

**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**HİDROKSİAPATİT BAZLI BİYOMATERYALLERİN MODİFİKASYONU VE  
DENİZ ORTAMINDA AĞIR METAL GİDERİMİ VE BİYOFİLM  
OLUŞUMUNA YÖNELİK DAVRANIŞLARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gülşen MELTEM**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Kimya Programı**

**HAZİRAN 2024**



**İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

**HİDROKSİAPATİT BAZLI BİYOMATERYALLERİN MODİFİKASYONU VE  
DENİZ ORTAMINDA AĞIR METAL GİDERİMİ VE BİYOFİLM  
OLUŞUMUNA YÖNELİK DAVRANIŞLARI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Gülşen MELTEM  
(509221257)**

**Kimya Anabilim Dalı**

**Kimya Programı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Aslı BAYSAL**

**HAZİRAN 2024**



**ISTANBUL TECHNICAL UNIVERSITY ★ GRADUATE SCHOOL**

**MODIFICATION OF HYDROXYAPATITE FROM CATTLE BONES WITH  
STARCH AND L- CYSTEINE TO REMOVE OF HEAVY METAL FROM  
ENVIRONMENTAL SAMPLES AND LIMIT THE BIOFILM FORMATION**

**M.Sc. THESIS**

**Gülşen MELTEM  
(509221257)**

**Department of Chemistry**

**Chemistry Programme**

**Thesis Advisor: Prof. Dr. Ash BAYSAL**

**JUNE 2024**



İTÜ, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü'nün 509221257 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Gülşen MELTEM, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “HİDROKSİAPATİT BAZLI BİYOMATERYALLERİN MODİFİKASYONU VE DENİZ ORTAMINDA AĞIR METAL GİDERİMİ VE BİYOFİLM OLUŞUMUNA YÖNELİK DAVRANIŞLARI” başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :**      **Prof. Dr. Aslı BAYSAL**  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :**      **Doç. Dr. Nil ÖZBEK** .....  
İstanbul Teknik Üniversitesi

**Doç. Dr. Saliha Esin ÇELİK** .....  
İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa

**Teslim Tarihi**            : 30.05.2024  
**Savunma Tarihi**        : 11.06.2024





*Aileme ve arkadaşlarıma,*



## ÖNSÖZ

Çalışmalarım sırasında her zaman bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, araştırmanın her bir aşamasında görüşleriyle beni destekleyen, yakın ilgi ve desteğini gördüğüm tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Aslı BAYSAL'a sonsuz teşekkürlerimi borç bilirim. Hidroksiapatit temini, karakterizasyon işlemleri ve bakteri çalışmalarımı gerçekleştirmeme destek sağlayan İstanbul Aydın Üniversitesi'nden Prof. Dr. Hasan Saygın ve laborant Batuhan Tilkili'ye teşekkür ederim.

Tez çalışmamızı TYL-2023-44573- Hidroksiapatit tabanlı biomateryallerin modifikasyonu ve ağır metal giderimi ve biyofilm oluşum davranışlarının deniz ortamında incelenmesi kapsamında destekleyen İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman bana cesaret veren ve en iyi performansımı ortaya koymam için teşvik eden Sayın Prof. Dr. Mustafa Gazi'ye, yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım sırasında desteklerini her zaman yanımda hissettiğim sevgili annem Ece MELTEM'e, sevgili babam Reşat MELTEM'e, sevgili ablam Emine MELTEM'e, sevgili kardeşim Hüseyin MELTEM'e ve sevgili arkadaşlarım Metin SUNAL, Tuğçe KANDEMİR, Ülkü Nida ÇOLAK, Elif YILMAZ 'a en içten sevgilerimle teşekkür ederim.

Mayıs 2024

Gülşen Meltem  
(Kimyager)



## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

|                                                                                |       |
|--------------------------------------------------------------------------------|-------|
| ÖNSÖZ.....                                                                     | ixx   |
| İÇİNDEKİLER .....                                                              | xii   |
| KISALTMALAR .....                                                              | xiii  |
| SEMBOLLER .....                                                                | xv    |
| ÇİZELGE LİSTESİ.....                                                           | xviii |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                                             | xix   |
| ÖZET.....                                                                      | xxi   |
| SUMMARY .....                                                                  | xxiii |
| 1.GİRİŞ VE AMAÇ .....                                                          | 1     |
| 2. TEORİK KISIM .....                                                          | 3     |
| 2.1 Ağır Metaller Çevresel Ve Canlılar Üzerine Etkileri.....                   | 3     |
| 3. ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROSKOPİSİ .....                                     | 7     |
| 3.1 Tarihçe.....                                                               | 7     |
| 3.2 Absorpsiyonun Temel Kuralları.....                                         | 7     |
| 3.3 Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS).....                           | 10    |
| 3.3.1 Işık kaynakları.....                                                     | 11    |
| 3.3.2 Atomlaştırıcılar .....                                                   | 12    |
| 3.3.2.1 Alevli atomlaştırıcılar .....                                          | 12    |
| 3.3.2.2 Elektrotermal atomlaştırıcılar.....                                    | 15    |
| 3.3.3 Monokromatörler .....                                                    | 15    |
| 3.3.4 Dedektörler.....                                                         | 16    |
| 3.3.5 AAS uygulama alanları .....                                              | 16    |
| 4. ÇALIŞMA KAPSAMINDA BİLGİ .....                                              | 17    |
| 4.1 Hap .....                                                                  | 17    |
| 4.2 Hap Modifikasyonu .....                                                    | 18    |
| 4.2.1 Nişasta .....                                                            | 18    |
| 4.2.2 L-sistein .....                                                          | 18    |
| 4.3 Bakteriyel Etkileşim .....                                                 | 19    |
| 4.3.1 <i>S.aureus</i> .....                                                    | 19    |
| 4.3.2 <i>P.aeruginosa</i> .....                                                | 19    |
| 4.3.3 Bakteriyel canlılık (aktivite), biyofilm oluşumu ve oksidatif stres..... | 20    |
| 5. DENEYSEL KISIM .....                                                        | 23    |
| 5.1 Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar.....                                  | 23    |
| 5.2 Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar .....                              | 24    |
| 5.3 Deneyin Yapılışı.....                                                      | 24    |
| 5.3.1 Hap sentezi .....                                                        | 24    |
| 5.3.2 Nişasta-Hap modifikasyonu .....                                          | 24    |
| 5.3.3 L-sistein-Hap modifikasyonu.....                                         | 25    |
| 5.4 pH Çalışması .....                                                         | 25    |
| 5.5 Sorbent Miktarı .....                                                      | 26    |
| 5.6 Süre Çalışması.....                                                        | 26    |
| 5.7 Bakteriyel Etkileşim.....                                                  | 27    |
| 6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA .....                                                  | 29    |
| 6.1 Hap, Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap Karakterizasyonu.....                    | 29    |
| 6.2 Deneysel Şartların Sorpsiyon Üzerine Etkisi .....                          | 30    |
| 6.2.1 pH etkisi .....                                                          | 30    |

|                                                         |           |
|---------------------------------------------------------|-----------|
| 6.2.2 Sorbent miktarının etkisi .....                   | 32        |
| 6.2.3 Çalkalama süre etkisi .....                       | 35        |
| 6.3 Hap Modifikasyonlarının Bakteriyel Etkileşimi ..... | 36        |
| 6.3.1 <i>S.aureus</i> .....                             | 37        |
| 6.3.2 <i>P.aeruginosa</i> .....                         | 44        |
| <b>7. SONUÇLAR .....</b>                                | <b>51</b> |
| <b>KAYNAKLAR.....</b>                                   | <b>53</b> |
| <b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>                                   | <b>65</b> |



## KISALTMALAR

|                             |                                                |
|-----------------------------|------------------------------------------------|
| <b>Al</b>                   | : Alüminyum                                    |
| <b>As</b>                   | : Arsenik                                      |
| <b>AAS</b>                  | : Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi        |
| <b>Cd</b>                   | : Kadmiyum                                     |
| <b>Cr</b>                   | : Krom                                         |
| <b>Cu</b>                   | : Bakır                                        |
| <b>EPS</b>                  | : Hücre dışı polimerik maddeleri               |
| <b>FAAS</b>                 | : Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi |
| <b>Fe</b>                   | : Demir                                        |
| <b>Hap</b>                  | : Hidroksiapatit                               |
| <b>Hg</b>                   | : Civa                                         |
| <b>LPO</b>                  | : Lipit peroksidaz                             |
| <b>MP</b>                   | : Mikroplastik                                 |
| <b>Ni</b>                   | : Nikel                                        |
| <b>NP</b>                   | : Nanoplastik                                  |
| <b>OKL</b>                  | : Oyuk katot lambası                           |
| <b><i>P. aeruginosa</i></b> | : <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                |
| <b>Pb</b>                   | : Kurşun                                       |
| <b>ROS</b>                  | : Reaktif oksijen türleri                      |
| <b><i>S. aureus</i></b>     | : <i>Staphylococcus aureus</i>                 |
| <b>SOD</b>                  | : Süperoksit dismutaz                          |
| <b>Zn</b>                   | : Çinko                                        |



## SEMBOLLER

|                         |                             |
|-------------------------|-----------------------------|
| <b>A</b>                | : Absorbans                 |
| <b>cm<sup>-1</sup></b>  | : Santimetre üzeri eksi bir |
| <b>dk</b>               | : Zaman, dakika             |
| <b>g</b>                | : Gram                      |
| <b>g/L</b>              | : Gram/Litre                |
| <b>g/cm<sup>3</sup></b> | : Yoğunluk                  |
| <b>L</b>                | : Litre                     |
| <b>mL</b>               | : Mililitre                 |
| <b>µL</b>               | : Mikrolitre                |
| <b>mA</b>               | : Miliamper                 |
| <b>M</b>                | : Molarite                  |
| <b>mol/L</b>            | : Mol/Litre                 |
| <b>mM</b>               | : Milimolar                 |
| <b>mg/L</b>             | : Milligram/Litre           |
| <b>ng/mL</b>            | : Nanogram/Mililitre        |
| <b>nm</b>               | : Nanometre                 |
| <b>ppm</b>              | : Milyonda kısım            |
| <b>rpm</b>              | : Dakikadaki devir sayısı   |
| <b>V</b>                | : Voltaj                    |
| <b>w/v</b>              | : Hacimce birleşim          |



## ÇİZELGE LİSTESİ

### Sayfa

|                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Çizelge 3.1:</b> Alevli AAS’de alev türleri.....                                                    | 14 |
| <b>Çizelge 5.1:</b> Pb, Cu ve Cr OKL’larının akım değerleri, dalga boyları ve slit aralıkları<br>..... | 23 |





## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

|                                                                                                                                                                            |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 3.1 : Lambert-Beer kural gösterimi. ....                                                                                                                             | 9  |
| Şekil 3.2 : AAS'nin şematik gösterimi. ....                                                                                                                                | 11 |
| Şekil 3.3 : OKL yapısı. ....                                                                                                                                               | 11 |
| Şekil 3.4 : Alevde atomlaştırma sırasında oluşan süreçler. ....                                                                                                            | 14 |
| Şekil 3.5 : Fotoçoğaltıcı tüp şematik gösterimi. ....                                                                                                                      | 16 |
| Şekil 5.1 : Nişasta-Hap kompozit sentezinin şematik gösterimi. ....                                                                                                        | 25 |
| Şekil 5.2 : L-sistein-Hap kompozit sentezinin şematik gösterimi. ....                                                                                                      | 25 |
| Şekil 5.3 : Metal tayini için genel prosedür. ....                                                                                                                         | 27 |
| Şekil 6.1 : (a)Hap (b)L-sistein-Hap ve (c)Nişasta-Hap FTIR spektrumu. ....                                                                                                 | 29 |
| Şekil 6.2 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap üzerine 1,0 mg L <sup>-1</sup> Pb, Cr ve Cu adsorpsiyonunun pH ile değişimi. ....                          | 32 |
| Şekil 6.3 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap üzerine 1,0 mg L <sup>-1</sup> Pb, Cr ve Cu adsorpsiyonuna madde miktarı etkisi. ....                      | 34 |
| Şekil 6.4 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap üzerine 1,0 mg L <sup>-1</sup> Pb, Cr ve Cu adsorpsiyonuna süre etkisi. ....                               | 36 |
| Şekil 6.5 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının <i>S.aureus</i> bakteri canlılığına etkisi. ....                               | 38 |
| Şekil 6.6 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının <i>S.aureus</i> bakteri biyofilm oluşumuna etkisi. ....                        | 39 |
| Şekil 6.7 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap madde miktarlarının <i>S.aureus</i> bakterisinin antioksidan özelliğine etkisi. ....                       | 40 |
| Şekil 6.8 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap madde miktarlarının <i>S.aureus</i> bakterisinin protein miktarına etkisi. ....                            | 41 |
| Şekil 6.9 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent miktarlarının <i>S.aureus</i> bakterisinin lipid peroksidaz aktivitesine etkisi. ....              | 42 |
| Şekil 6.10 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap madde miktarlarının <i>S.aureus</i> bakterisinin süperoksit dismutaz aktivitesine etkisi. ....            | 43 |
| Şekil 6.11 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının <i>P. aeruginosa</i> bakteri canlılığına etkisi. ....                         | 45 |
| Şekil 6.12 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının <i>P.aeruginosa</i> bakteri biyofilm oluşumuna etkisi. ....                   | 46 |
| Şekil 6.13 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbentleri ile <i>P.aeruginosa</i> bakteri antioksidan özelliğine etkisi. ....                           | 47 |
| Şekil 6.14 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının <i>P.aeruginosa</i> bakteri protein miktarı üzerinde etkisi. ....             | 48 |
| Şekil 6.15 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının <i>P.aeruginosa</i> bakteri lipid peroksidaz aktivitesi üzerinde etkisi. .... | 49 |
| Şekil 6.16 : (a)Nişasta ve (b)L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının <i>P.aeruginosa</i> bakteri süperoksitaz aktivitesi üzerinde etkisi. ....     | 50 |



# **HİDROKSİAPATİT BAZLI BİYOMATERYALLERİN MODİFİKASYONU VE DENİZ ORTAMINDA AĞIR METAL GİDERİMİ VE BİYOFİLM OLUŞUMUNA YÖNELİK DAVRANIŞLARI**

## **ÖZET**

“Ağır metaller” terimi yüksek yoğunluğa sahip olan herhangi bir metalik elementi ifade eder. Bazı ağır metaller eser miktarda canlı hayatında önemli bir konuma sahip iken düşük konsantrasyonda bile toksik veya zehirli olan birçok ağır metal bulunmaktadır. Ağır metal kirliliği günümüzün en önemli çevre sorunlarından biridir. Çevre hava, su, toprak gibi en somut ve yiyecek vb. gibi daha az somut olan fakat önemsiz olmayan birçok unsurları barındıran içerisinde yaşadığımız topluluklardır. Günümüzde gelişen teknoloji ile birlikte birçok endüstriyel işlemler sonucu ağır metal derişimi yüksek olan atıklar ve atıksular oluşmaktadır. Bu atıkların kontrolsüz bir şekilde çevreye salınması, ağır metallerin biyolojik olarak bozunabilme özelliklerinin sınırlı olması nedeniyle çevrede ve canlı vücudunda birikime sebep olarak hem çevre hem de canlı sağlığı açısından ciddi problemleri beraberinde getirmektedir.

Günümüzde atıksulardan ağır metal giderimine yönelik birçok teknoloji (kimyasal çöktürme, iyon flotasyonu, iyon değişimi, koagülasyon ve topaklanma, elektroliz, membran ile ayırma, elektrokimyasal işlemler, nano teknoloji) bulunmaktadır. Fakat bu yöntemlerin uygulanabilirliği hem ekonomik hem de zaman açısından sınırlıdır. Son zamanlarda kolay, hızlı, ekonomik ve etkili ağır metal giderim potansiyeline sahip olan adsorpsiyon yöntemi büyük ilgi görmektedir. Atıksulardan adsorpsiyon yöntemi ile ağır metal giderimi, gözenekliliği nedeniyle yüksek yüzey alanına sahip olan nano gözenekli adsorbanların yüzeyine ağır metallerin yapışması temeline dayanmaktadır. Adsorpsiyon prosesi bir veya daha fazla metal için diğerlerinden daha seçici olabilir.

Bu çalışmanın amacı ise adsorpsiyon yöntemi ile atıksulardan ağır metal giderimine yönelik etkili bir adsorban geliştirmektir. Bu amaç doğrultusunda, biyoyumlu bir materyal olan hidroksiapatit (Hap), farklı biyomoleküllerle (karbohidrat ve aminoasit) modifiye edilmiştir ve çevresel sulu çözeltilerden ağır metal giderim kapasitesi incelenmiştir. Ayrıca, modifiye edilmiş Hap sorbentin biyofilm oluşumunu farklı bakteriler kullanarak incelenmiştir.

Koyun kemiğinden elde edilen Hap, nişasta ve L-sistein biyomateryalleri ile modifiye edilerek kullanıma hazır hale getirilmiştir. Adsorpsiyon deneyleri için laboratuvar ortamında hazırlanan model bakır (Cu), krom (Cr) ve kurşun (Pb) çözeltilerindeki ağır metallerin bu sorbentler üzerindeki adsorpsiyonu Alevli Atomik Adsorpsiyon Spektrofotometresi (FAAS) ile incelenmiştir. Sorpsiyona etki eden önemli parametreler içerisinde bulunan pH, madde miktarı ve süre çalışılmıştır.

Elde edilen sonuçlar doğrultusunda, her iki sorbentte de incelenen ağır metaller için 100 %'e yakın alıkonma kapasitesi pH 6'da gözlemlenmiştir. Madde miktarının adsorpsiyon kapasitesi üzerindeki etkisi ise her sorbent ve her ağır metal için değişkenlik göstermiştir. 0.20 g L-sistein-Hap sorbenti 92 % adsorpsiyon kapasitesi ile Cu giderimi sağlamıştır. Sürenin adsorpsiyon üzerinde ki etkisi incelendiğinde ise, Nişasta-Hap sorbenti her üç ağır metal için 90 dk çalkalama süresinde maksimum adsorpsiyon kapasitesi gösterirken, L-sistein-Hap sorbentinde bu durum 4 saat çalkalama süresinde gözlemlenmiştir.

L-sistein-Hap ve Nişasta-Hap sorbentlerinin bakteriyel etkileşimi iki ayrı bakteri (*Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) ve *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)) kullanılarak incelenmiştir. Her iki bakterinin iki ayrı sorbent ortamı içerisinde canlılık, biyofilm oluşumu, protein sentezi, antioksidan, süperoksit dismutaz (SOD) ve lipit peroksidaz (LPO) aktivite ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar doğrultusunda sorbentler, iki farklı bakteriye karşı bakteriyel aktivitesi ve biyofilm oluşum özellikleri sınırlandırılmış özellikler göstermiştir.

Çalışma kapsamında çevre dostu, düşük maliyetli, Cr, Pb ve Cu ağır metallerine seçiciliği yüksek ve etkili olmakla birlikte bakteriyel etkileşimi sınırlandırılmış özelliklere sahip olan özgün adsorbanlar geliştirilmiştir.



# **MODIFICATION OF HYDROXYAPATITE FROM CATTLE BONES WITH STARCH AND L- CYSTEINE TO REMOVE OF HEAVY METAL FROM ENVIRONMENTAL SAMPLES AND LIMIT THE BIOFILM FORMATION**

## **SUMMARY**

"Heavy metals" refer to a subgroup of chemical elements characterized by their high density, toxicity, and tendency to accumulate in biological systems. Some common heavy metals include mercury, lead, arsenic, and cadmium. They can be released into the environment from various sources such as industrial activities, agricultural pesticides, and waste. These metals can have serious health effects on humans, including poisoning, cancer, neurological disorders, and environmental pollution. Therefore, prevention and control of heavy metal pollution are essential.

Heavy metals which are mentioned as metallic elements characterized by high densities, atomic weights, or atomic numbers. While certain heavy metals, such as iron, copper, and zinc, play crucial roles in biological processes at trace levels, many others are highly toxic or poisonous, even at low concentrations. Heavy metal pollution has emerged as a significant environmental issue, impacting both natural ecosystems and human health. The environment, which encompasses air, water, and food, as well as the less tangible but equally important communities we live in, is under threat from heavy metal contamination. Rapid industrialization and technological advancements have led to the generation of waste and wastewater containing high concentrations of heavy metals. The uncontrolled release of these wastes results in the accumulation of heavy metals in the environment and living organisms, posing severe ecological and health risks due to their limited biodegradability.

Various technologies have been developed to address heavy metal pollution, including chemical precipitation, ion flotation, ion exchange, coagulation and flocculation, electrolysis, membrane separation, electrochemical processes, and nanotechnology. Despite their effectiveness, these methods often face limitations regarding economic viability and practical implementation. In recent years, adsorption has gained attention as a promising method for heavy metal removal from wastewater. This technique is favored for its simplicity, cost-effectiveness, and efficiency. Adsorption relies on the adhesion of heavy metal ions onto the surface of nanoporous adsorbents, which offer high surface areas due to their porosity. The process can be tailored to selectively target specific metals, enhancing its applicability in various environmental contexts.

The primary aim of this study is to develop and characterize an effective adsorbent for the removal of heavy metals from wastewater using the adsorption method. Hydroxyapatite (Hap), can be used as an adsorbent. Hap is a biocompatible material, was chosen as the base adsorbent and modified with different biomolecules, including carbohydrates and amino acids, to enhance its heavy metal removal capacity. Additionally, the study investigates the biofilm formation properties of the modified Hap sorbents using different bacteria.

Hap is a naturally occurring mineral form of calcium apatite with the chemical formula  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ . It is the main mineral component of tooth enamel and bone. Hap crystals provide strength and rigidity to bones and teeth, making them crucial for structural support and protection. In addition to its natural occurrence, Hap is widely used in various applications. Hap was sourced from sheep bone and modified with starch and L-cysteine biomaterials to prepare the adsorbents. Starch is a carbohydrate polymer composed of glucose units linked together in a linear chain with occasional branching. It is the most abundant carbohydrate reserve in plants and serves as an essential source of energy for humans and animals.

The main types of starch are amylose and amylopectin, with amylopectin being highly branched and amylose having a more linear structure. The ratio of amylose to amylopectin varies among different starch sources and affects their properties, such as gelatinization temperature and texture. In addition to its culinary uses, starch has industrial applications in papermaking, heavy metal removal from aqueous systems and biodegradable plastics production. Moreover, starch is increasingly being explored as a renewable and sustainable source of biofuel and biochemicals, contributing to efforts to reduce reliance on fossil fuels and mitigate environmental impact.

