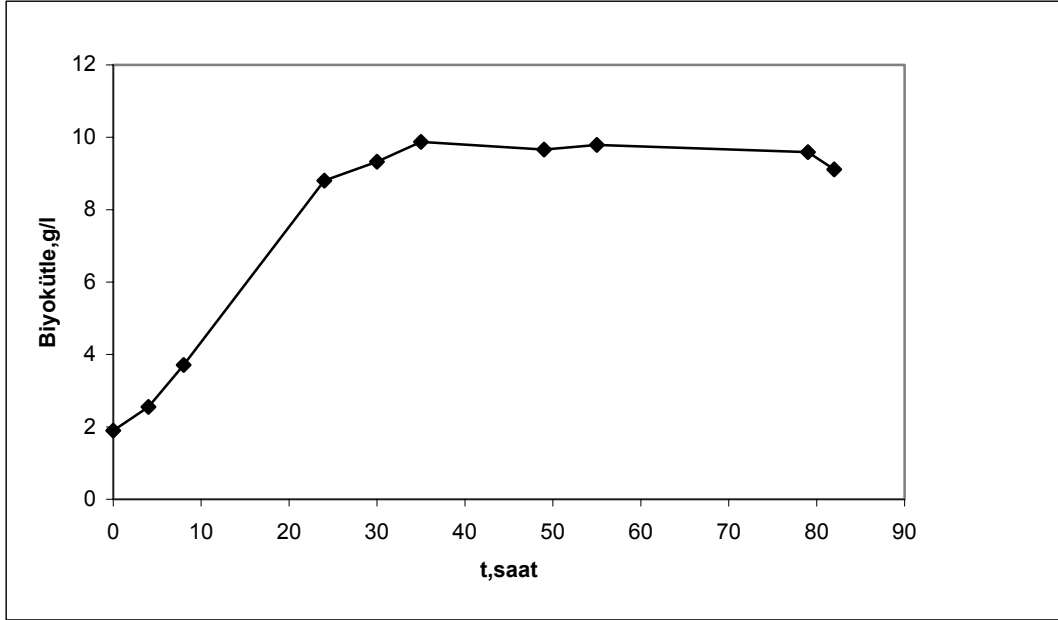
Başlangıç krom(III) konsantrasyonu (C), ppm	Spesifik büyüme hızı (μ), h ⁻¹
0	0.349
10	0,096
30	0,093
50	0,950
75	0,085
100	0,079

EK-9 *Pichia stipitis* mayasının 5ppm Cu(II) ve Cr(III) konsantrasyonundaki çoğalma eğrileri



Şekil 9.1. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayasının 5ppm bakır(II) başlangıç konsantrasyonundaki çoğalma eğrisi (T=30⁰C ve Karıştırma hızı=350rpm)

EK-9 (Devam) *Pichia stipitis* mayasının 5ppm Cu(II) ve Cr(III) konsantrasyonundaki çoğalma eğrileri



Şekil 9.2. Adapte edilmemiş *Pichia stipitis* mayasının 5ppm krom(III) başlangıç konsantrasyonundaki çoğalma eğrisi (T=30⁰C ve Karıştırma hızı=350rpm)

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : YILMAZER, Pınar
 Uyuşu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 18.08.1976 Çorlu
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (312) 277 38 50
 Faks : 0 (312) 277 14 93
 e-mail : pinar@orboz.com.tr.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	2006
Lisans	Ege Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	1998
Lise	Anıttepe Lisesi	1993

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
1998 / -	Orhan Boz Tıbbi Malz. Ve Tic. A.Ş	Kalite Müdürü

Yabancı Dil

İngilizce

Sahip olunan sertifikalar

- TS-EN-ISO 9000:2000 Kalite Yönetimi ve Kalite Güvencesi Standartları Temel Eğitimi
- TS-EN-ISO 9000 Kalite Sistem Dokümantasyonu
- TS-EN-ISO 9000 Kuruluş İçi Kalite Tetkikleri
- TS-EN-ISO 9000 İstatistiksel Proses Kontrol
- Tıbbi Cihazlar-Kalite Yönetim Sistemleri-Mevzuat Amaçları Bakımından Şartlar Eğitimi
- ISO 13485:2003 Kalite Yönetim Sistemi İç Kalite Tetkikçisi

- 93 / 42 / EEC Medikal Cihazlar Kararnamesi
- Kalibrasyon Eğitimi
- Laboratuvarda Kalite Yönetimi
- Proseslerin Yönetimi, Etkileşimi ve İyileştirme Teknikleri
- Endüstride Radyasyonla Sterilizasyon

Kullanılan analiz yöntemleri

HPCL(High Pressure Liquid Cromotography), Atomik Absorpsiyon Spektrometresi, UV-Vis Spektrofotometre

Kullanılan bilgisayar programları

Word, Excel, Powerpoint, İnternet uygulamaları

Referanslar

Assoc. Prof. WILLIE E. (SKIP) ROCHEFORT

Oregon State University, Kimya Mühendisliği Corvallis, OR/USA

Prof. Dr. Mesut YENİGÜL

Ege Üniversitesi, Kimya Mühendisliği

Prof. Dr. Nurdan SARAÇOĞLU

Gazi Üniversitesi, Kimya Mühendisliği