L-cysteine is a non-essential amino acid, meaning it can be synthesized by the human body and is not solely reliant on dietary intake. It plays crucial roles in protein synthesis, detoxification, and the formation of important biological molecules such as glutathione, which acts as an antioxidant. One of the notable features of L-cysteine is its sulfhydryl group (-SH), which allows it to participate in various biochemical reactions, including the formation of disulfide bonds in proteins. These disulfide bonds contribute to the stability and structure of many proteins, including enzymes and antibodies. L-cysteine is found in various protein-rich foods such as meat, poultry, eggs, dairy products, and legumes. Additionally, it can be obtained through dietary supplements or synthesized industrially for use in food additives, cosmetics, and pharmaceuticals.

In the food industry, L-cysteine is commonly used as a dough conditioner and flavor enhancer, particularly in the production of baked goods such as bread and pastries. Its ability to break down gluten bonds helps improve dough elasticity and texture. Additionally, it can be used as an adsorbent for heavy metal removal from aqueous solutions. Beyond its culinary applications, L-cysteine is utilized in pharmaceutical formulations for its antioxidant properties and in cosmetic products for its skin-conditioning effects. However, its industrial production process, which often involves the use of human or animal hair, has raised ethical concerns, leading to the development of alternative production methods using microbial fermentation or plant-based sources. Overall, L-cysteine is a versatile amino acid with diverse applications in various industries, highlighting its importance in both biological and commercial contexts.

The adsorption experiments were conducted using model solutions of copper (Cu), chromium (Cr), and lead (Pb) prepared in the laboratory. The adsorption capacities of the modified Hap sorbents were assessed using Flame Atomic Absorption Spectrophotometry (FAAS). Key parameters affecting sorption, such as the amount of sorbent, pH, and contact time, were systematically studied to optimize the adsorption

process. The experiments revealed that both modified sorbents exhibited nearly 100% retention capacity for the heavy metals at pH 6. The adsorption capacity varied depending on the type of sorbent and the specific heavy metal. For instance, the L-cysteine-Hap sorbent achieved a 92% removal rate for Cu with an optimal sorbent amount of 0.20 g. In terms of contact time, the Starch-Hap sorbent reached maximum adsorption capacity for all three heavy metals within 90 minutes of shaking, whereas the L-cysteine-Hap sorbent required 4 hours to achieve similar results.

The study also examined the interaction of the L-cysteine-Hap and Starch-Hap sorbents with two different bacteria: *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) and *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). Various biological assays, including viability, biofilm formation, protein synthesis, antioxidant activity, superoxide dismutase (SOD) activity, and lipid peroxidase (LPO) activity, were performed to evaluate the bacterial response to the sorbents. The results indicated that the sorbents exhibited distinct activities against the two bacteria, with limited biofilm formation observed in both cases.

The modification of Hap with starch and L-cysteine significantly enhanced its heavy metal adsorption capabilities. The optimal conditions for heavy metal removal varied between the two modified sorbents, reflecting the influence of the specific biomolecules on the adsorption process. The high retention capacities observed at pH 6 suggest that the modified Hap sorbents can effectively remove heavy metals from aqueous solutions under mildly acidic conditions, which are common in industrial effluents.

The bacterial interaction studies provided valuable insights into the potential biocompatibility and antibacterial properties of the modified sorbents. The differential responses of *S. aureus* and *P. aeruginosa* to the sorbents highlight the importance of considering microbial interactions in the development of adsorbents for environmental applications. The limited biofilm formation observed suggests that the modified Hap sorbents may have potential applications in scenarios where bacterial contamination is a concern.

This study successfully developed a novel adsorbent based on hydroxyapatite modified with starch and L-cysteine, demonstrating high effectiveness in removing Cu, Cr, and Pb from wastewater. The modified sorbents are environmentally friendly, low-cost, and exhibit high selectivity and efficiency for heavy metal removal. Additionally, the sorbents showed limited bacterial interaction, making them suitable for applications where microbial contamination is a potential issue. Future research should focus on scaling up the production of these adsorbents and exploring their long-term stability and performance in real-world wastewater treatment scenarios. The integration of these adsorbents into existing treatment systems could provide a robust solution to the persistent problem of heavy metal pollution, contributing to the protection of both environmental and public health.



## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yeryüzünün üçte ikisini kaplayarak yaşamın ana unsuru olan su, ikame edilemez çok büyük bir değere sahiptir [1]. Tarım ve evsel kullanımdan sanayi endüstrisine kadar birçok kullanım alanına sahip olan su, hayatın gelişmesi ve sürdürülebilirliği açısından oldukça önemlidir. Fakat, son yıllarda nüfus artışının hızla ilerlemesi sonucu artan endüstriyel imalat su kirliliğini beraberinde getirmiştir. Su kirliliği, hem gelişmiş hem de kırsal ülkeler için küresel bir endişe ortaya çıkarmaktadır. Gelişmiş ülkeler su kirliliği üzerinde ciddi bir etkiye sahipken, orta ve düşük gelirli ülkeler fakirlik, kanuni mevzuatın zayıf olması ve kirlilik türlerine bilinçsizlik nedeniyle daha büyük etkiye sahiptir [2]. Kirlilik, suyun kullanımı engellenecek kadar doğal koşullar altında meydana gelebilecek konsantrasyonlardan daha yüksek konsantrasyonlarda kimyasallar veya diğer zararlı maddelerden kaynaklanmaktadır. Başlıca su kirleticiler içerisinde ağır metaller yer almaktadır [3].

Cu, çinko (Zn) ve demir (Fe) gibi metaller düşük konsantrasyonlarda çevre ve halk sağlığı açısından mikro besin maddeleri olarak gereklidir fakat Pb, kadmiyum (Cd), civa (Hg), arsenik (As), Alüminyum (Al) ve Nikel (Ni) düşük konsantrasyonlarda bile tehlikelidir. Bu metallerin yüksek konsantrasyonlarda su kaynaklarına ve dolaylı olarak besin zincirine nüfuz etmesi sonucu insanlarda, kalp, karaciğer ve böbrek hastalıkları gibi ciddi sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Ayrıca balık gibi çeşitli hayvanların popülasyonunda azalmaya yol açabilecek kadar su yaşamı üzerinde olumsuz etkiye sahiptir [4].

Ağır metallerin çevresel ortamdan uzaklaştırılması uzun yıllardan beri ilgi odağı olmasına rağmen halen daha güncelliğini korumaktadır. Bunun temel nedeni endüstriyelleşme ile birlikte farklı ağır metal kaynaklarının oluşması ve bunun önüne geçilememesidir. Bu amaçla çok çeşitli ağır metal giderilme yöntemleri olup, bunlar arasında; membran filtrasyonu, mikrobiyal iyileştirme, aktif karbon adsorpsiyonu, karbon nanoteknolojisi gibi çeşitli yaklaşımlar bulunmaktadır [5-8]. Ancak bu tekniklerin birçoğu uygulanabilir değildir ve maliyeti yüksektir.

Diğer yandan, katı bir yüzeye bağlanarak ortamdan uzaklaştırılması sıkça incelenen seçeneklerden biridir. Katı yüzey olarak çok çeşitli malzemeler geliştirilmekle birlikte, bu malzemelerin etkin metal yüklenme sorunun yanında çevreye biyolojik açıdan zarar vermemesi de son yıllarda önem kazanmıştır. Ayrıca son yıllarda önem kazanan diğer konu da atıkların giderek kontrol edilemez hale gelmesinden dolayı yeniden süreçlere katılımın sağlanmasıdır. Bu nedenle, atık malzemeler farklı şekillerde modifiye edilerek kirleticilerin uzaklaştırılmasında kullanılması gerekliliği karşımıza çıkmaktadır. Bu katı atık maddeleri içerisinde Hap kaynağı olan atık maddelerin (kemik, seramik, bitki vb.) katkısı da önemsenecek boyuttadır. Ayrıca Hap, fosfat, hidroksil ve kalsiyum içeren doğal bir mineral olması nedeniyle farklı alanlarda kimyasal maddelerin (metaller, boyar maddeler vb.) giderilmesi, bağlanmasında kullanılabilme özelliği bulunmaktadır. Malzemenin bu özelliği, farklı modifikasyonlar kullanılarak arttırılabilmekte ya da amaca spesifikleştirilmektedir [9].

Hap temelde çevre dostu bir malzeme olmasına rağmen kimyasal maddelerin uzaklaştırma/ayırıştırılması için hazırlanması esnasında değişime uğraması nedeniyle biyolojik tehlike oluşturma riski de bulunmaktadır. Bu biyolojik tehlikeler arasında mikroorganizmaların aktivasyonu veya biyofilm oluşturma özellikleri sayılabilir. Diğer yandan, biyofilm spesifik ya da total olarak mikroorganizmaların ortam şartlarından etkilenerek oluşturdıkları polimerik gruplaşma olup, ortamda bulunan zararlı yapıları taşımaları ya da uygun şartlar geri gelene kadar kendilerini koruma özelliği göstermektedirler. Bu da metallerin gibi kontaminantların giderilmesinde kullanılan membranın etkinliğini kaybetmesine ya da ortamda bulunan diğer kontaminantların biyofilmler ile taşınmasına neden olmaktadır. Bu da hem metaller gibi tehlikeli kimyasal maddelerin etkin şekilde uzaklaştırılabilmesini etkilemekte hem de biyolojik tehlike risklerini ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla bu riskleri en aza indirecek modifikasyon yöntemlerine ihtiyaç bulunmaktadır [10].

Tez kapsamında, kemiklerden elde edilen doğal Hap kullanılarak metal giderimi için Hap tabanlı farklı yüzey modifikasyonlarının hazırlanması, bu modifikasyonların metal giderimi etkinliklerinin araştırılması ile birlikte biyolojik tehlikelerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, Hap malzemesi farklı fonksiyonel gruplar içeren aminoasit ve karbohidratlar gibi biyomoleküllerle yüzeyi modifiye edilerek, sentezlenen yeni malzemelerin fizikokimyasal özellikleri, metal tutunma/uzaklaştırma ve mikroorganizmaların canlılık ve biyofilm oluşturma etkinlikleri incelenmiştir.

## 2. TEORİK KISIM

### 2.1 Ağır Metaller, Çevresel Ve Canlılar Üzerine Etkileri

Ağır metaller, yoğunluğu ( $>5 \text{ g/cm}^3$ ) ve litosferdeki konsantrasyonu ( $<0.1\%$ ) olan metallerdir. Ağır metal grubunu oluşturan Pb, Cd, Zn, Cr, Cu ve Ni biyosferde depolanan büyük bir grubun alt kümesidir. Ağır metal kaynakları doğal ve antropojenik kökenli olmak üzere ikiye ayrılmaktadır [11]. Kayaların bozunması ve aşınması, volkanik patlamalar, orman yangınları, deniz üzerinde aerosol oluşumu doğal kaynak kökenli iken fosil yakıt yanması, organik ve anorganik gübre, lağım pisliği, endüstriyel işlemler ise antropojenik kaynaklıdır [12].

İnsan hayatı ve üretim için vazgeçilmez bir konuma sahip olan ağır metaller doğal ortamda yaygın olarak bulunur. Hızlı endüstriyel gelişme ile birlikte, insanoğlunun metale önemli ölçüde ihtiyaç duyması nedeniyle akut çevre sorunları ve özellikle de ağır metallerin atıksularda neden olduğu çevre sorunları ön plana çıkmaktadır. Cevher madenciliği atıksu drenajı, dağ tünel drenajı, boya, ilaç boyası, pestisit gibi endüstriyel atıksu kaynaklarının tümü ağır metal içermektedir. Ayrıca, yağışlar nedeniyle atmosferdeki ağır metaller yağmurla birlikte yeryüzüne gelerek yeraltı sularında ağır metal içeriğinin artmasına neden olmaktadır [13].

Yukarıda bahsedilen sebepler doğrultusunda ağır metallerle kirlenmiş atıksu veya yeraltı suları doğrudan veya dolaylı olarak canlılara ve insanoğluna ulaşmaktadır. Bitki kökleri tarafından emilen ağır metaller dayanıklıdır ve bitki büyümesini engelleyerek erken yaşlılık, düşük verim ve hatta ölümüne sebebiyet vermektedir [14]. Ayrıca, ağır metaller suda yaşayan organizmalarda da birikme potansiyeline sahiptir. Besin zinciri ile insanlara ulaşan ağır metallerin vücuttan atılması zordur ve vücut içerisinde birikerek yüksek konsantrasyonlara ulaşarak oldukça zehirleyici uzun süre toksisite yaratmaktadır.

Endüstriyel gelişme ile birlikte, çevre kirliliğine bağlı ağır metallerin, vücutta ölçümüne yönelik talep artmaktadır. Metaller, vücuda sindirim, soluma veya deri gibi çeşitli yollarla girebilir ve dokularda birikime yol açabilir. Cu, Zn ve Fe gibi ağır metaller biyolojik görevlere sahipken, Hg, Cd, As ve Pb gibi ağır metaller biyolojik bir göreve sahip olmadıkları için gerekli olmayan ağır metaller sınıfına girmektedir [15]. Bu sınıftaki ağır metaller, homeostatik süreçleri değiştirerek, serbest sülfhidril gruplarını bağlayarak, antioksidan dengesini değiştirerek veya taşıma proteinleri, enzimler veya reseptörlerin bağlanma bölgeleri için rekabet ederek metabolik reaksiyonlara müdahale ederler. Ürettikleri oldukça reaktif serbest radikallerin oluşumu ile birlikte, proteinler ve nükleik asitler gibi çeşitli makromoleküllerle reaksiyona girerek artık işlevlerini doğru bir şekilde yerine getiremez hale gelirler. Belirtilen hastalıklara ek olarak, ağır metaller, bağışıklık sistemi işlevlerinde veya çeşitli fizyolojik işlevlerde de sorun yaratmaktabilmekte ve kanser gibi hastalık neden olmaktadır [16].

Sembolü, latince *plumbum* kelimesinden türeyerek periodik tablonun 14. Grubunda (IVa) yer alan Pb, simyacılar tarafından en eski metal olarak bilinmektedir. Yer kabuğunun yalnızca %0,0013'ünü oluştursa da kolaylıkla çıkarılıp rafine edilebildiği için nadir bir element olarak kabul edilmez. Korozyona karşı dayanıklı, kolayca şekillendirilebilen, yüksek özgül ağırlığı ( $11.29 \text{ g/cm}^3$ ) ile Pb çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Romanlar tarafından Pb, Augustus Caesar'ın Pb zehirlenmesi keşfine kadar tabletlerde, su borularında, madeni paralarda ve mutfak eşyalarında kullanılmıştır [17]. Günümüzde ise araba baterilerinde, boyar maddelerde, cephanelerde, kablo yalıtımında, kaldırma ve dalış bel ağırlıklarında ve radyasyon koruyucusu vb. kullanım alanı bulmakla birlikte, yetersiz seramik eşya sır kaplama, yiyecek konserveleri, içme suları, boya, kozmetik ve endüstriyel tozlar sonucu insanlar Pb'a maruz kalmaktadır.

Pb'un bilinen herhangi bir biyolojik görevi bulunmamaktadır. Vücutta birikerek ciddi sağlık problemleri yaratmaktadır. Toksik, teratojenik (embryo veya fetüs gelişiminin bozulması) ve kanserojendir [18]. Düşük konsantrasyonlarda düşük yapma ve bebeklerin düşük doğum ağırlığına sahip olmasıyla ilişkilidir. Nörotoksisite açısından Pb, görsel/motor performans, hafıza, dikkat ve kavrama becerilerini olumsuz yönde etkilemektedir. İnsanların yüksek konsantrasyonda Pb'a maruziyeti sonucu tübüler

böbrek hasarı, glikozüri (idrarda şeker bulunması) ve aminoasidüri (idrarda aminoasit bulunması) oluşmaktadır [19].

Cr, Louis Nicolas Vauquel tarafından, 1797 yılında Pb kromattan elde edilmiştir. Bileşiklerinin çoğunun renkli olması dolayısıyla Yunanca’ da renkli anlamına gelen ‘chroma’ kelimesinden türetilmiştir. Periyodik sistemin VI B sütununda bulunan Cr, çevrede (toprak, kayalar, bitkiler, toz ve gazlar) öncelikle elementel, üç değerlikli [Cr (III)] ve altı değerlikli [Cr (VI)] oksidasyon durumlarında oluşan bir geçiş metalidir.

Hem Cr (III) hem de Cr (VI) çevresel açıdan stabildir ve toksikolojik profilleri iyi bilinmektedir; Cr (III) sınırlı toksikolojik özelliklere sahiptir ve insanlarda önemli bir eser metal olarak kabul edilirken çeşitli Cr (VI) bileşikleri insanlar için kanserojen olarak kabul edilerek hem akut hem de kronik toksik etkilere neden olduğu bilinmektedir. Cr (VI) bileşikleri çeşitli endüstriyel uygulamalarda (Cr kaplama, paslanmaz çelik ve diğer özel çeliklerin kaynaklanması, boyama, deri tabaklama ve ahşap koruma) kullanılır [20].

En büyük mesleki ve çevresel sağlık endişesini oluşturan Cr metal endüstrisi, toksik kirlilik yaratabilir ve eğer bir arıtma işleminden geçirilmeden çevreye salınırsa toprak ve suda ciddi kontaminasyonlara sebep olur. Altı değerlikli Cr formunda ki Cr metal toksisitesi, gen mutasyonuna sebep olabilir, kanserojen ve teratojeniktir. Besin zinciri ile Cr metal birikimi, aşırı zehirli olabilir ve insan vücudunda ciddi problemlere yol açabilir [21].

Cu, periyodik cetvelin 4’üncü periyodunun 1B grubuna ait bir geçiş metali olup ‘+1’ ve ‘+2’ oksidasyon basamaklarına sahiptir. Bu özelliği sayesinde insan vücudunda Cu içeren enzimler, moleküler oksijen ile bağlanarak indirgenme–yükseltgenme reaksiyonlarında yer alırlar ve insan vücudunda eser miktarda bulunurlar. Cu eksikliği sonucu Fe absorpsiyonunu zayıflar ve yüksek Cu eksikliği anemi hastalığını beraberinde getirir. Ayrıca bağ dokusu hasarıyla osteoporoz, saç ve deride renk kaybı gözlenir. Hayvanlarda ise anormallikler, kansızlık, kemik hastalıkları ve sinir sisteminde bozukluklar tespit edilmiştir [22].

Bugüne kadar temel sağlık temelli kılavuz değerler ABD Çevre Koruma Ajansı (1,30 mg Cu/L) ve Dünya Sağlık Örgütü (2,0 mg Cu/L) tarafından belirlenmiştir [23].

Evlerde Cu boruların yaygın kullanımı nedeniyle içme suyu potansiyel olarak önemli bir Cu maruziyeti kaynağıdır. Sertlik, alkalilik, pH, çözünmüş organik madde ve askıda katı maddeler dahil olmak üzere su özellikleri, Cu'ın kimyasal yapısını değiştirdiğinden etkileri, farklı biyoyararlanımlara sahip farklı Cu türlerinden kaynaklanabilir ve dolayısıyla toksisitenin, maruz kalan sudaki toplam Cu konsantrasyonuna göre farklılık göstermesine neden olabilir. Böylece Cu'ın akut veya kronik etkileri ortaya çıkmaktadır [24].



### **3. ATOMİK ABSORPSİYON SPREKTROSKOPİSİ**

#### **3.1 Tarihçe**

Atomik absorpsiyon sprektroskopisi, belirli bir dalga boyundaki serbest gaz atomlarının elektromanyetik radyasyonunun soğurulmasıyla ilgilenen bir teknik olup 70 kadar metal ve yarımetalın son derece küçük miktarlardaki elementlerin ölçümüne olanak tanımaktadır [25].

Robert Bunsen ve Gustav Kirchhoff, sodyum (Na) spektrumunu incelediler ve her elementin, gaz halindeki elementleri tanımlamak için kullanılabilecek spesifik bir spektruma sahip olduğu sonucuna vardılar. Kirchhoff ayrıca, eğer bir malzeme belirli bir dalga boyunda elektromanyetik radyasyon yayarsa, aynı zamanda o dalga boyundaki radyasyonu da emebilir olgusunu açıkladı [26]. Bu ilk keşiflere rağmen, atomik absorpsiyon sprektroskopisi çoğunlukla astrofizik çalışmalarla sınırlıydı ve muhtemelen tekniğin zorluğunun yüksek olması ve ayrıca niceliksel ölçümler yapmak için çok yüksek bir çözünürlüğe ihtiyaç duyulması nedeniyle 1950 yılına kadar neredeyse göz ardı edildi.

1952'de Avustralya'nın Melbourne kentindeki CSIRO Endüstriyel Kimya Bölümü'nün Kimyasal Fizik Bölümü'nde çalışan fizikçi Alan Walsh, devam eden sorunun üstesinden geldi. Bu, tayin edilecek elementin çok dar spektral çizgilerinin darbeli sinyalini yayan, alevdeki bir veya daha fazla element atomları tarafından absorbe edilebilen, özel tipte bir atomik spektral lamba (genellikle içi boş katot lambası) kullanılarak yapıldı. Muhtemelen spektroskopinin iki tamamlayıcı alanındaki, yani emisyon spektrokimyasal analizi ve kızılötesi absorpsiyondaki deneyimi nedeniyle onu çift geçişli monokromatörü icat etmeye yöneltti. 1953'te CSIRO bir patent başvurusunda bulundu ve Mart 1954'te atomik absorpsiyon tekniğini gösteren bir cihaz Melbourne'deki bir sergide gösterildi [27].

#### **3.2 Absorpsiyonun Temel Kuralları**

Farklı atomlar ve moleküller enerjiyi yalnızca belirli miktarlarda yayabilir veya emebilir. Elektromanyetik radyasyon biçiminde yayılabilen veya emilebilen en küçük enerji miktarı kuantum olarak bilinir. Emilen veya yayılan radyasyonun enerjisi,

Radyasyonun frekansıyla doğru orantılıdır [28]. İki enerji seviyesi arasındaki bu geçiş 1900 yılında Planck tarafından aşağıdaki eşitlikle ifade edilmiştir:

$$\Delta E = E_i - E_0 = h\nu = hc/\lambda \quad (3.1)$$

Burada;

$E_i$ = Elektronun uyarılmış seviyedeki enerjisi,

$E_0$ = Elektronun temel seviyedeki enerjisi,

$h$ = Planck sabiti ( $6.626 \times 10^{-34}$  J.s),

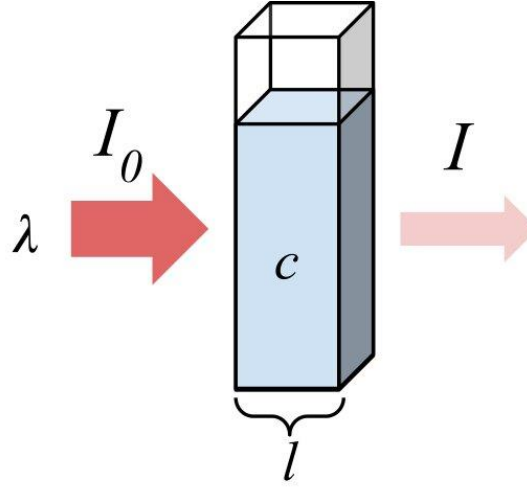
$\nu$ = Absorplanan ışının frekansı,

$c$ = Işın hızı,

$\lambda$ = Absorplanan ışının dalgaboyu anlamları ifade edilmektedir.

Sonuç olarak bir atomun absorpsiyon yapabilmesi için temel ve uyarılmış enerji seviyeleri arasındaki enerji farkına eşit enerjideki bir ışın ile karşılaşması gerekir. Lambert Beer kanununa göre homojen bir çözelti konsantrasyonu ile absorbansı arasında doğrusal bir ilişki vardır ve bu bir çözeltinin konsantrasyonunun absorbansı ölçülerek hesaplanmasını sağlar. Şekil 3.1’ de gösterildiği üzere bir dalgaboyundaki ışının belirli kalınlıkta homojen bir çözeltiden geçmesi sonucu ışın şiddeti konsantrasyonla doğru orantılı olarak azalır. Bu ise ışın geçişinin absorbansı iki dış varsayıma bağlı olmasıyla gerçekleşir [29, 30];

- Absorbans çözelti konsantrasyonu ile doğru orantılıdır.
- Absorbans ışın geçiş yolu ile doğru orantılıdır.



**Şekil 3.1:** Lambert-Beer kural gösterimi [30].

Burada;

$\lambda$ = Absorplanan ışının dalgaboyu,

$I_0$ = Gelen ışının şiddeti,

$I$  = Ortamı terk eden ışının şiddeti,

$c$ = Absorplanan maddenin konsantrasyonu,

$l$  = Işının geçtiği tabakanın kalınlığı ifade edilmektedir.

Lambert kuralı: Şeffaf absorpsiyon hücresinde absorplanan ışın, ışın şiddetinden bağımsızdır. Absorplama ortamındaki her başarılı katman tarafından eşit fraksiyonlarda ışın absorbe edilmektedir.

Beer kuralı: Absorplanan ışın, ışık ışın yolunda bulunan türlerin sayısı ile doğru orantılıdır.

Böylece;

Absorbans konsantrasyonla doğru orantılıdır.

$$A \propto c$$

(3.2)

Absorbansın ışın şiddeti ile gösterimi;

$$A=\log_{10}(I_0/I) \quad (3.3)$$

Absorbans ışın yolu ile doğru orantılıdır.

$$A \propto l \quad (3.4)$$

(3.2) ve (3.4) kombinasyonu

$$A \propto cl \quad (3.5)$$

Bu orantı, bir orantı sabiti ( $\epsilon$ ) eklenerek eşitliğe dönüştürülebilir;

$$A=\epsilon cl \quad (3.6)$$

Bu formül, Beer-Lambert Yasasının yaygın biçimi olmakla birlikte, yoğunluk cinsinden de yazılabilir:

$$A=\log_{10}(I_0/I)=\epsilon lc \quad (3.7)$$

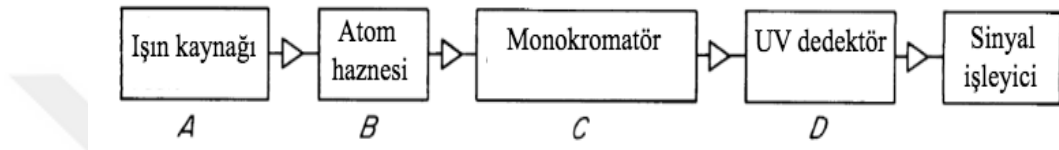
### 3.3 Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS)

AAS'nin temel çalışma prensibi oldukça yalındır. Oyuk katot lambası (OKL) katot materyalinin spesifik ışınını yayması sonucu yüksek oranda rezonans radyasyon içeren bu ışın elektronik veya mekanik olarak analite gönderilir. Analit atomları ısı vasıtasıyla atom haznesinde üretilir.

Deneyisel koşullar altında daha yüksek oranda bulunan temel enerji düzeyinde ki atomlar, lambadan gönderilen rezonans ışınını absorplar ve gelen ışın şiddetini azaltır. Monokromatör, rezonans hattını izole eder ve ışının fotoçoğaltıcıya düşmesini sağlar. Böylece elektriksel sinyal üretilir. Elektronik birimler, ışın kaynağından çıkan ışına

seçici olarak ayarlanmıştır. Son olarak, elde edilen elektronik ürünün analit atomlarının absorpsiyonuna doğru orantılı olacak biçimde sinyal işlemi gerçekleşir [31].

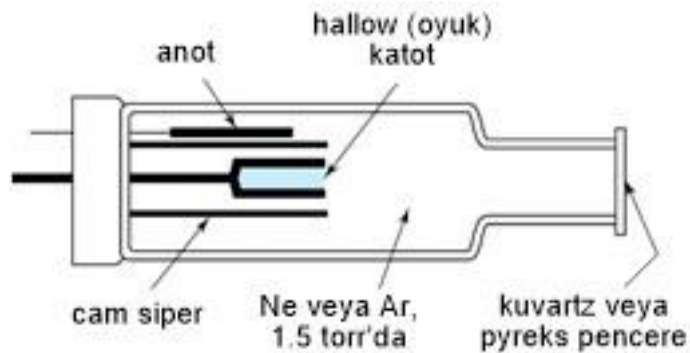
Şekil 3.2’de gösterildiği üzere AAS’nin genel bileşenleri: spesifik dalgaboyunda (analiz elementinin absorplayacağı) ışımaya yapan bir ışın kaynağı, örnek çözeltisi içindeki analiz elementini atomik gaz buharı bulutu haline getiren bir atomlaştırıcı, çalışılan dalga boyunu diğer dalga boylarından ayıran bir monokromatör, ışın şiddetini ölçen bir dedektör ve sinyal işlemcisidir [32].



Şekil 3.2 : AAS’nin şematik gösterimi [29].

### 3.3.1 Işık kaynakları [33-35]

**OKL :** OKL, AAS için kullanılan en yaygın ışın kaynağıdır. Genellikle, çoğu element için 0.01 Å’dan daha düşük dar bir hat genişliğine sahiptir. Şekil 3.3, tipik bir OKL’nı göstermektedir.



Şekil 3.3 : OKL yapısı [34].

Bu lambalar, 1-5 torr basınçta Ar veya Ne ile doldurulmuş bir cam tüp içerisinde bir tarafı kapalı silindirik katot ve tungsten anottan ibarettir. Katot, analizi yapılacak olan

elementten yapılmıştır. Elektrotlar arasında 300 V civarında bir potansiyel uygulandığında, lamba içerisindeki inert gaz atomları iyonlaşır. Böylece ortamda iyonlar ve elektronlar oluşur. Bu iyonlar ve elektronlar elektrotlara göç ederken 5-15 mA'lık bir akım oluşur. Potansiyel farkı yeterli ise, yüksek hızla katoda çarpan katyonlar, katot yüzeyindeki metal atomlarından bazılarını koparıp gaz fazına geçirir (uyarır). Bu sürece sıçratma denir. Uyarılan atomlar, temel enerji haline dönerken, katot elementine özgü dalgaboyundaki karakteristik ışını yayarlar. Daha sonra, metal iyonları geri katot yüzeyine difüzlenir. İncelenen her element için o elemente özgü OKL yerleştirilmesi gerekir [34].

**Elektrotsuz boşalım lambaları:** As, selenyum (Se), kalay (Sn), Pb gibi metaller için uzun ömürlü, stabil bir OKL elde etmek zordur. Bu yüzden, bu ve diğer elementler için elektrotsuz boşalım lambaları kullanılmaktadır [35].

**Buhar boşalım lambaları:** Na ve potasyum (K) OKL'ları genellikle yetersizdir. Buhar boşalım lambaları bu elementlerin analizi için kullanılabilir. Ancak, buhar boşalım lambaları AAS'de pek tercih edilmemektedir.

**Sürekli ışık kaynakları:** Atomlar çok dar bir dalgaboyu aralığında absorpsiyon yaptıkları için, sürekli ışık kaynağının yaydığı geniş dalgaboyu aralığındaki ışımanın atomlar tarafından absorplanan miktarı ölçülemeyecek kadar küçüktür. Bu nedenle, sürekli ışık kaynaklarının AAS'de kullanımı pek tercih edilmemektedir.

### 3.3.2 Atomlaştırıcılar [35-42]

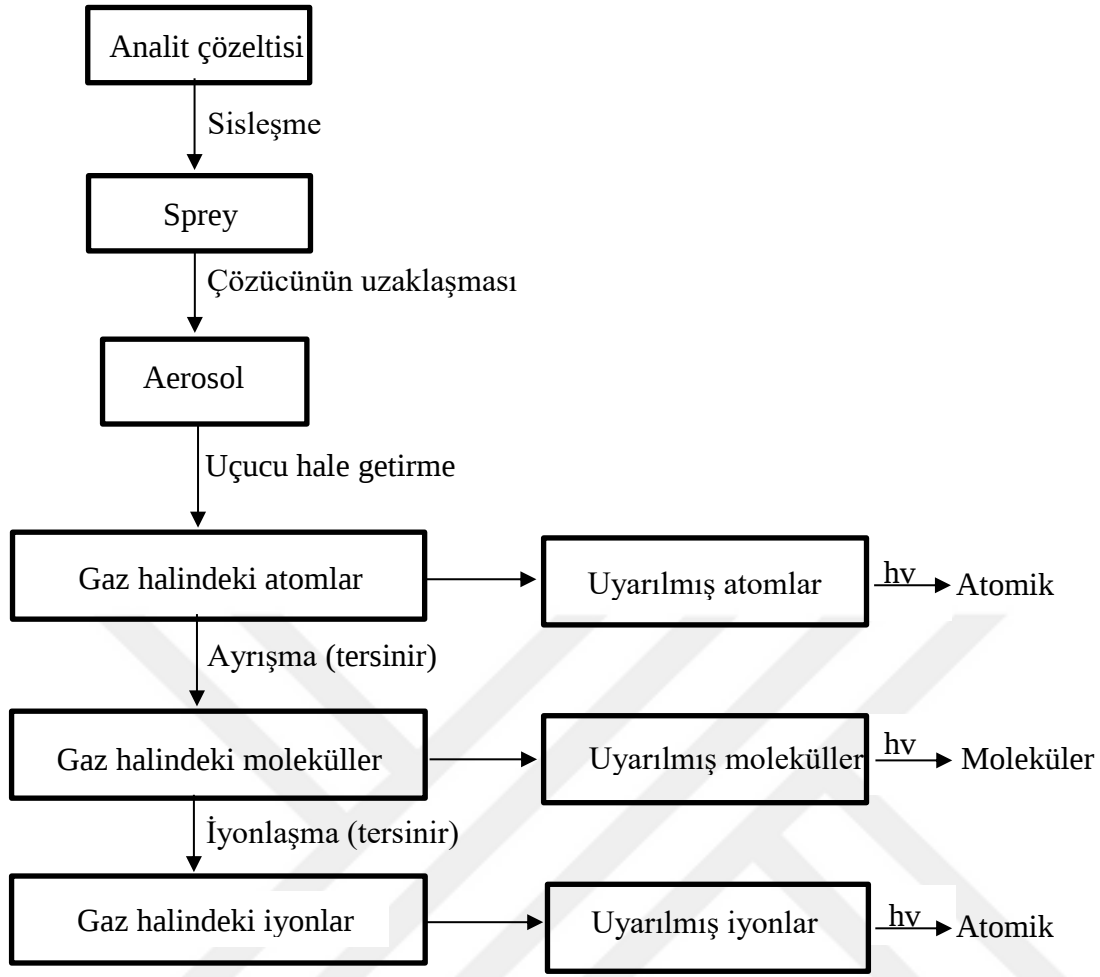
Atomik absorpsiyon gerçekleştirilmesi için, ilgilenilen elementin temel halde serbest atomlarının bulunması gereklidir. Serbest atomların oluşumu atomlaştırma da gerçekleşir ve bu işleme atomizasyon denir. Çok çeşitli ticari atomlaştırıcılar bulunmaktadır. Bunlar arasında en çok kullanılanları alevler ve fırınlardır.

#### 3.3.2.1 Alevli atomlaştırıcılar

Günümüze kadar AAS için en kullanışlı atomlaştırma kaynağı alevdir. Nebülizatör tarafından püskürtülen sıvı sis, alev içerisine girerek ön karışım odasında son damlacığına ayrılana kadar işlem devam eder. Üretilen bileşenler alevin daha sıcak bölgesine doğru ilerler. Bu bileşenler, küçük katı parçacıklar olarak toplanırlar ve

kayda değer bir basınca ulaşana kadar buharlaştırılırlar. Moleküller alevin daha sıcak bölgelerine geçtikçe, atomlara parçalanırlar. Şekil 3.4’de alevle atomlaşma şematik gösterimi açıklanırsa; İlk olarak numune çözeltisi yanıcı gaz ile karışan yükseltgen gaz akışıyla atomlaşmanın olduğu bir alev içine taşınır ve püskürtülür. Önce çözücü uzaklaşır ve çok ince dağılmış bir moleküler aerosol oluşur. Bu olaya ‘çözücünün uzaklaşması’ denir. Sonra bu moleküllerin çoğunun ayrışması sonucu bir atomik gaz oluşur. Oluşan atomların çoğu, katyonlar ve elektronlar vermek üzere iyonlaşır. Alevin ısıyla molekül, atom veya iyonların bir kısmı uyarılır. Bu nedenle, atomik, moleküler ve iyonik emisyonlar oluşur. Yanıcı ve yükseltgen gaz çeşitlerine göre çeşitli alev tipleri bulunmaktadır. Çizelge 3.1’ de gösterildiği üzere, ulaşılmak istenilen atomlaştırma sıcaklığına göre yanıcı ve yükseltgen gaz seçilmektedir. Yükseltgen olarak hava kullanıldığında, çeşitli yanıcı gazlarla 1700-2400 °C sıcaklıklar elde edilmektedir.

Yanma hızı Alevli AAS’ de çok önemlidir. Çünkü, alevler sadece belirli bir gaz akış hızında kararlıdır. Gaz akış hızı yanma hızını aşmazsa, alev bek içinde kendi kendine geriye gider. Akış hızı arttıkça, akış ve yanma hızlarının eşit olduğu noktaya ulaşmaya kadar alev yükselir ve sonunda bekin söndüğü noktaya ulaşılır. Bu faktörler, yanıcı/yükseltgen karışımının akış hızını kontrol etmenin önemini gösterir.



**Şekil 3.4 :** Alevde atomlaştırma sırasında oluşan süreçler [42].

**Çizelge 3.1:** Alevli AAS’de alev türleri [35].

| Yanıcı Gaz | Yakıcı Gaz    | Maksimum Sıcaklık, °C |
|------------|---------------|-----------------------|
| Doğal Gaz  | Hava          | 1800                  |
| Propan     | Hava          | 1900                  |
| Hidrojen   | Hava          | 2000                  |
| Asetilen   | Hava          | 2300                  |
| Hidrojen   | Oksijen       | 2700                  |
| Hidrojen   | Azotprotoksit | 2650                  |
| Propan     | Azotprotoksit | 2650                  |
| Asetilen   | Azotprotoksit | 2800                  |
| Asetilen   | Oksijen       | 3100                  |

### 3.3.2.2 Elektrotermal atomlaştırıcılar [43]

Modern elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometresi (ETAAS), birçok safsızlık elementleri içeren oldukça farklı materyal ve bileşenlerin oldukça düşük gözlenebilme sınırında (20µl) çok yüksek güvenilirlik ile tayin edilmesini sağlar. Aynı zamanda yöntemin avantajları arasında yüksek hassasiyet ile belirlenmesi, küçük numune porsiyonları (ng/mL), birçok element ayırma yöntemiyle iyi uyumluluk ve ön konsantrasyon, katı numuneler için doğrudan analiz imkânı ve orta düzeyde teknik destek maliyeti bulunmaktadır.

Belirtilen avantajlara rağmen grafit fırın, alev tekniğinin yerini her zaman alamaz. Daha pahalı, daha yavaş, ısıtma için ayrı bir güç kaynağı gerektirmesi grafit fırını bu durumlarda dezavantajlı kılmaktadır. Ayrıca, eğer örnek yüksek konsantrasyonda element içeriyorsa ve çözelti halinde ise bilinen alev teknikleriyle tayin yapmak daha doğrudur.

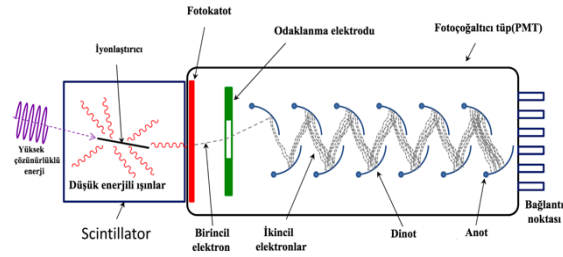
### 3.3.3 Monokromatörler [44,45]

Monokromatörler, ilgilenilen dalga boylarını içi boş katot lambasından yayılan geniş dalga boyu spektrumundan izole etme işlevini yerine getirir. İki yarık (bir giriş ve çıkış), bir dalga boyuna ayırma bileşeni (hemen hemen daima şebeke) ve yardımcı optik bileşenlerden oluşur. Giriş ve çıkış yarıkları, ışın kaynağından çıkarak monokromatöre giren ve dedektör üzerine düşen ışın oranını kontrol eder. Işık yoğunluğu hat genişlemesini engellerken, mümkün olduğunca parlak olacak şekilde optimize edilmiştir.

Monokromatörler, diğer spektrometrik yöntemlere kıyasla AAS' de çok önemli bir konuma sahip değildir. Çünkü, kullanılan OKL elemente özgü tek dalga boylu ışık sağlamaktadır. Ancak buna rağmen yine de monokromatör bulunmaktadır. Böylece, atomlaştırıcı ortamında meydana gelen farklı dalga boylarındaki ışımların girişimini önlenir.

### 3.3.4 Dedektörler

Dedektör, çevresindeki basınç sıcaklık, elektriksel yük, elektromanyetik ışın, nükleer ışın, tanecikler veya moleküller gibi parametrelerden birinin değişmelerini algılayan, kaydeden ve gösteren mekanik, elektriksel veya kimyasal düzendir. AAS’ de kullanılan en yaygın dedektör Şekil 3.5’de gösterildiği üzere fotoçoğaltıcı tüptür [46].



Şekil 3.5 : Fotoçoğaltıcı tüp şematik gösterimi [46].

### 3.3.5 AAS uygulama alanları [47]

AAS, çevre kimyası, yiyecek teknolojisi, eczacılıkta, petrokimyada, jeokimyasal, biyolojik izleme, tarımda, nanomateryaller ve patoloji gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

## 4. ÇALIŞMA KAPSAMINDA BİLGİ

### 4.1 Hap

Hap, kimyasal formülü  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  olan ve altıgen kristal yapılı bir kalsiyum fosfat mineralidir [48]. Biyomedikal enjeksiyon yüzeyinde büyümeye olumlu katkısı nedeniyle kemiklerin ana bileşenidir [49]. Diğer kalsiyum fosfatlarla karşılaştırıldığında Hap'in en öne çıkan özelliklerinden biri stabilitesidir. Biyoyumluluk, biyoaktivite, osteokondüktiflik özellikleri nedeniyle sıcaklık, pH ve vücut sıvı kompozisyonu gibi koşullara dayanıklıdır [50]. Son yıllarda biyokütleyle olan ilginin artmasıyla birlikte, atık kemiklerden elde edilen Hap'in kullanımı da artmıştır. Hap'in suda çözünmeyen ve oldukça reaktif yapısı sayesinde bu tür ağır metal iyonlarını sulu çözeltilerden uzaklaştırabildiği rapor edilmiştir [51].

Ghedjemis ve ark. (2022), doğal Hap'i biyoadsorban olarak kullanarak atıksulardan ağır metal giderimi çalışmıştır [52]. Watanabe ve ark. (2021), Uranyum (VI) biyosorpsiyonu için Hap'i kullanmıştır [53]. Nayak ve ark. (2021), sentetik Hap, midye ve yumurta kabuklarından, tavuk kemiklerinden elde edilen Hap'i kullanarak atıksulardan Pb, Cd, Zn ve Sr ağır metallerinin gideriminin yüksek adsorpsiyon kapasiteleriyle gerçekleştiğini bulmuşlardır [54]. El-Nagar ve ark. (2020), atıksulardan ağır metal ve mantarların Hap ile giderilmesi üzerinde araştırma yapmışlardır [55].

Diğer yandan, Hap'in çözünübilirliği ve parlaklığı doğrudan ya da genel kullanımını sınırlamaktadır. Bu negatif etki, farklı modifikasyon ve sentez yöntemleriyle ortadan kaldırılmaya çalışılmaktadır. Örneğin, Gilbert ve ark. (2021), Hap'i kalsit tozu ile modifiye ederek atıksulardan ağır metal giderimini incelemişlerdir [56]. Li ve ark. (2022), manyetik Hap'in atıksulardan Pb giderim kapasitesini araştırmışlardır [57]. Bazargan ve ark. (2014), sulu çözeltilerden Cu giderimi için kitosan-Hap kompozitini kullanmışlardır [58]. Yapılan araştırmalar sonucu modifiye edilmiş Hap'in daha yüksek bir adsorpsiyon kapasitesi ile ağır metal giderdiği kanıtlanmıştır.

Bu sayede farklı katyonik veya anyonik kirleticilerin giderilmesi için yüksek sorpsiyon kapasitesine sahip olan malzemeler elde edilmekte ve membran sistemlerinde kullanılmasına imkan sağlamaktadır. Ancak bu gibi farklı modifikasyon yöntemleri

yüksek sorpsiyon kapasitesi sağlaması gibi avantajının yanında başka bir sorun ortaya çıkmaktadır. O da azotlu bileşikler gibi yaşayan sistemlerin canlılığını tetikleyen bileşiklerin kullanılmasından kaynaklı biyolojik risklerdir (Foroutan et al. 2021; Hubadillah ve ark 2020; Ahmed ve ark 2020; Elsayed ve ark 2020; Vinayagam et al. 2022; Granito ve ark 2018; Ofudje ve ark 2018; Han ve ark 2022a; Han ve ark 2022b; Costa-Pinto ve ark 2021) [59-63]. Ayrıca, bugüne kadar yapılan çalışmalarda sentezlenen yapının biyolojik riskleri ortaya konmamış, sadece modifiye edilme özellikleri ya da kirletici giderim mekanizmaları incelenmiştir.

## **4.2 Hap Modifikasyonu**

### **4.2.1 Nişasta**

Nişasta ( $C_6H_{10}O_5$ )<sub>n</sub>, glikoz monomerleri arasında bir araya gelmek üzere 1,4 bağa sahip, doğal olarak oluşan bir polisakkarittir [64]. Göreceli bolluğu ve bozulmamış formda kolayca izole edilebilmesi nedeniyle en önemli biyo-yenilenebilir malzemedir. Bu nedenle, glikoz şurupları, yüksek fruktoz şurupları, farklı molekül ağırlıklarına sahip maltodekstrinler, siklomaltodekstrinler, D glusitol (D sorbitol) geliştirilmesi ve etanol, asetik asit, D laktik asit hazırlanması ve fermantasyon yoluyla organik bileşikler eldesi gibi birçok kullanım alanına sahiptir [65]. Nişastanın yüksek katımlı ve değiştirilebilir hidroksil gruplarının farklı fonksiyonel gruplarla değiştirilmesi kullanım alanını genişletmektedir. Atıksulardan ağır metalleri ve boyaları uzaklaştırma özelliğine sahiptir. Ayrıca modifiye nişastanın ağır metallere doğal forma göre daha yüksek adsorpsiyon potansiyeline sahip olduğu bildirilmektedir [66].

### **4.2.2 L- sistein**

L-sistein ( $C_3H_7NO_2S$ ), proteinlerin öncüsü olan amino asitlerin ana birimlerinden biridir [67]. İnsan vücudunda birçok biyolojik fonksiyonu devreye sokan -SH grupları nedeniyle oldukça reaktiftir. Ayrıca karboksil (-COOH) ve amin (-NH<sub>2</sub>) grupları metallere etkin bağlanma kapasitesi sağlar [68]. Bu nedenle doğal veya değiştirilmiş formları ağır metal adsorban olarak kullanılmaktadır.

Dişbudak ve ark. (2002), metal afinite kromatografisi ile sisteinin ağır metal adsorpsiyon özelliklerini incelemiştir [69]. Zhou ve ark. (2017), MnFe<sub>2</sub>O<sub>4</sub> nanokristal

kümelerini L-sistein ile modifiye ederek ağır metal adsorpsiyon kapasitelerini araştırmıştır [70]. Fan ve ark. (2015), Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparçacıklarının yüzeyini L-sistein ile kaplatarak atıksulardan ağır metal giderim kapasitesini ölçmüşlerdir [71].

### 4.3 Bakteriyel Etkileşim

#### 4.3.1 *S.aureus*

*S.aureus*, doğal veya antropojenik kaynaklar yoluyla çevresel sistemlerde bulunarak ekosistemde ve insan sağlığında kritik roller oynamaktadır. Örneğin; *S.aureus* cilt enfeksiyonlarına, apselere ve ayrıca yaşamı tehdit eden hastalıklara neden olur [72]. Yüksek sıcaklıklara, kurumaya, aşırı pH'a, yüksek tuzluluğa, antibiyotiklere ve dezenfeksiyon tedavilerine dayanabilme özelliğiyle sporojenik olmayan en dirençli bakterilerden biri olarak kabul edilir. Ayrıca, bu fırsatçı patojenin yüksek tuzluluk seviyelerinde yüksek hayatta kalma kapasitesi nedeniyle deniz suyu koşullarına daha yüksek düzeyde uyum sağlamasıyla deniz suyu kalitesini etkilediği gözlemlenmektedir [73].

Ek olarak, *S.aureus* direnci, doğal çevredeki değişiklikler ve antropojenik faaliyetler nedeniyle artmaktadır. Örneğin, atık su arıtımı, ilaç üretimi ve tarımsal atıklar, antibiyotik kullanımı nedeniyle insanların veya hayvanların sindirim sistemlerinde seçilen büyük miktarlarda antibiyotik kalıntısı ve dirençli *S.aureus* bakterilerinin salınmasına neden olur. Klinik açıdan önemli olan bu bakteri, daha dirençli olduğunda daha yüksek hastalık ve ölüm oranına neden olarak topluma büyük maliyetler getirebilir [74]. Bu nedenle, *S.aureus* ile çevrede ortaya çıkan kirleticilerden biri arasındaki etkileşimin anlaşılması önemlidir.

#### 4.3.2 *P.aeruginosa* [75]

*P.aeruginosa*, toprak, çökeltiler ve su dahil olmak üzere çevresel sistemler ve çeşitli bitki ve hayvanlarla birlikte bulunan gram negatif fırsatçı patojenler arasında en sık görülenlerden biridir. Çalışmalar *P.aeruginosa* 'nın dikkate değer derecede uyarlanabilir ve metabolik olarak çok yönlü olduğunu göstermektedir [76]. Üstelik bu bakteri antibiyotiklere karşı dirençli olup çeşitli insan enfeksiyonlarından da

sorumludur. Ayrıca, biyofilm oluşturma yeteneği de içermektedir [77]. *P.aeruginosa*, toprak parçacıkları, bitki kökleri, yaprakları, insan dokuları (cilt, gözler, akciğerler ve fomitler) da dahil olmak üzere hemen hemen tüm yüzeylerde biyofilmler oluşturur [78].

Deniz ortamında biyofilm oluşumunu başlatarak, su ürünleri yetiştiriciliği ve denizcilik endüstrisinde yüzyıllardır küresel bir sorun olan biyolojik kirlenmeye ve biyolojik korozyona neden olmaktadır. Sürtünmeyi ve enerji tüketimini artırarak metal korozyonunu teşvik etmektedir [79]. Biyofilm üretim yeteneği nedeniyle, *P.aeruginosa* endüstriyel biyolojik kirlenme/biyofilm çalışmaları için model bir bakteridir [80,81].

#### 4.3.3 Bakteriyel canlılık (aktivite), biyofilm oluşumu ve oksidatif stres

Bakteriyel canlılık (aktivite), 'yaşayabilir' ve 'yaşayabilirlik' canlı, cansız veya soyut varlıkların genel olarak kabul edilen (ancak nadiren belirtilen) bir süre boyunca hayatta kalacağını ve çoğaltma kapasitesinin korunmasını yansıtır. Mikrobiyolojide, tek tek hücrelerin yaşam süresi nadiren dikkate alınır ve söz konusu zaman çerçevesi genellikle birkaç nesli kapsar [82]. Bakteriyel canlılık ölümü, bakterilerin tüm hayati fonksiyonlarının durması ve dolayısıyla büyüyemeyen bir hücre ortaya çıkmasıdır. Ancak ölü hücreler ikincil metabolitler üretebilir ve diğer hücrelerin büyümesini teşvik eder [83].

Biyofilmler 'bakterilerin sabit topluluklarıdır' ve hücre dışı polimerik maddelerle çevrili yüzeye bağlı mikrobiyal hücrelerin bir kolonizasyonudur. Bu filmler, çevresel bölmeler ve insan akciğerlerinden su borularına kadar hem doğal hem de mühendislik sistemlerinde her yerde bulunur. Biyofilmler, patojenlerin veya toksik veya toksik olmayan maddelerin transferi, antimikrobiyal tolerans ve sanitasyon da dahil olmak üzere bir dizi küresel, toplumsal, çevresel ve insan sağlığı sorunlarının hem nedeni hem de tedavisi olabilir [84].

Biyofilm oluşumu birkaç aşamadan oluşan gelişimsel bir süreç olarak ortaya çıkmaktadır [85]: (i) yüzeydeki organik moleküllerin adsorpsiyonu, yüzeyin fiziksel kimyasal özelliklerini değiştiren ve bakteriyel yapışmayı etkileyen bir yumuşatıcı film oluşturur, (ii) bakteriyel hücrelerin bir konakçıya yapışma sürecini başlattığı veya hücre yüzeyi yapışkanları aracılığıyla bir biyomateryalin yüzeyine bağlandığı ilk yapışma; (ii) bakterilerin hücre dışı polimerik maddeleri (EPS) bölmeye ve üretmeye başladığı, bağlanmayı güçlendirdiği ve bakteri hücrelerini çevreleyen matrisi ürettiği

ilk biyofilm oluşumu; (iii) hücreler tarafından üretilen EPS'nin koruma sağlayan ve heterojen kimyasal ve fiziksel mikro ortamların gelişmesine izin veren karmaşık bir üç boyutlu yapı oluşturduğu biyofilm olgunlaşması; ve son olarak (iv) dağılma, hücrelerin biyofilmden ayrılıp planktonik duruma yeniden girmeleri ve böylece aynı yüzeylerin veya yeni mevcut yüzeylerin diğer bölgelerini kolonize edebilmeleridir.

Biyofilm oluşumu, ciddi sağlık tehlikesi taşıyan su kaynaklı fırsatçı patojenik veya patojenik bakterilerin potansiyel salınımı nedeniyle içme suyu şebekelerinde önemli bir zorluk oluşturmaktadır. Ayrıca bu birikintiler, su kalitesinde değişikliklere neden olabilir, yüzeydeki korozyon oranını artırabilir ve yüzeydeki sıvı sürtünme direncini artırabilir [86]. Tatlı su ortamlarında bulunan biyofilmler, çeşitli bakteri barındırmakla birlikte balıklar için patojendir ve balıklarda columnarise, anormal yüzme davranışına, kilo kaybına, şişmeye ve karaciğer granülomlarına yol açabilir [87]. Ek olarak, karmaşık genetik yapıları, çevreyle ilişkileri ve antibiyotik direnci nedeniyle *S.aureus* biyofilmlerinin insan hastalıklarıyla ilişkisinin anlaşılmasına artan ilgi odaklanmıştır [88].

Bakterilerin çeşitli kontaminant ya da parçacıklarla etkileşimi (i) Nanoplastik (NP)'ler ve hücre zarfının bileşenleri (örn. ROS, çözünmüş iyonlar) arasındaki kimyasal etkileşimler, (ii) NP'ler ile hücre zarfı yapısı arasındaki fiziksel etkileşimler (örn. NP'lerin içselleştirilmesi, elektrostatik etki, aşınma) ve/veya (iii) fiziksel ve kimyasal etkileşimlerin bir kombinasyonu gerçekleşebilmektedir. Bu etkileşim sonucu reaktif oksijen türlerin (ROS) oluşmasıyla bakteri aktivitesinde azalış gerçekleşmektedir [89]. ROS'ların oluşmasıyla sistemi koruyan antioksidan türler azalmakta ya da antioksidan türlerin dengesi bozulmaktadır. Antioksidan sistem oksidatif stres sürecine direnmede önemli bir rol oynar ve katalaz, glutatyon redüktaz ve SOD dahil olmak üzere enzimatik ve enzimatik olmayan yollar içerir. [90].

Oksidatif stres, herhangi bir nedenle serbest radikal üretiminin, detoksifikasyon oranından fazla olduğu durumlarda gelişmektedir. Bu koşullar altında oluşan serbest radikaller her türlü hücresel bileşeni değiştirebilir [91]. Çökeltilerdeki çeşitli kimyasal veya kirleticiler, kirletici maddelerden sedimanter ortama sızan sular oksidatif stres kaynağı olarak görev yapabilir. Tek ve çok fonksiyonlu karboksilik asitler ve hidroksi türevleri gibi bazı ROS oluşumu ana aktif oksitleyici türlerdir. Azot ve kükürt türleri dahil olmak üzere diğer reaktif türlerin de ROS bileşeni olduğu ve ROS ile güçlü

ilişkilere sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle ROS oksidatif etkilerde anahtar oyunculardan biri olarak kabul edilmektedir [92].

Antioksidanlar, diğer moleküllerin oksidasyonunu önleyebilen veya yavaşlatabilen maddelerdir. Antioksidan, (i) Serbest radikalleri yakalayarak zincir reaksiyonunu sonlandırarak, (ii) metal iyonunu şelatlayarak ve reaktif oksijen türleriyle reaksiyonu önleyerek veya (iii) metali şelatlayarak ve onu redoks durumunda tutarak moleküler oksijeni azaltmadaki yetersizliğine yol açarak metal toksisitesine karşı koruma sağlayabilir [93].

Antioksidan aktivite, evrim sırasında çoğu bakteri enzimatik savunmaya (örn. SOD) sahip olup onları oksidatif strese karşı koruyacak onarım sistemleridir [94]. Ancak çevresel stres altında, ROS seviyeleri önemli ölçüde artabilir ve bu oksidatif süreçte hücre yapılarında önemli hasarlar meydana gelebilir. Bu süreçte, ROS gelişerek hücre zarı içindeki lipitler de oksidatif olarak bozularak hücre hasarına ve sonunda hücre ölümüne yol açabilir [95]. ROS'un ana hedefi protein ve lipitler gibi makromoleküllerdir. Ayrıca, oksidatif hasar proteinleri dengesizleştiren ve etkisiz hale getiren kovalent modifikasyonlara neden olabilir [96].

LPO aktivitesi, bir mikroorganizmanın belirli bir kirletici maddeye maruz kaldığında maruz kaldığı oksidatif stresi ölçmek için önemli bir parametredir [97].

SOD, doğada çeşitli türlerde incelenmiş olup bakterilerden insanlara tüm organizmalarda bulunan, en çok çalışılan enzim ailelerinden biridir. Enzimin bakteriler içindeki nispeten iyi tanımlanmış savunma fonksiyonlarının yanı sıra konakçı tarafından üretilen çeşitli reaktif oksijen türlerinin (ROS) toksik seviyelerini nötralize etme kapasitesi sağlar [98]. Süperoksit anyon radikalleri, hidroksil radikalleri ve hidrojen peroksiti içeren ROS, oldukça aktif oksijensiz radikallerden biridir [99].

## 5. DENEYSEL KISIM

### 5.1 Tez Çalışmasında Kullanılan Cihazlar

**AAS:** Pb, Cu ve Cr tayini için FAAS (Varian Inc., Australia) kullanılmıştır. Atomlaşma işlemi yanıcı gaz olarak asetilen ve yakıcı gaz olarak hava kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Manuel olarak örnek bölmesine yerleştirilen numuneler peristaltik pompa yardımı ile alev bölümüne gönderilmiştir. Spektral ışın kaynağı olarak Pb, Cu ve Cr OKL kullanılmıştır. Dalga boyu, slit aralığı, lamba akımı gibi aletsel parametreler Çizelge 5.1’de verilmiştir.

**Çizelge 5.1 :** Pb, Cu ve Cr OKL’lerinin akım değerleri, dalga boyları ve slit aralıkları.

| Element | Lamba Akımı (mA) | Dalga boyu (nm) | Slit aralığı (nm) |
|---------|------------------|-----------------|-------------------|
| Pb      | 10               | 217.0           | 0.5               |
| Cr      | 10               | 357.9           | 0.5               |
| Cu      | 4                | 324.8           | 0.5               |

**Elisa:** Bakteriyel etkileşim deneylerinde Elisa (Thermo Scientific MULTISKAN GO, Finland) cihazı kullanılmıştır.

**pH metre:** Deneylerde kullanılan çözeltilerin pH ölçümlerinde WTW Series pH 340-A/SET2 marka pH metre kullanılmıştır.

**Ultra saf su cihazı:** Deneylerde kullanılan saf su TKA Smart2 Pure model saf su cihazından temin edilmiştir.

**Santrifüj cihazı:** Santrifüj işlemleri Hettich Rotina 380 R model cihazla gerçekleştirilmiştir.

**Fırın:** Kurutma işlemleri İLDAM EKH-55 marka cihaz kullanılarak yapılmıştır.

**Mikro pipet:** Çözelti hazırlama ve aktarım işlemlerinde Eppendorf marka 20-200 µL, 10-100 µL ve 100-1000 µL arasında ayarlanabilen mikro pipetler kullanılmıştır.

## 5.2 Tez Çalışmasında Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan bütün kimyasal maddeler analitik saflıktadır. Pb, Cu ve Cr tayini için kullanılan çözeltiler 1000 mg/L Pb, Cu ve Cr stok çözeltilerinden (Sigma Aldrich) deiyonize su ile seyreltilerek günlük olarak uygun konsantrasyonlarda hazırlanmıştır. Çözeltilerin pH ayarlamaları 1 mol/L ve 0,01 mol/L NaOH ve 1 mol /L ve 0,01 mol/L HCl kullanılarak yapılmıştır.

## 5.3 Deneyin Yapılışı

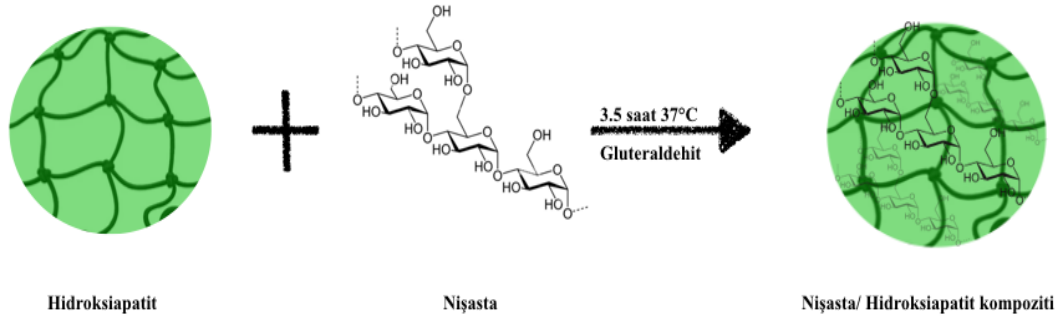
Yapılan çalışmada, iki ayrı sorbent (nişasta-Hap ve L-sistein-Hap) sentezlenerek Pb, Cu ve Cr ağır metallerine bağlanmaları incelenmiştir. Bu amaçla pH, sorbent miktarı ve süre gibi parametrelerin sorpsiyon üzerine olan etkileri incelenmiştir. Ayrıca, bu iki sorbentin iki ayrı bakteri (*P. aeruginosa* ve *S. aureus*) üzerinde biyofilm oluşumu, canlılık, protein sentezi, antioksidan, SOD ve LPO aktiviteleri ölçülerek antibakteriyel özellikleri hakkında bilgi edinilmiştir.

### 5.3.1 Hap sentezi

Hap kaynağı olarak koyun kemikleri mezbahadan (İstanbul, Türkiye) temin edilmiştir. Kemikler 45 dk kaynatıldıktan sonra 3 saat boyunca son sıcaklık 800 °C'ye ulaşınca kadar 5 °C artırılarak kurutma işlemi gerçekleştirilmiştir. Kurutulan kemikler soğutulduktan sonra havan içerisinde toz haline getirilmiştir.

### 5.3.2 Nişasta-Hap modifikasyonu

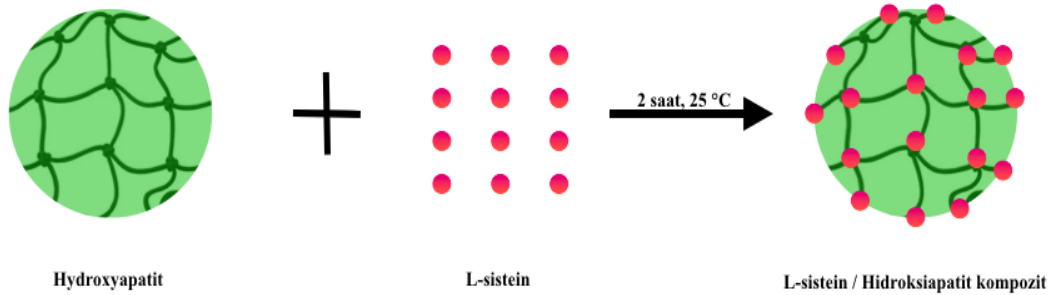
0.50 g Hap tozu 25 mL distile su içerisinde 50 W ultrasonik banyoda 30 dk boyunca dağıtıldı. Ardından 2.50% w/v 25 mL nişasta çözeltisi Hap çözeltisi içerisine ilave edildi. Bağlayıcı olarak 1.25 mL gluteraldehit çözelti içerisine ilave edildikten sonra (37°C, 250 rpm, 3.5 saat) karıştırma işlemi gerçekleştirildi. Elde edilen katı faz süzildükten sonra 24 saat 35°C'ye ayarlanmış fırın içerisinde kurutuldu. Şekil 5.1, Nişasta-Hap kompozitinin şematik yapılışını göstermektedir.



**Şekil 5.1:** Nişasta-Hap kompozit sentezinin şematik gösterimi.

### 5.3.3 L-sistein-Hap modifikasyonu

L-sistein Sigma Aldrich'den temin edilmiştir. 0.50 g Hap 40 mL deiyonize su içerisine ilave edildi. Ardından 0.20 mM 10 mL L-sistein, Hap çözeltisi içerisinde dağıtılarak (oda sıcaklığı, 250 rpm, 2 saat) karıştırıldı. Elde edilen katı faz 35 °C'de 24 saat boyunca kurutuldu. Şekil 5.2'de L-sistein-Hap modifikasyonu şematik olarak gösterilmiştir.



**Şekil 5.2:** L-sistein-Hap kompozit sentezinin şematik gösterimi.

### 5.4 pH Çalışması

pH'ın sorpsiyon üzerine olan etkisinin incelenmesi deneyinde, her metal ve sorbent ikilisi için uygun olan pH değerinin bulunması amacıyla sorpsiyon işlemi pH 4-9 aralığında yapılmıştır. 1000 ppm'lik standart çözeltiden 100 µL alınıp, 100 mL'lik

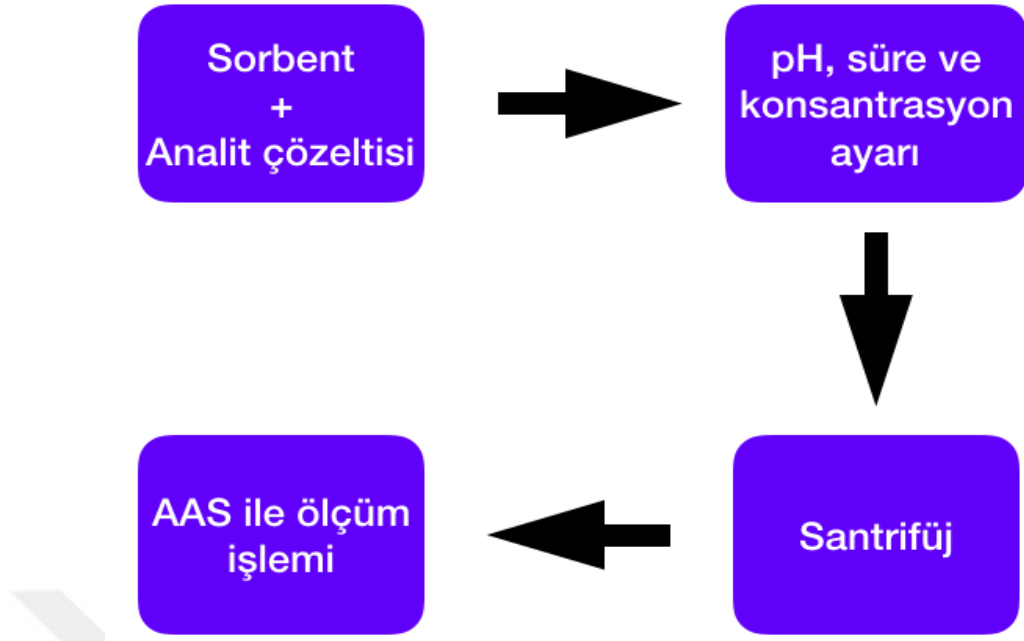
balon jodede saf su ile seyreltilerek 1 ppm'lik ara stok çözelti hazırlanmıştır. Ara stok çözeltiden 20 mL alınarak beher içerisinde 0.10 g sorbent ilave edilmiştir. Çözeltilerin pH değerleri, oda sıcaklığında ( $T=20^{\circ}\text{C}$ ) 1 M ve 0,01M NaOH ve 1 M ve 0,01M HCl ile ayarlanmıştır. pH değerleri 4-9 arasında ayarlanan analit çözeltileri 90 dk boyunca karıştırıldıktan (250 rpm) sonra, 25 mL'lik tüplerde 4.000 rpm'de 5 dk santrifüjlenmiş ve üstteki çözeltilerde sorpsiyon sonucu geri kalan analit konsantrasyonları FAAS'de okunmuştur.

### 5.5 Sorbent Miktarı

Sorbent miktarının sorpsiyona etkisi deneyinde amaç, minimum sorbent miktarı ile maksimum verimin elde edilmesini sağlamaktır. Kullanılan 1000 ppm'lik stok çözeltilerinden 100  $\mu\text{L}$  alınıp, 100 mL'lik balon jodede saf su ile seyreltilerek ara stok çözelti hazırlanmıştır. Ara stok çözeltiden alınan 20 mL'lik çözeltiler içerisine 0.10 g ve 0.20 g arasında değişen sorbentler ilave edilerek 90 dk karıştırma (250 rpm) işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından tüpler 4.000 rpm'de 20 dk santrifüjlendikten sonra çözeltideki metal iyonu konsantrasyonu FAAS'de okunmuştur.

### 5.6 Süre Çalışması

Sürenin sorpsiyon üzerindeki etkisini incelemek üzere, her metal ve sorbent ikilisi için 30 dk, 90 dk, 4 saat ve 24 saat aralıklarında çalışılmıştır. 1000 ppm'lik standart çözeltiden 100  $\mu\text{L}$  alınıp, 100 mL'lik balon jodede saf su ile seyreltilerek 1 ppm'lik ara stok çözelti hazırlanmıştır. Ara stok çözeltiden 20 mL alınarak beher içerisinde 0.10 g sorbent ilave edilmiştir. Ardından yukarıda belirtilen 4 farklı zaman dilimleri boyunca 250 rpm'de karıştırma işlemi gerçekleştirilmiştir. Ardından tüpler 4.000 rpm'de 20 dk santrifüjlendikten sonra çözeltideki metal iyonu konsantrasyonu FAAS'de okunmuştur. Şekil 5.3'te sorbent miktarı, pH ve süre çalışma aşamaları şematik olarak özetlenmiştir.



Şekil 5.3 : Metal tayini için genel prosedür.

### 5.7 Bakteriyel Etkileşim

İki sorbentin iki ayrı bakteri (*P.aeruginosa* ve *S.aureus*) üzerinde canlılık deneyinde, *P.aeruginosa* ve *S.aureus* standart suşlarından alınan bakteri örnekleri sıvı besiyeri ile karıştırılır. Plakanın ilk kuyucuğu kontrol kuyucuğu olacağından ilk kuyucuğa 200 µL bakteri konur. Diğer kuyucuklara sırasıyla 0.10 g ve 0.20 g arasında değişen Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentleri konur ve üzerine 100 µL bakteri eklenir. 24 saat etüvde bekletilir. 24 saat sonunda 620 nm de canlılık okutması yapılır [100].

Canlılık okutmasından sonra, biyofilm oluşumunun incelenmesi için plakanın içerisindeki örnekler tek bir hamlede ters çevrilir ve içerisindeki örnekler atık kabına boşaltılır. Plaka 3 ayrı distile suyun içerisine daldırılır ve yıkanır. 15-30 dk kuruması beklenir. Plakanın tüm kuyucuklarına 200 µL 0,1%'lik  $C_{25}N_3H_{30}Cl$  (kristal viyole) konur. 15-30 dk beklenir. Plaka tek bir hamlede çevrilir ve içerisindeki sıvı atık kabına dökülür. Plaka 3 ayrı distile suyun içerisine daldırılır ve yıkanır. 15-30 dk kuruması beklenir. Her bir kuyucuğa 200 µL  $C_2H_5OH$  konur ve Elisa cihazında 620 nm de biyofilm okutması yapılır [101].

Bakterilerin iki ayrı sorbent ortamında protein sentezinin incelenmesi deneyinde, bakteri çözeltileri sırasıyla 96'lık plaka içerisinde bulunan iki ayrı sorbent üzerine 65 µL konuldu. Üzerlerine Bradford reaktifi eklenerek 595 nm de Elisa cihazında okuma işlemi gerçekleştirildi [102].

Bakterilerin iki ayrı sorbent ortamında antioksidan özelliklerinin belirlenmesi üzere etüvden alınan bakteri çözeltileri, 96'lık plaka içerisinde bulunan iki ayrı sorbent üzerine 25 µL konularak üzerlerine 25 µL 0,01M CuCl<sub>2</sub>, 25 µL 7,5 x 10<sup>-3</sup>M Neucoprain ve 25 µL 1M NH<sub>4</sub>Ac eklenildi. 25 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda Elisa cihazında 450 nm'de okutuldu [103].

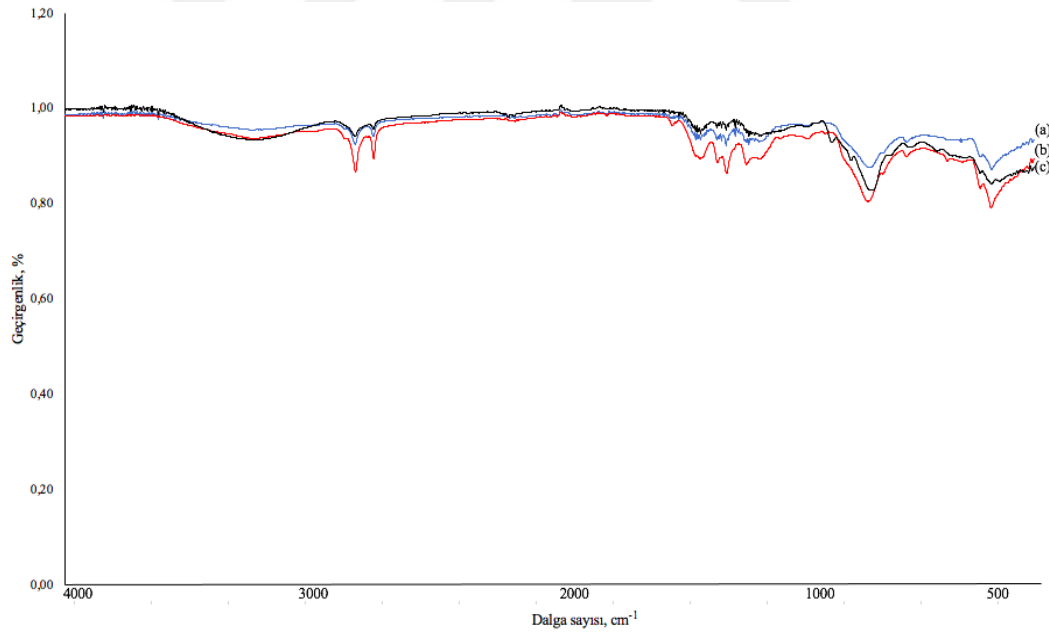
Bakterilerin iki ayrı sorbent ortamında SOD ölçüm deneyinde, temiz bir tüp içerisine her örnek için ayrı olacak şekilde 50 Mm Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (pH=10,20) çözeltisinden 962 µL alındı. Üzerine 15 µL C<sub>40</sub>H<sub>30</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>10</sub>O<sub>6</sub> (Nitro Mavi Tetrazolyum Klorür) , 3 µL 1.6 Mm %10 Triton X-100, 100 Mm 10 µL HONH<sub>2</sub>HCl (hidroksilamonyum klorür) eklenildi. Son olarak bakteri çözeltisinden 50 µL ve iki ayrı sorbent eklenerek karıştırıldı. Hazırlanan örnek karışımlarından 200 µL alınarak 96'lık plakalara konuldu. Elisa cihazında 560 nm'de 5 dk boyunca 1 dk aralıklarla okutuldu [104].

Bakterilerin iki ayrı sorbent ortamında LPO belirlenmesi için, 150 mM 200 µL C<sub>4</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (Tris tamponu, pH=7), 100 mM 100 µL FeSO<sub>4</sub>, 150 mM 100 µL C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>6</sub> (askorbik asit) ve 400 µL bakteri çözeltisi ile iki ayrı sorbent 37 °C'de 15 dk inkübe edildi. Ardından C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S (tiyobarbitürik asit) ilave edilerek 15 dk su banyosunda (100°C) bekletildi. Elisa cihazında 532 nm'de okuma işlemi yapıldı. [105].

## 6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

### 6.1 Hap, Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap Karakterizasyonu

Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) analizi, Hap'ın modifikasyonu sonucu fonksiyonel gruplarındaki fark edilebilir değişiklikleri belirtmek için kullanılmıştır. FTIR spektrumları, Şekil 6.1'de gösterilmektedir. 500 ile 1000  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki keskin pikler,  $\text{PO}_4^{3-}$  fonksiyonel grubuna ait karakteristik bantları temsil etmektedir. 868  $\text{cm}^{-1}$ 'deki pik  $\text{CO}_3^{2-}$  fonksiyonel grubunun varlığını ifade etmektedir. 3570 ile 633  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki uzanımlar hidroksiapatitin karakteristik O-H bantlarına aittir. 2100  $\text{cm}^{-1}$  ve 2145  $\text{cm}^{-1}$ 'deki adsorpsiyon pikleri P-O bağına ve C=C gerilmelerine aittir. Hidroksiapatit ve modifiye hidroksiapatit spektrumları karşılaştırıldıktan sonra, her fonksiyonel grupta yoğunlukların azalması ve bazı piklerin ortadan kalkması ve ortaya çıkmasıyla onaylanmıştır [106].



Şekil 6.1: (a) Hap (b) L-sistein-Hap ve (c) Nişasta-Hap FTIR spektrumu.

### 6.2 Deneysel Şartların Sorpsiyon Üzerine Etkisi

Bu çalışma kapsamında analitler (Pb, Cu, Cr) iki farklı Hap üzerine toplanarak FAAS'de doğrudan tayin edilmiştir. Yüksek verimde sorpsiyon sağlamak için çeşitli

deneyssel parametreler incelenmiştir. Bu aşamada tutunma yüzdesi, analit elementlerini içeren çözelti ve sorbent karıştırılıp sorbent uzaklaştırıldıktan sonra sorbent üzerine tutunmayan analit elementlerinin FAAS ile tayin edilmesiyle dolaylı olarak gerçekleşmiştir.

### 6.2.1 pH etkisi

Sorpsiyon proseslerinde pH en önemli parametrelerdendir. Çözeltinin pH'ı, bağlanma bölgelerinin doğasını ve metal çözünürlüğünü etkiler böylece metallerin çözelti kimyasını, biyokütledeki fonksiyonel grupların aktivitesini ve metalik iyonların rekabetini etkiler. Bu nedenle, en yüksek metal emilimini sağlamak için optimum pH değeri çok önemlidir [107].

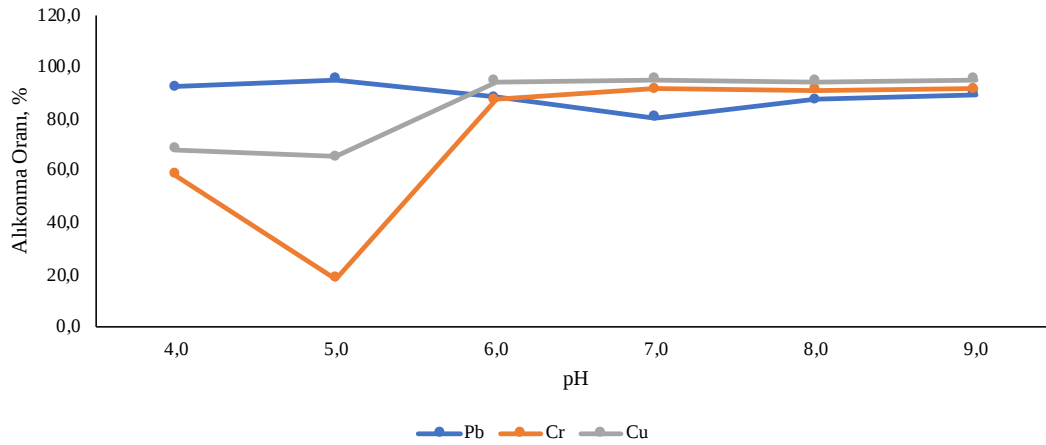
Analit elementlerinin kullanılan sorbentlerde tutunmasına pH etkisi Şekil 6.2'de gösterilmiştir. Şekil 6.2' de gösterildiği üzere Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin Pb, Cr ve Cu ağır metallerine tutulumu sulu ortamın başlangıç pH'ı 4'den 9'a değiştiğinde Cr ve Cu tutunma verimliliği Nişasta- Hap ve L-sistein-Hap sorbentleri üzerinde artmıştır. Şekil 6.2 a'da gösterildiği üzere Nişasta-Hap sorbentinin Cr ve Cu metallerine karşı alıkonma yüzdesi sırasıyla 58.70 %, 68.40 % 'den 91.70 % ve 95.20 % değerlerine ulaşmıştır. Nişasta-Hap sorbentinin üzerine Pb alıkonma yüzdesi ise 92.20 %'den 89.30 %'a düşmüştür.

Şekil 6.2 b'de gösterilen L-sistein-Hap sorbentinin pH 4'den 9'a değiştiğinde Cr ve Cu metallerine karşı alıkonma yüzdesi sırasıyla 48.60 %, 68.7 0% 'den 92.30 % ve 95.10 % değerlerine ulaşmıştır. L-sistein-Hap sorbentinin üzerine Pb alıkonma yüzdesi ise 87.40 %'dan 79.60 %'a düşmüştür. Şekil 6.2 a ve b 'de gösterildiği üzere Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin Cr ve Cu ağır metallerine karşı alıkonma yüzdesi, pH 4'den 5'e şiddetli bir düşüşten sonra yükselmiştir ve pH 6'da sabitlenmiştir. Pb ağır metalinde ise Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin üzerine alıkonmasında pH 4'den 9'a şiddetli bir değişim gözlemlenmemiştir. pH < 7 olduğu ortamlarda düşük adsorpsiyon verimi ortamda bulunan H<sup>+</sup> iyonundan kaynaklanabilir. H<sup>+</sup> iyonu ile ağır metal iyonları arasındaki aktif bölgeye bağlanma rekabeti artar ve böylece işlemin etkinliği azalır [108].

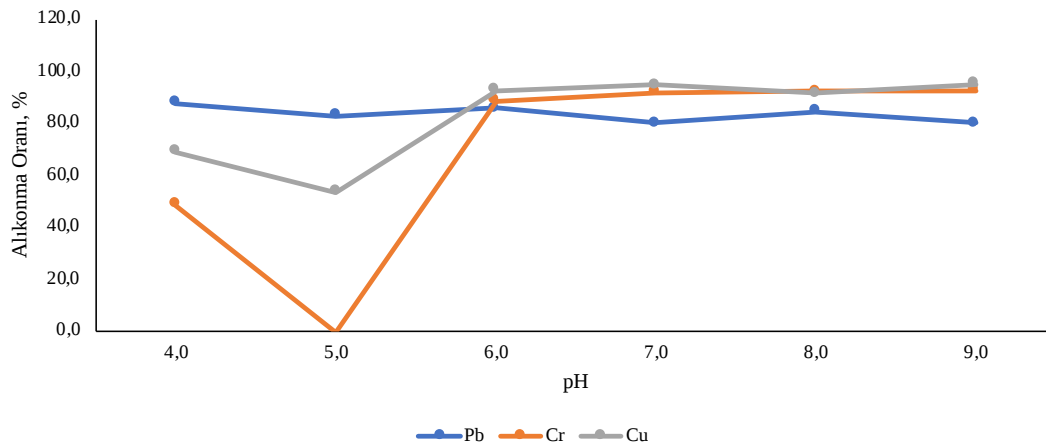
Lee ve ark. (2005) Hap ile Pb, Cr ve Cu ağır metallerinin 80 % giderim kapasitesini pH 6'da belirlemiştir [109]. Liang ve ark. (2011) Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ve Magnezyum ile modifiye edilmiş Hap sorbenti ile maksimum Cu giderimine pH 5.9'da ulaşmıştır [110]. Liu ve ark. (2013) karbon-nanotüp Hap kompoziti ile maksimum adsorpsiyon kapasitesine pH 6'da ulaşmıştır [111]. Cui ve ark. (2014a) Hap sorbenti kullanarak Cu alımının çözelti pH'ı ile Cu alım hızı arasında mevcut olan doğrudan bir ilişki ile güçlü bir şekilde pH'a bağlı olduğunu rapor etmiştir. Spesifik olarak, pH 1.0 ila 5.9 arasında değiştirildiğinde Cu alımının 19.4 %'ten 97.6 %'ya arttığı ve maksimum alımın 5.9 pH'ta meydana geldiği bulundu [112].

Yapılan çalışmalar doğrultusunda pH 3-8 aralığında, pH 6 optimum pH olarak kabul edilmiştir. Daha düşük pH değerlerinde, adsorplayıcı bölgelerde protonasyonun meydana geldiği ve bunun adsorpsiyon seviyelerinde bir azalmaya yol açtığı gözlemlenmiştir. pH 6 değerinde ise yüzey protonasyonu ve adsorbat moleküllerinin çökmesi yoluyla diğer türlerden kaynaklanan girişimlerin önlendiği sonucuna varılmıştır. 7 ve üzeri pH değerlerinde ise adsorpsiyon kapasitesinin azalması, adsorpsiyonun muhtemelen Hap ve metal arasındaki iyon değişimini desteklemeyen çözeltideki artan hidroksil iyon konsantrasyonlarından kaynaklandığı belirtilmektedir [113].

(a)



(b)



**Şekil 6.2 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap üzerine 1,0 mg /L Pb, Cr ve Cu adsorpsiyonunun pH ile değişimi.

### 6.2.2 Sorbent miktarının etkisi

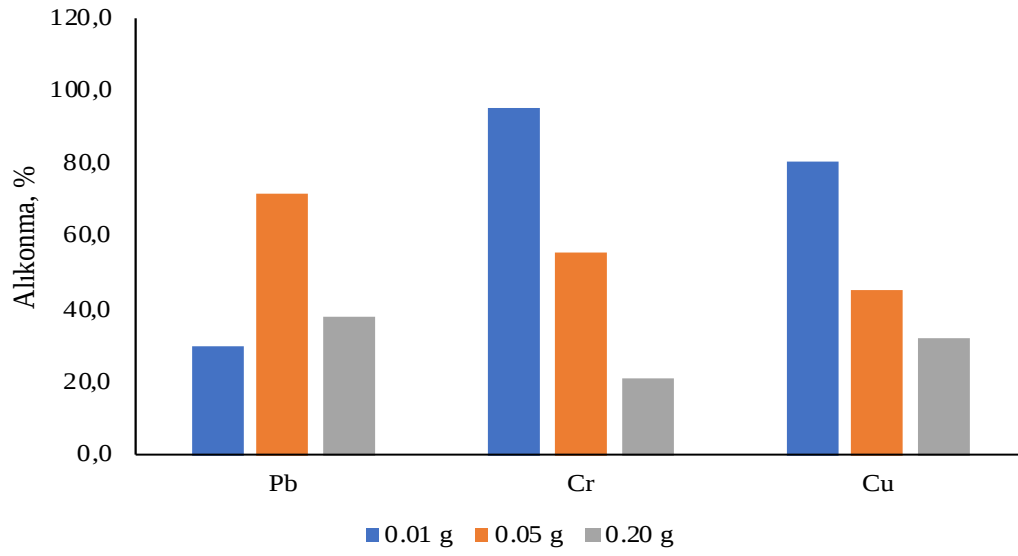
Sorpsiyona etki eden diğer önemli parametrede kullanılan sorbentin miktarıdır. Sorbent miktarını optimize etmek için çeşitli miktarlardaki Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin analit elemanlarına adsorpsiyonu incelenmiştir. Metal iyonlarının tutunduğu sorbent miktarının, alıkonma yüzdelerine karşı grafiği Şekil 6.3’de verilmiştir. Grafiklerdeki alıkonma yüzdeleri incelendiğinde, Nişasta-Hap sorbentinin en yüksek alıkonma kapasitesi 0.01 g’da 95.10 % ile Cr ağır metne karşı

gözlemlenmiştir. Adsorban kütesinin azalmasıyla adsorban kapasitesinin artması adsorpsiyon süresince doymamış bölgelerin varlığı ile ilişkilendirilebilir [108]. L-sistein-Hap sorbentlerinin en yüksek alıkonma kapasitesi ise 0.20 g'da 96.20 % ile Cu ağır metalinde gözlemlenmiştir. Adsorban sayısının artmasıyla Cu iyonlarının artan emilimi adsorban bölgelerinin varlığı ve Cu iyonları için yeterli alanın varlığı ile ilişkilendirilebilir [108].

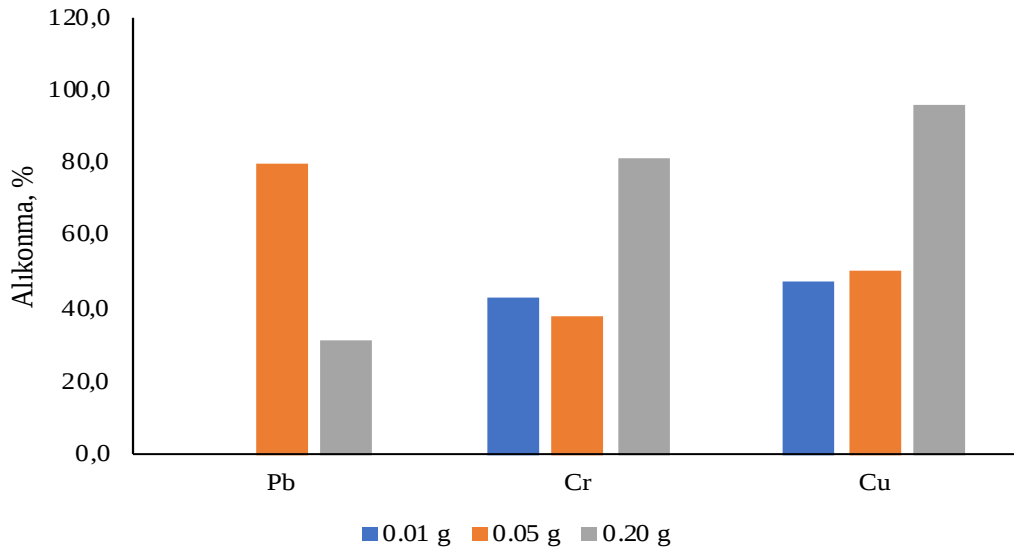
Cui ve ark. (2014a), sorbent miktarı arttıkça Cu iyonlarının Hap üzerine adsorpsiyon verimliliğinin arttığını bildirmiştir. Ancak giderme etkinliği, sorbent miktarı 8 mg'a ulaştıktan sonra stabil kaldığını belirtmiştir [114]. Du ve ark. (2014) mevcut adsorpsiyon bölgelerinin çoğunun doygunluğuna atfetmiştir [115]. Vahdat ve ark. (2019) Hap ve Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> ile modifiye edilmiş Hap adsorban dozajlarının 0,25'ten 1 g/L'ye arttıkça Pb giderimi sırasıyla 61.27 %'den 93.75 %'e ve 68,43-96,11 %'e yükseldiğini rapor etmiştir. 1 g/L adsorban dozajının üzerinde süreç üzerinde gözle görülür bir etki olmamıştır ve bu muhtemelen adsorpsiyon için mevcut sulu çözeltideki Pb iyonu konsantrasyonunun azalmasından kaynaklanmaktadır [116].

Yapılan çalışmalar doğrultusunda Kongsri ve ark. (2013) belirttiği gibi sorbent miktarının artması ile birlikte mevcut aktif sitelerin sayısındaki artış adsorpsiyon kapasitesini artırmıştır [117]. Sorbent miktarının optimum değer üzerine çıkması ile adsorpsiyon kapasitesinin azalması ise çözeltideki ağır metal miktarının doygunluğa ulaşması ile açıklanmaktadır [118].

(a)



(b)



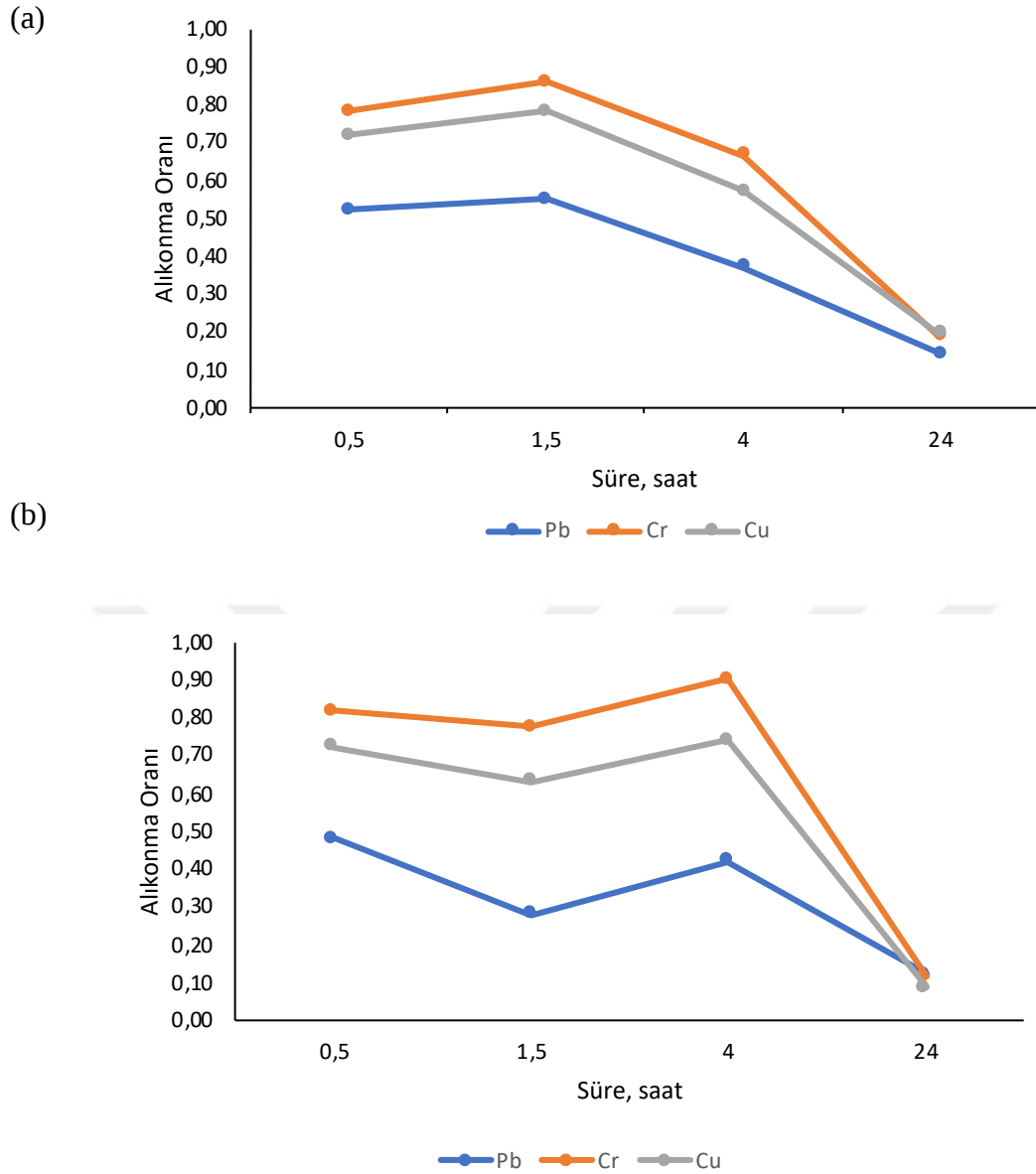
**Şekil 6.3 :**(a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap üzerine 1,0 mg/L Pb, Cr ve Cu adsorpsiyonuna madde miktarı etkisi.

### 6.2.3 Çalkalama süre etkisi

Çalkalama süresinin sorbent performansına ve alıkonmasına olan etkisini görebilmek için Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentleri farklı zaman sürelerince (30 dk, 90 dk, 4 saat ve 24 saat) Pb, Cr ve Cu ağır metallerini (1 ppm) içeren çözeltiler içerisinde çalkalanmıştır. Şekil 6.4 a'da gösterildiği üzere Nişasta-Hap sorbentinin Pb, Cu ve Cr ağır metallerine karşı alıkonma kapasitesi 90 dk'ya kadar bir artış gösterip, ardından artan çalkalama süresi ile birlikte azalmaya geçmiştir. Analitlerin hızla sorbentlere bağlanması işlemin önemli bir avantajdır. Kısa sürede yüksek kapasite sağlanmaktadır. Çalkalama süresi 90 dk'yı geçerse alıkonması düşmektedir. Bunun sebebi olarak; uzun çalkalama sürelerinde, Hap'in yalnız başına ya da nişasta ve L-sistein ile birlikte kabuktan ayrıldığı düşünülmektedir [119]. Şekil 6.4 b'de belirtildiği üzere L-sistein-Hap sorbentinin Pb, Cu ve Cr ağır metallerine karşı en yüksek alıkonma kapasitesi 4 saatte gözlemlenmiştir. Böylece, Nişasta-Hap sorbentinin 90 dk'dan sonra doygunluğa ulaşp, artık daha fazla ağır metal bağlanması için aktif bölgesinin yeterli olmadığı yorumu yapılırken [94], L-sistein-Hap sorbenti ise 4 saatten sonra doygunluğa ulaşmıştır.

Vahdat ve ark (2019) elde edilen sonuçlara göre, giderim verimliliği, temas süresinin 5 dk'dan 40 dk'ya çıkarılmasıyla arttığını, Pb gideriminin büyük bir kısmı (>%70) ilk 15 dk'da gerçekleştiğini rapor etmiştir. Bu gözlem, boş aktif adsorban bölgelerin varlığına bağlanmıştır. Ancak 40 dk sonra adsorpsiyon verimliliği herhangi bir önemli değişiklik olmadan neredeyse sabit kalmıştır [116]. Cui ve ark. (2014b), manyetik nano-kompozit stronsiyum (Sr) ve ferroferrik oksit katkılı Hap kullanarak temas süresini ve Pb adsorpsiyonu üzerindeki etkisini araştırmıştır. Temas süresi 10 dk'ya çıktıkça, Pb giderme verimliliği hızla artmıştır. Temas süresinin yaklaşık 20 dk'ya çıkarılması üzerine, aktif bölgelerin doygunluğunu gösteren adsorpsiyonun düzleştiği gözlemlenmiştir [120].

Yapılan çalışmalar doğrultusunda, temas süresinin artması ile adsorpsiyon kapasitesinin arttığı ve optimum süreden sonra aktif bölgenin doygunluğa ulaşması ile birlikte adsorpsiyon kapasitesinin azaltığı sonucuna ulaşılmaktadır.



**Şekil 6. 4 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap üzerine 1,0 mg/L Pb, Cr ve Cu adsorpsiyonuna süre etkisi.

### 6.3 Hap Modifikasyonlarının Bakteriyel Etkileşimi

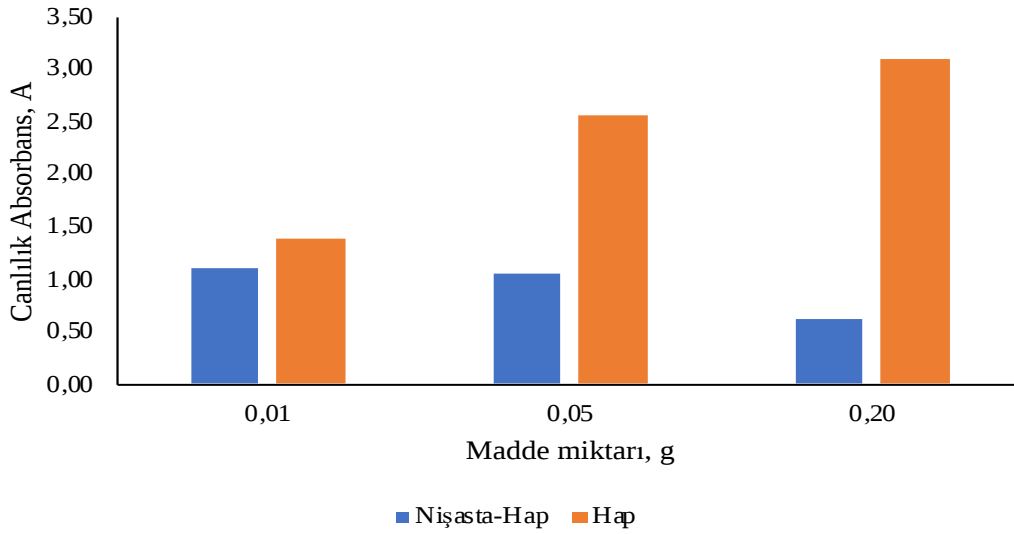
Ağır metal giderimi için sentezlenen Hap modifikasyonlarının biyolojik riskleri incelenmesi amacıyla iki farklı bakteri türü üzerine etkisi canlılık (aktivite), biyofilm oluşumu, protein, antioksidan, SOD ve LPO temel biyokimyasal parametreler üzerinden irdelenmiştir.

### 6.3.1 *S.aureus*

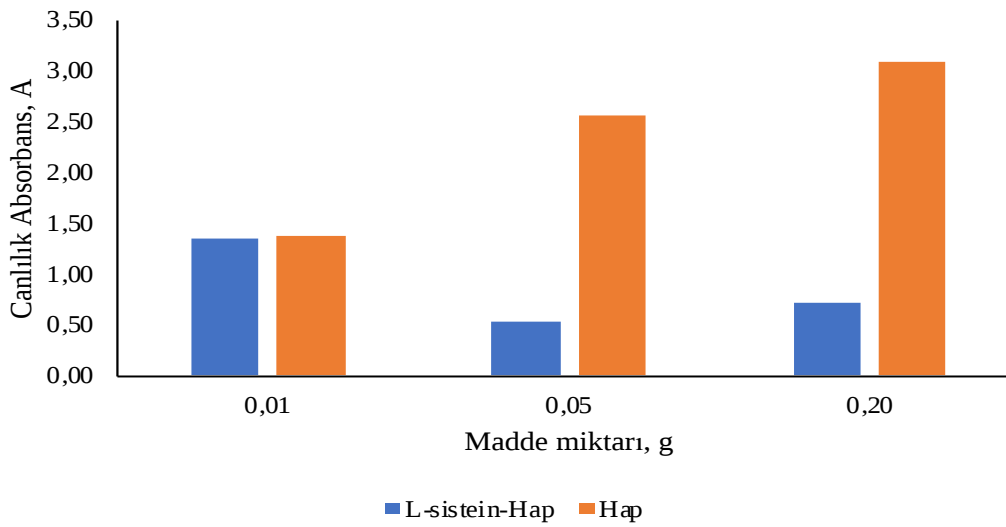
Hap modifikasyonlarının *S.aureus* bakterisi canlılığı üzerine etkisi incelenmiş ve canlılık okuması 620 nm’de gerçekleştirildiğinde Şekil 6.5 a ve b’de belirtildiği üzere Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbent madde miktarlarının artması ile *S.aureus* bakterisinin canlılığı azalmıştır. Bu değişim Nişasta-Hap sorbenti için 1.10 A’dan 0.61 A’a düşüş gözlemlenmişken, L-sistein-Hap için 1.35 A’dan 0.71 A’a düşüş gözlemlenmiştir. Böylece, L-sistein-Hap sorbentinin *S.aureus* bakterisinin canlılığını Nişasta-Hap sorbentine kıyasla daha fazla azaltmıştır.

Hap sorbentinin ise *S.aureus* bakterisinin canlılığını artırdığı gözlemlenerek değerler 1.38 A’dan 3.10 A’a artmıştır. *S.aureus* bakterisinin madde miktarı artışına göre 620 nm’de canlılık sıralaması Hap>Nişasta-Hap>L-sistein-Hap şeklindedir. Bakteri canlılığındaki artış malzemenin bakteriler tarafından besin olarak kullanılabilirdiği ve bakteri çoğalma riskini ortaya çıkarabileceğini ortaya koymaktadır [121, 122]. Diğer yandan bakterilerin sorbent varlığında canlılığının azalması o malzemenin toksik etkisinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Hap ve Hap modifikasyonlarının olmadığı kontrollü şartlarla kıyaslandığında en az etkileşim Nişasta-Hap sorbenti ile sağlanmıştır.

(a)



(b)

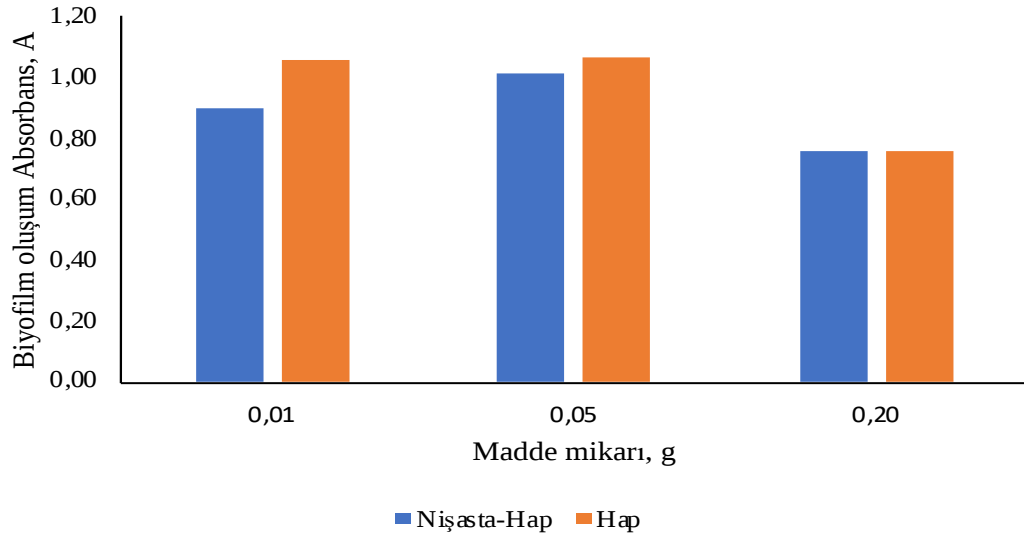


**Şekil 6.5 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının *S.aureus* bakteri canlılığına etkisi.

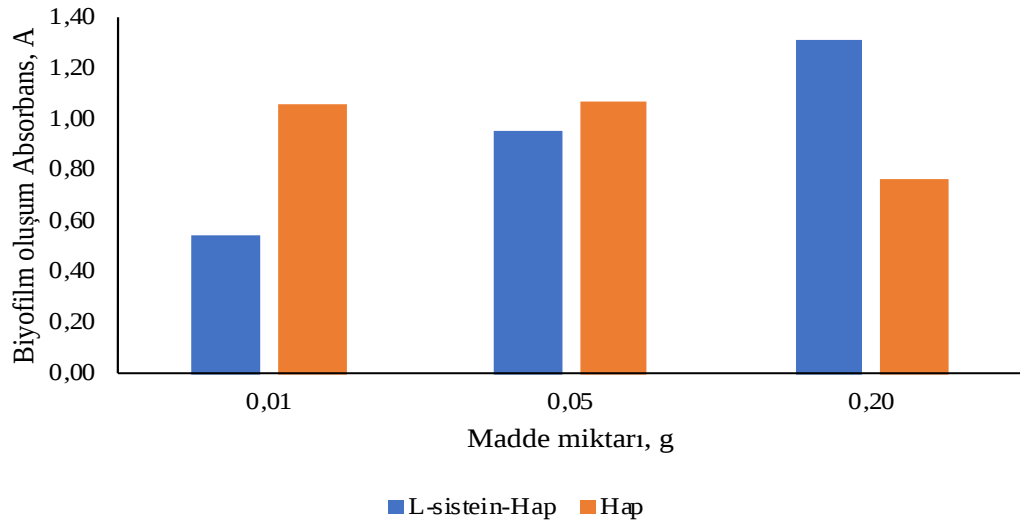
620 nm’de yapılan biyofilm çalışmaları sonucu Şekil 6.6 a ve b’de gösterildiği üzere Nişasta-Hap sorbentinin madde miktarı artışıyla *S.aureus* bakterisinin biyofilm oluşturma kapasitesi 0.90 A’dan 0.76 A’a azalırken, L-sistein Hap sorbentinde ise 0.54 A’dan 1.31A’a doğrusal bir artış gözlemlenmiştir. Hap sorbentinde ise madde miktarının artışıyla *S.aureus* bakterisinin biyofilm oluşturma kapasitesi 1.05 A’dan

0.76 A'a azalmıştır. Böylece sorbentlerin miktarı arttıkça *S.aureus* bakterisinin biyofilm oluşturma eğilimleri L-sistein>Hap>Nişasta-Hap olarak sıralanabilir. Biyofilm oluşturma özelliği substratın yüzey özelliklerine önemli derecede bağlıdır [123]. Nişasta-Hap sorbentinde diğer sorbentlere göre daha az biyofilm oluşumun gerçekleşmesi bu sorbentin yüzey kimyasıyla açıklanabilir. Örneğin,  $2900\text{ cm}^{-1}$  'lerdeki C-H piki biyofilm oluşumunu tetiklediği bilinmekte olup, Nişasta-Hap sorbentinde C-H pikleri incelenen diğer sorbentlere göre daha azdır [124-125].

(a)

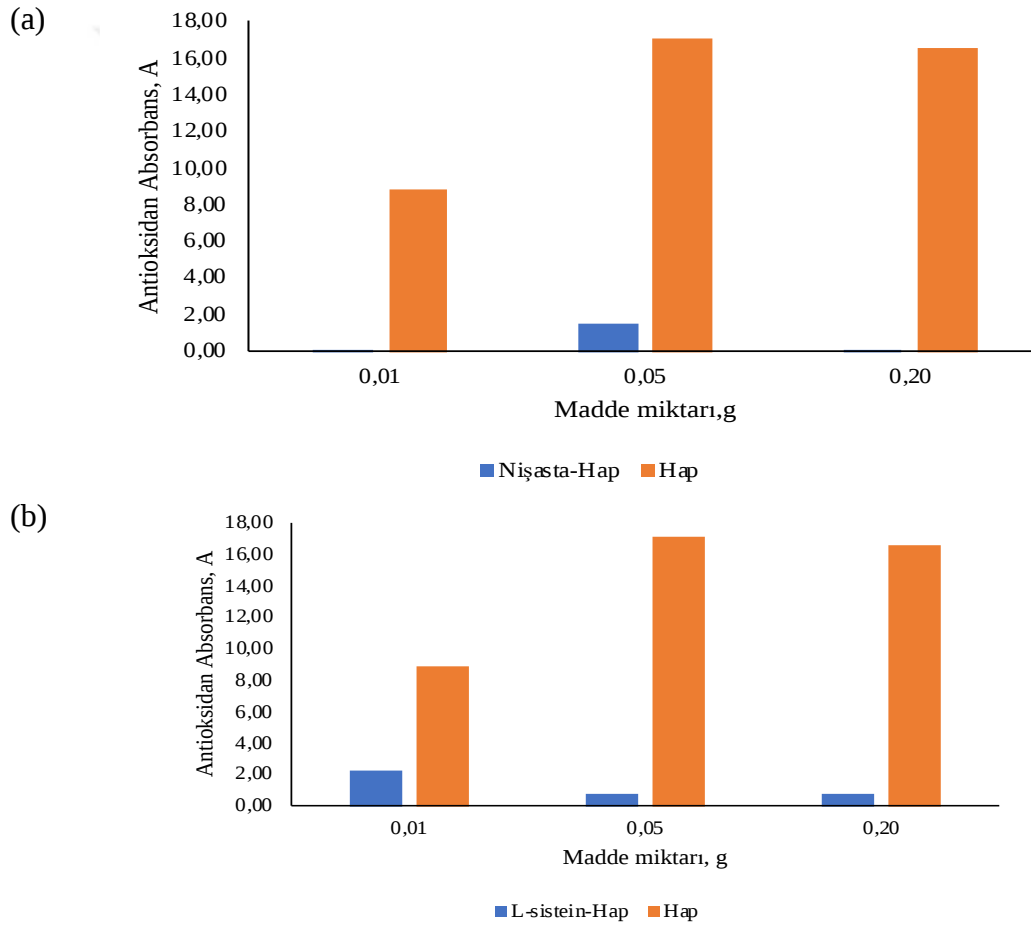


(b)



**Şekil 6.6 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının *S.aureus* bakteri biyofilm oluşumuna etkisi.

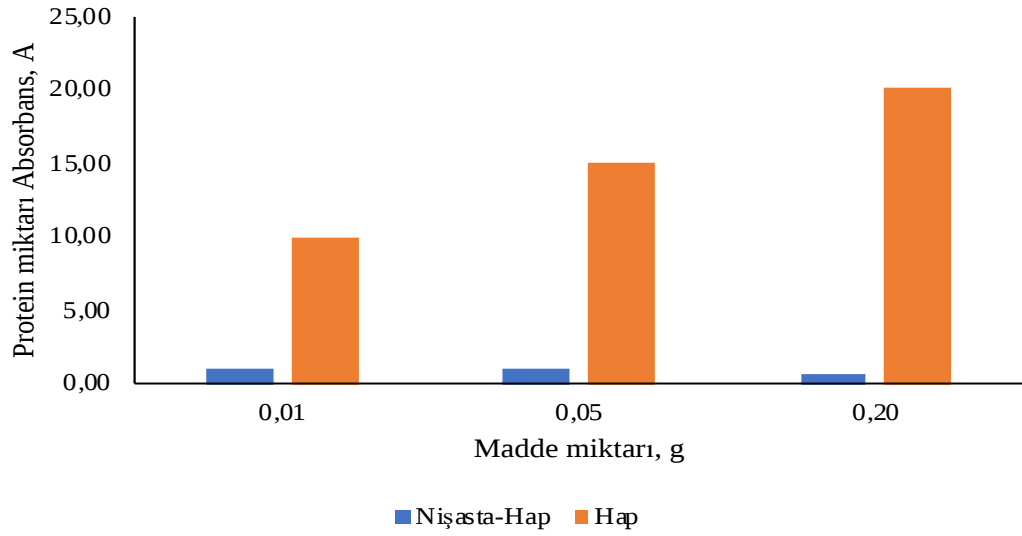
Hap modifikasyonlarının *S.aureus* antioksidan aktivitesi üzerine etkisi Şekil 6.7 a ve b’de gözlemlendiği üzere, madde miktarının artmasıyla Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin *S.aureus* bakterisinin antioksidan aktivitesi azaltırken Hap sorbenti artırmıştır. Madde miktarının 0.01 g’dan 0.05 g’a artmasıyla Nişasta-Hap ve Hap sorbentlerinin bakteri antioksidan etkisini artırmışken 0.05 g’dan 0.20 g’a ise azaltmıştır. *S.aureus* bakterisinin antioksidan aktivitesine etkisi Hap>L-sistein>Nişasta-Hap şeklinde sıralanabilir. Bu sonuçlar Nişasta-Hap sorbentinin antioksidan aktivitesindeki etkisinin diğerlerine göre daha az olduğunu göstermektedir [126]. Bu da Nişasta-Hap sorbentinin yüzey özelliklerinden ileri gelmektedir. Örneğin, 2900 cm<sup>-1</sup> ‘lerdeki C-H piki azalma gibi.



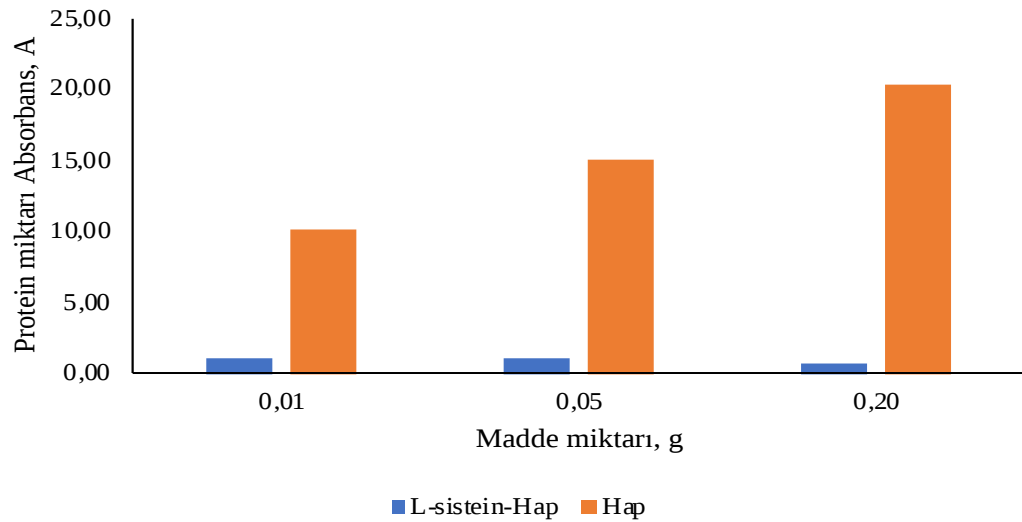
**Şekil 6.7 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap madde miktarlarının *S.aureus* bakterisinin antioksidan özelliğine etkisi.

Hap modifikasyonlarının *S.aureus* protein seviyeleri üzerine etkisi Şekil 6.8 a ve b’de gösterildiği üzere Hap sorbentinin madde miktarının artmasıyla *S.aureus* bakterisinin protein sentezini artırdığı gözlemlenirken, Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin madde miktarı artışı ile protein sentezini sırasıyla 1.11 A’dan 0,68 A’a ve 1.15 A’dan 0.67 A’a azalttığı gözlemlenmiştir. Protein hücrelerin temel yapı taşı olmasından dolayı protein sentezi aktiviteyi ya da canlılığı desteklemekte ancak bu da aşırı üremeye neden olacağı için risk olarak görülmemektedir [127].

(a)



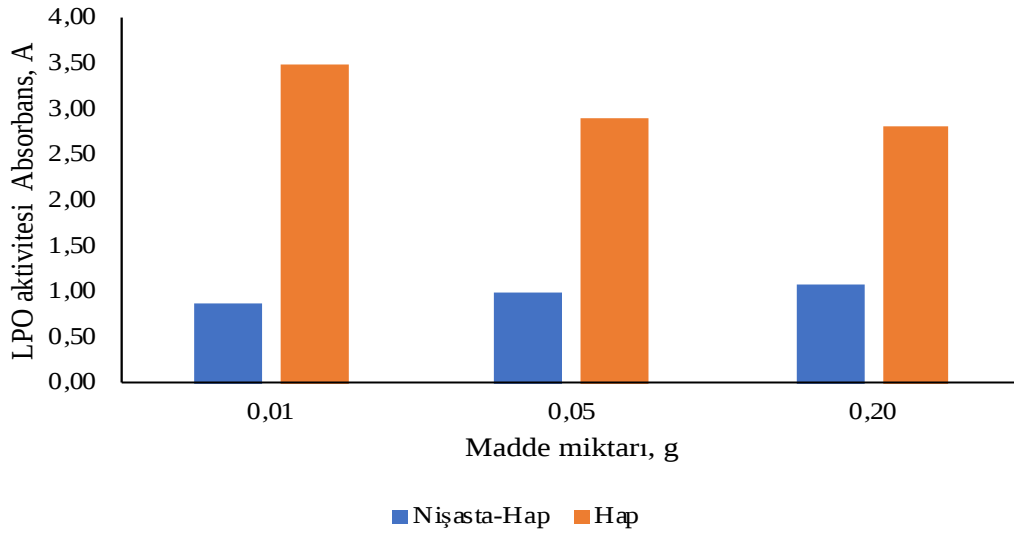
(b)



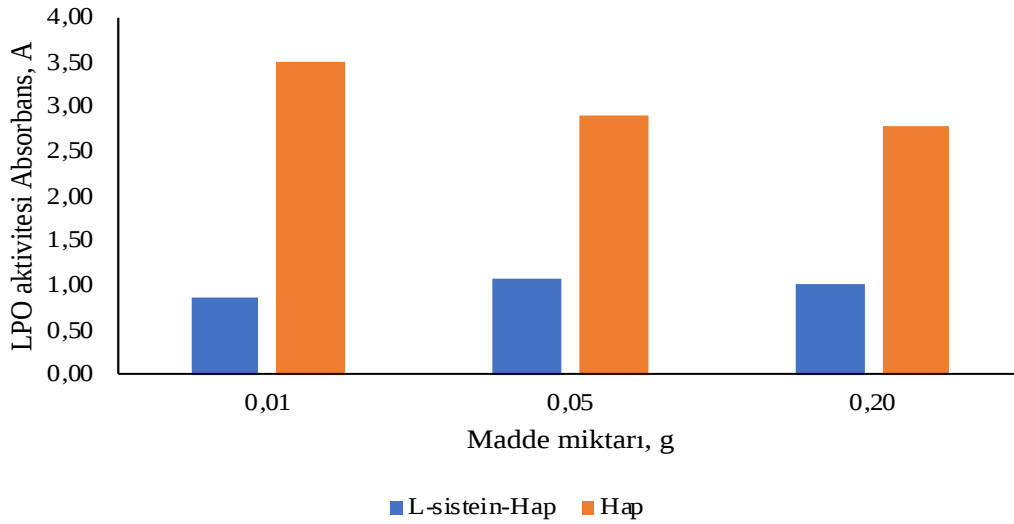
**Şekil 6.8 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap madde miktarlarının *S.aureus* bakterisinin protein miktarına etkisi.

Hap modifikasyonlarının *S.aureus* LPO üzerine etkisi Şekil 6.9 a ve b’de gözlemlendiği üzere Hap sorbentinin *S.aureus* bakterisinin LPO aktivitesine etkisi Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinden fazladır. Madde miktarının artması ile birlikte Nişasta-Hap sorbentinin LPO üzerine etkisi 0.88 A’dan 1.10 A’a artmışken, L-sistein-Hap sorbentinde ise 0.88 A’dan 1.00 A’ a artış gözlemlenmiştir. Lipit hücrenin temel biyokimyasal yapılarından biri olmakla birlikte, lipit peroksidasyonu oksidatif stresin de göstergesi ve hücre membranlarındaki hasarın göstergesidir [128].

(a)

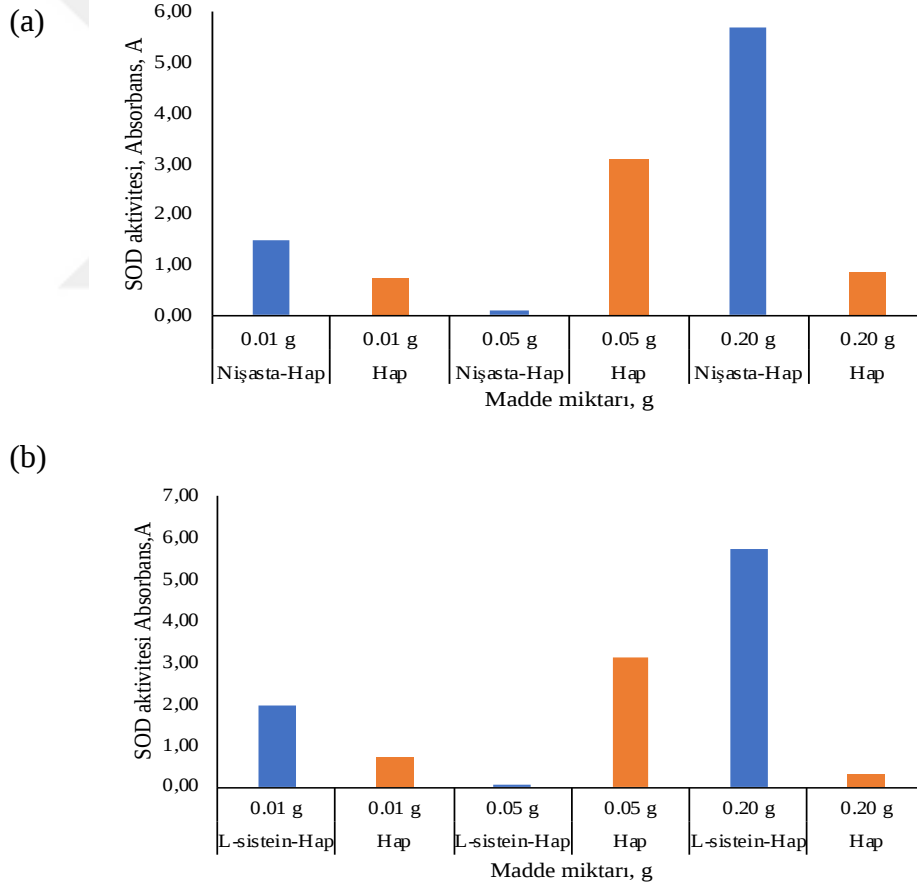


(b)



**Şekil 6.9 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent miktarlarının *S.aureus* bakterisinin lipit peroksidaz aktivitesine etkisi.

Hap modifikasyonlarının *S.aureus* SOD üzerine etkisi Şekil 6.10 a ve b’de gözlemlendiği üzere madde miktarının artmasıyla birlikte *S.aureus* bakterisinin SOD aktivitesi 0.05 g’a kadar azalmıştır. 0.20 g’da ise maksimum değere ulaşmıştır. SOD aktivitesinin dk’ya bağlı olarak arttığı gözlemlenmektedir. Maksimum SOD aktivitesine hem Nişasta-Hap hem de L-sistein-Hap sorbentlerinde dk 5’de 0.20 g madde miktarında gözlemlenmiştir. SOD’lar, hücrelerin oksidatif koşullardan korunmasında rol oynayan mikrobiyal oksidatif stres enzimlerinden biridir [129]. SOD’un inhibisyonu, aşırı ROS üretimine ve çeşitli organik ya da inorganik yapıların kontaminasyonuna bağlı oksidatif dengesizliğe işaret etmektedir. SOD aktivitelerindeki azalma, biyomolekül sentezinde bozukluklara ve hücre yapısında kararsızlığa neden olabilir. SOD’daki azalmanın bakterilerin kolonizasyonunda da önemli rolü vardır [130].

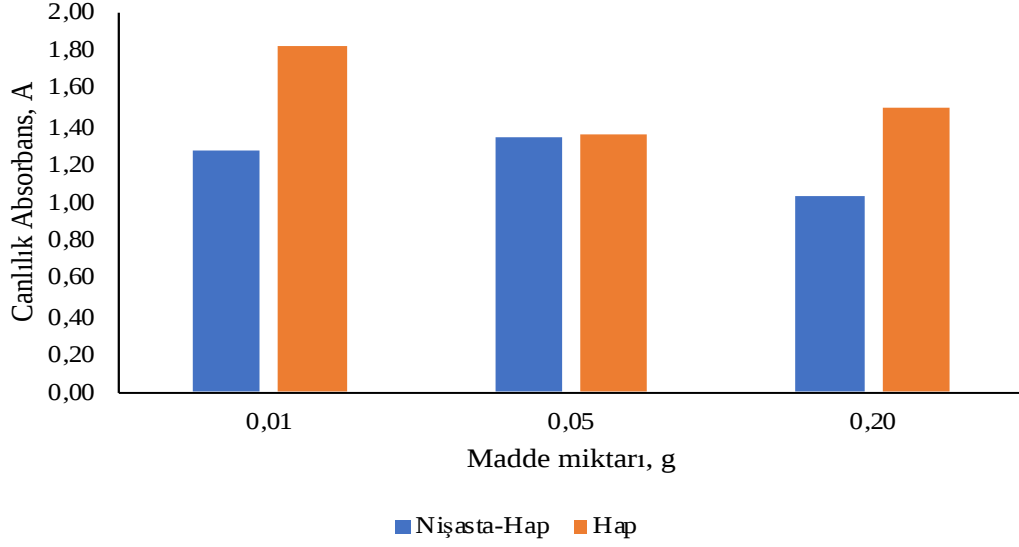


**Şekil 6.10 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap madde miktarlarının *S.aureus* bakterisinin süperoksit dismutaz aktivitesine etkisi.

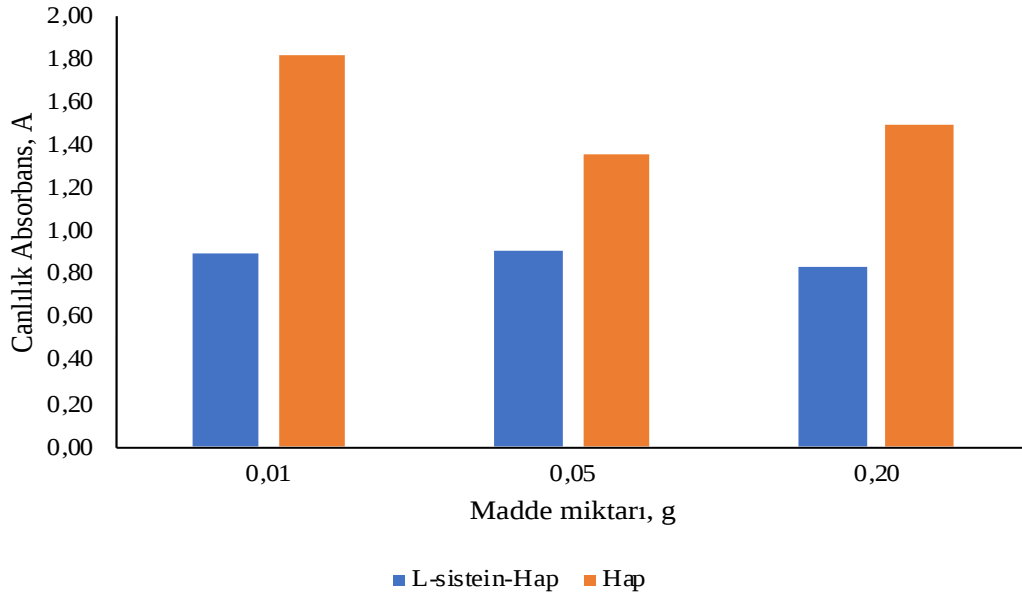
### 6.3.2 *P.aeruginosa*

Hap modifikasyonlarının *P.aeruginosa* bakterisi canlılığı üzerine etkisi incelenmiş ve canlılık okuması 620 nm’de gerçekleştirildiğinde Şekil 6.11 a ve b’de belirtildiği üzere Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbent madde miktarlarının artması ile *P.aeruginosa* bakterisinin canlılığı azalmıştır. Bu değişim Nişasta-Hap sorbenti için 1.27 A’dan 1.04 A’a gözlemlenmişken, L-sistein-Hap için 0.90 A’dan 0.84 A’a gözlemlenmiştir. Böylece, Nişasta-Hap sorbentinin *P.aeruginosa* bakterisinin canlılığını L-sistein-Hap sorbentine kıyasla daha fazla azaltmıştır. Hap sorbentinin ise *P.aeruginosa* bakterisinin canlılığını azalttığı gözlemlenerek değerler 1.83 A’dan 1.50 A’a değişmiştir. *P.aeruginosa* bakterisinin madde miktarı artışına göre 620 nm’de canlılık sıralaması ise Hap>Nişasta-Hap>L-sistein-Hap şeklinde yazılabilir. Modifiye edilmiş Hap ortamında bakteri canlılığında ki azalma sorbentlerin bakteriler tarafından besin olarak kullanılmadığı ve bakteri çoğalma riskini azalttığını ortaya koymaktadır. Diğer yandan, bakterilerin sorbent varlığında canlılığın azalması o malzemenin olası toksik etkisinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca, Hap ve Hap modifikasyonlarının olmadığı kontrollü şartlarla kıyaslandığında en az etkileşim Nişasta-Hap sorbenti ile sağlanmıştır.

(a)



(b)

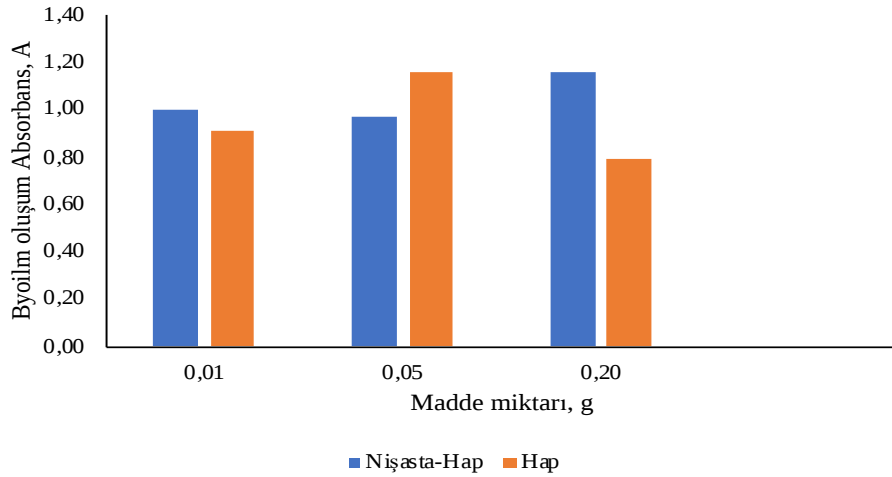


**Şekil 6.11 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının *P.aeruginosa* bakteri canlılığına etkisi.

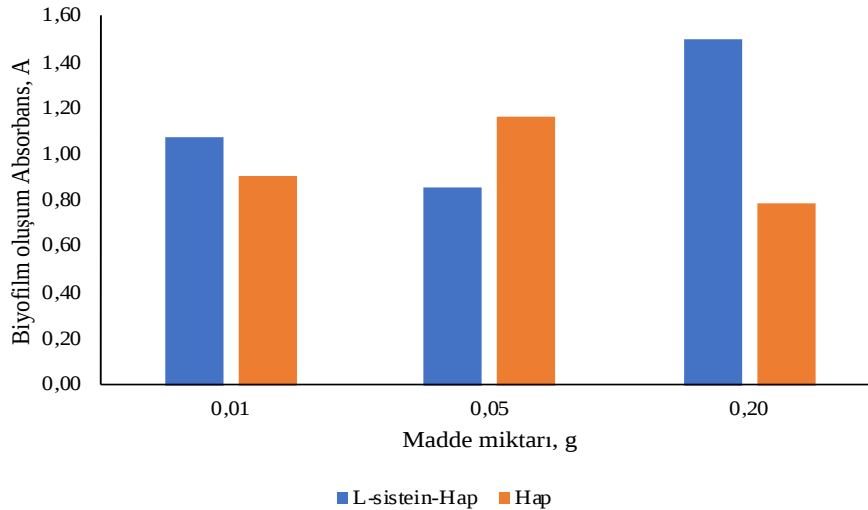
620 nm’de yapılan biyofilm çalışmaları sonucu Şekil 6.12 a ve b’de gösterildiği üzere Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin madde miktarı artışıyla *P.aeruginosa* bakterisinin biyofilm oluşturma kapasitesi sırasıyla 1.00 A’dan 1.16 A’a ve 1.07 A’dan 1.50 A’a artarken Hap sorbentinde ise madde miktarının artışıyla *P.aeruginosa*

bakterisinin biyofilm oluşturma kapasitesi 0.91 A'dan 0.80 A'a azalmıştır. Böylece sorbentlerin miktarı arttıķa *P.aeruginosa* bakterisinin biyofilm oluşturma eēilimleri L-sistein>Hap>Nişasta-Hap olarak sıralanabilir. Sıralamaya göre Niřata-Hap sorbentinde diēer sorbentlere göre daha az biyofilm oluşumun gerçekleşmesi, biyofilm oluşturma zelliēinin substrat yüzey özelliklerine önemli derecede baēlı olmasından kaynaklanmaktadır [123]. Ayrıca, Nişasta-Hap sorbentinde 2900 cm<sup>-1</sup>'lerde gözlemlenen C-H piki biyofilm oluşumunu tetiklediēi bilinmekte olup [124,125], Nişasta-Hap sorbentinde C-H pikleri incelenen diēer sorbentlere göre daha azdır. Gram negatif, *P.aeruginosa* bakteri suşunun biyofilm oluşumu ise negatif yüklü hücre duvarı ile sorbentin pozitif yükü arasındaki etkileşimlerle açıklanabilir [131].

(a)



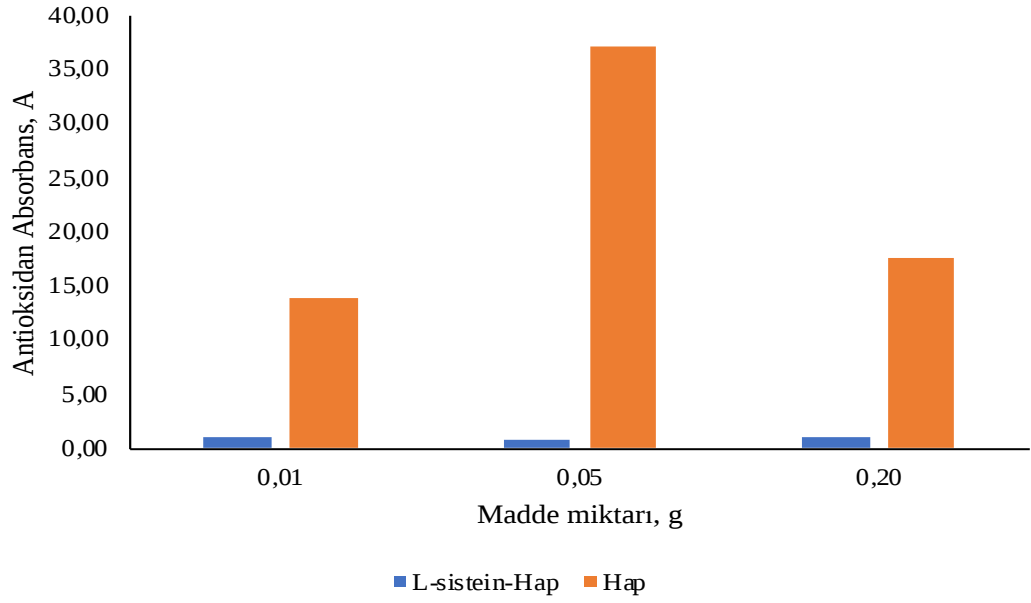
(b)



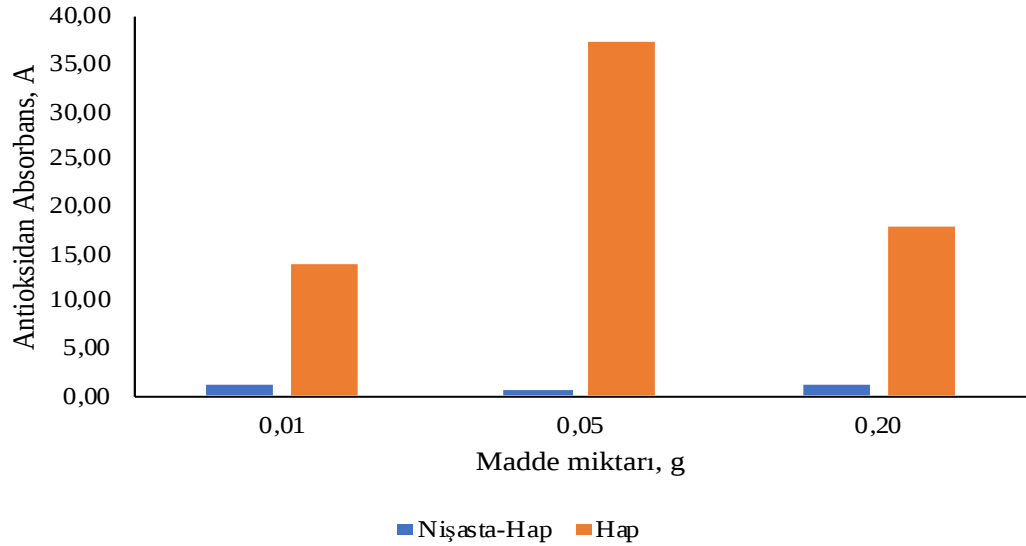
**şekil 6.12 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının *P.aeruginosa* bakteri biyofilm oluşumuna etkisi.

Hap modifikasyonlarının *P.aeruginosa* antioksidan aktivitesi üzerine etkisi 6.13 a ve b’de gözlemlendiği üzere, madde miktarının artmasıyla Hap, Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinin *P.aeruginosa* bakterisinin antioksidan özelliklerini artırmıştır. *P.aeruginosa* bakterisinin antioksidan özelliklerine etkisi Hap>Nişasta-Hap>L-sistein-Hap şeklinde sıralanabilir. Bu sonuçlar L-sistein-Hap sorbentinin antioksidan aktivitesindeki etkisinin diğerlerine göre daha az olduğunu göstermektedir.

(a)



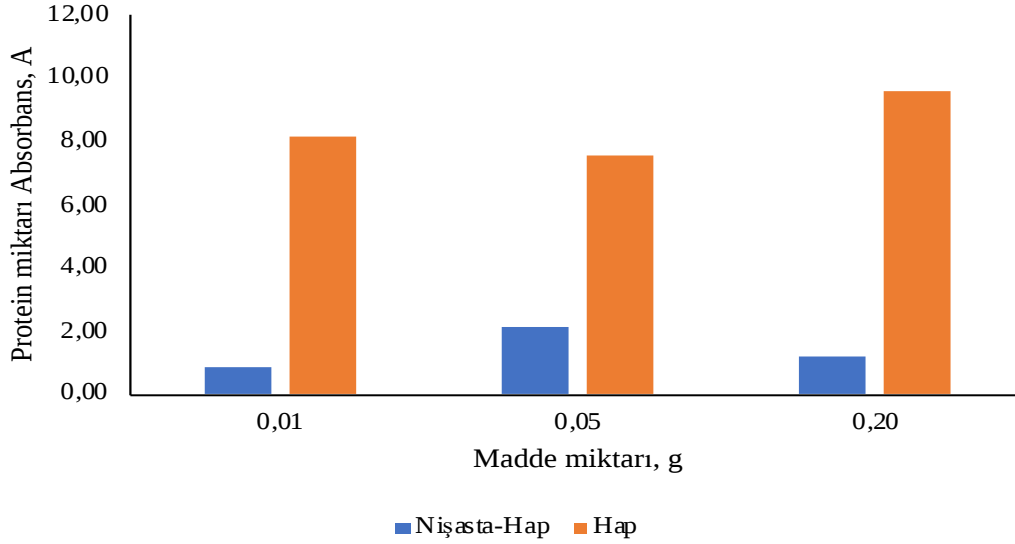
(b)



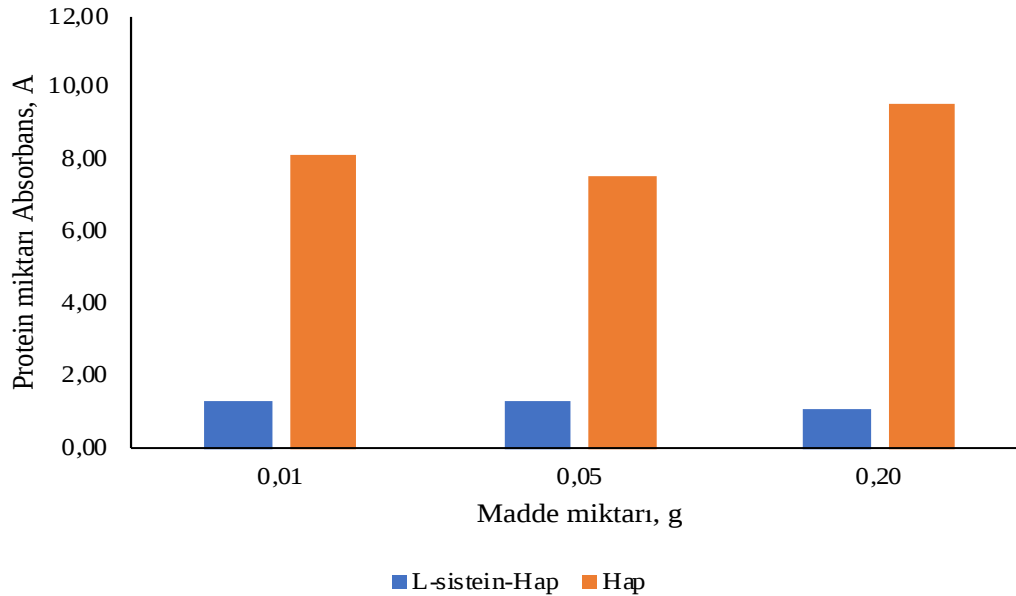
**Şekil 6.13 :** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbentleri ile *P.aeruginosa* bakteri antioksidan özelliğine etkisi.

Hap modifikasyonlarının *P.aeruginosa* protein seviyeleri üzerine etkisi Şekil 6.14 a ve b’de gösterildiği üzere Hap sorbentinin, Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerine kıyasla *P.aeruginosa* bakterisinin protein sentezi üzerinde daha fazla etkisi olduğu gözlemlenmiştir. Protein sentezi canlılığı destekleyerek *P.aeruginosa* bakterisinin üreme kapasitesini yükseltmektedir.

(a)



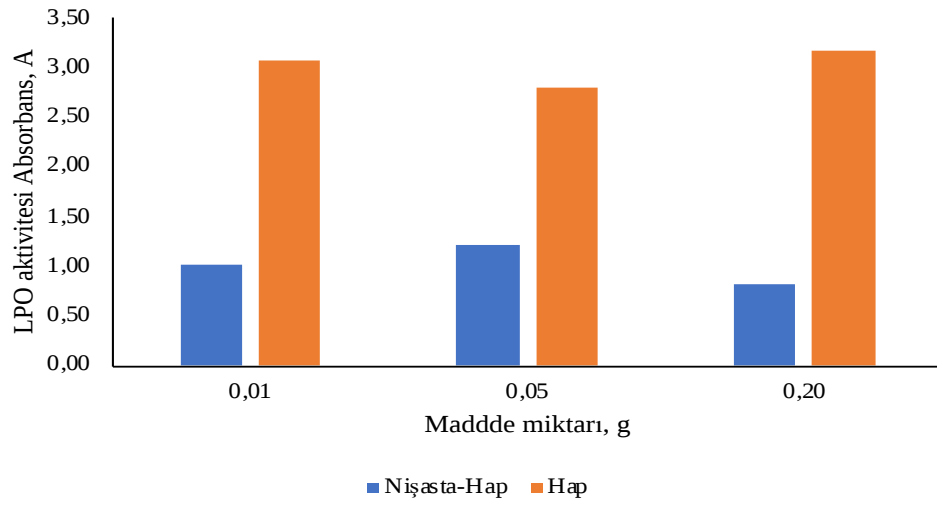
(b)



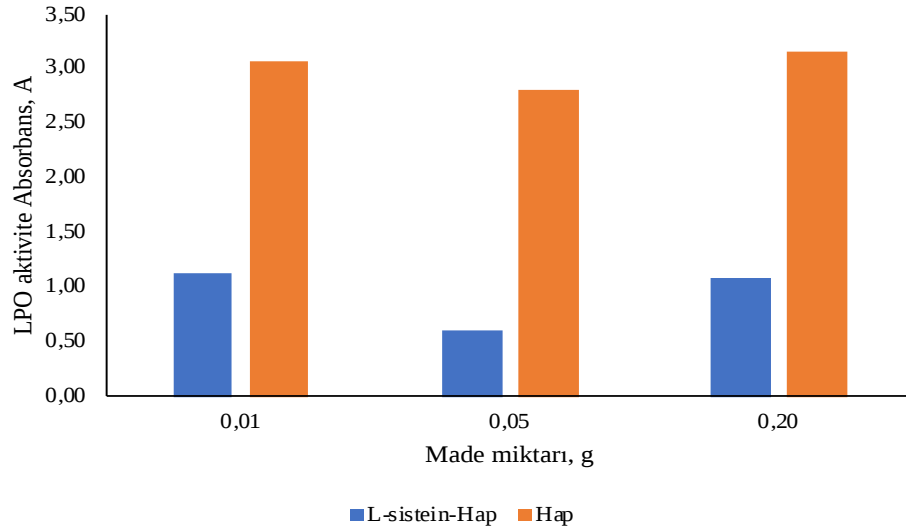
**Şekil 6.14:** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının *P.aeruginosa* bakteri protein miktarı üzerinde etkisi.

Hap modifikasyonlarının *P.aeruginosa* LPO aktivitesi üzerine etkisi Şekil 6.15 a ve b’de gözlemlendiği üzere Hap sorbentinin *P.aeruginosa* bakterisinin LPO üzerine etkisi Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinden fazladır. Madde miktarının artması ile birlikte Nişasta-Hap ve L-sistein-Hap sorbentlerinde *P.aeruginosa* bakterisinin LPO aktivitelerinde azalma gözlemlenmiştir. LPO aktivitelerinde ki bu azalma oksidatif stres varlığı ve hücre membrandaki hasarın belirticidir [128].

(a)

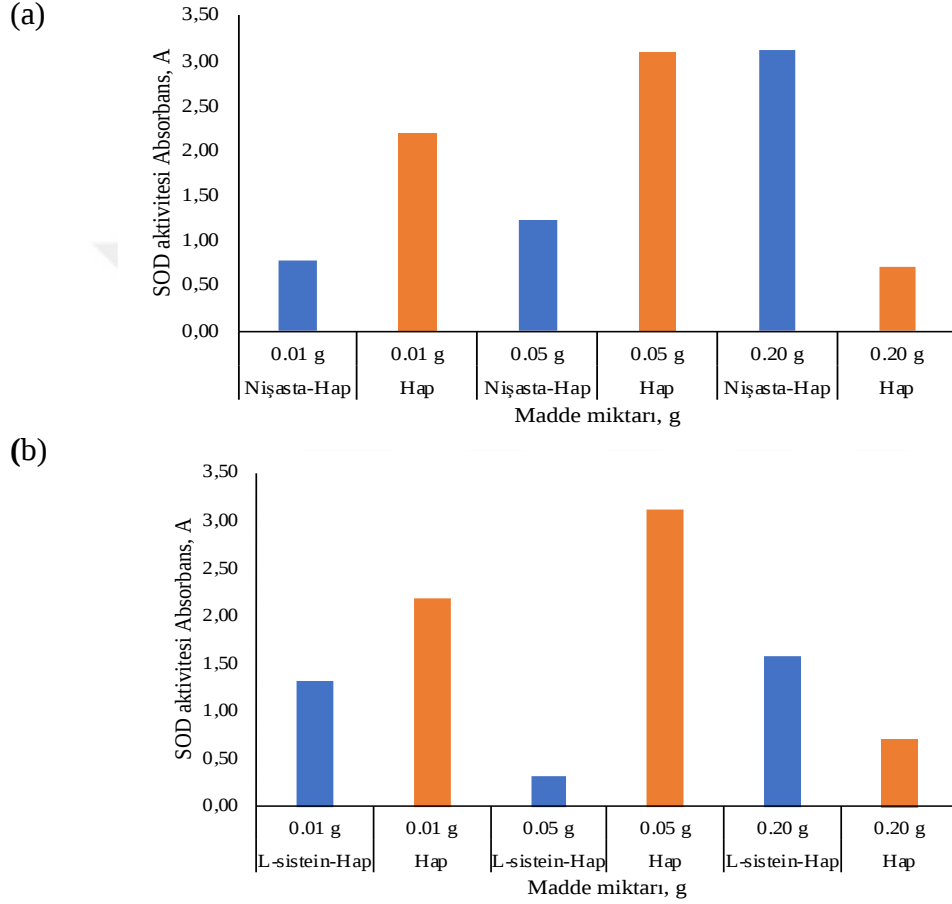


(b)



**Şekil 6.15:** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının *P.aeruginosa* bakteri lipit peroksidad aktivitesi üzerinde etkisi.

Hap modifikasyonlarının *P.aeruginosa* SOD üzerine etkisi Şekil 6.16 a ve b’de gözlemlendiği üzere *P.aeruginosa* bakterisinin SOD aktivitesi 0.01 g Nişasta-Hap ve 0.05 g L-sistein-Hap sorbentlerinde minimum değer gözlemlenirken, 0.20 g Hap sorbentinde maksimum SOD aktivitesi gözlemlenmiştir. SOD enzim üretiminin engellenmesi, aşırı ROS üretimine ve çeşitli organik ve inorganik türlerin varlığına bağlı oksidatif dengesizliğe işaret etmektedir [132].



**Şekil 6.16:** (a) Nişasta ve (b) L-sistein ile modifiye edilmiş Hap sorbent madde miktarlarının *P.aeruginosa* bakteri süperoksidad aktivitesi üzerinde etkisi.

Gram-pozitif *S.aureus*'un hücre duvarında teikoik asit polimerleri üzerinde gliserol ve ribitol zinciri bulunmaktadır[130]. Gram-pozitif bakteri suşunun biyofilm oluşumu, hücre duvarının pozitif yükü ile sorbentin negatif yükü arasındaki etkileşimlerle açıklanabilir [131].

## 7. SONUÇLAR

Bu çalışmada katı atık maddelerinden doğal Hap kaynakları, hayvan kemiği atıkları kullanılarak metal giderimi için nişasta, aminoasit gibi biyopolimerler üzerinden farklı yüzey modifikasyonların hazırlanması, bu modifikasyonların metal giderimi etkinliklerinin araştırılması ile birlikte bakteri tabanlı biyolojik tehlikelerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gerçekleştirilen çalışmalar sonucunda Hap toz maddesi nişasta ve L-sistein ile muamele edilmiştir. Hap'in yüzeyindeki fonksiyonel grupların yoğunluğunun ve varlığın değişmesi ile modifikasyonun gerçekleştiği belirlenmiştir.

Nişasta ve L-sistein ile modifiye edilmiş Hap malzemesinin ağır metal giderimi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda, geliştirilen yöntem ile yapılan çalışmalarda ortamın pH'ı, sorbent miktarı ve etkileşim süresi araştırılan parametrelerdir. Yapılan çalışmalar sonucunda Pb, Cu, ve Cr metalleri yüksek alıkonma oranları ile ortamdan giderildiği belirlenmiştir. İncelenen metal alıkonma şartları, her iki modifikasyon sonucunda pH 7-9 arasında elde edilmiştir. Sorbent miktarı incelendiğinde, metal iyonlarının tutunduğu Nişasta-Hap ve L-Sistein-Hap sorbentlerinin miktarlarının, sorpsiyon verimlerine etkisini incelemek amacıyla 0,01-0,2 g aralığında sorbent kullanılmış olup alıkonma yüzdelere bakıldığında, Pb için her iki sorbent 0,05 g da en yüksek alıkonma elde edilirken, diğer metallerin sorbente göre ters bir değişim gösterdiği görülmekle birlikte, her iki metal ve sorbent için 0,05 g sorbent miktarlarında etkili sorpsiyon gerçekleştiği görülmekte olup optimum sorbent miktarı 0,05 g seçilmiştir. Sorpsiyon üzerinde etkileşim süresi incelendiğinde her iki sorbent ve incelenen metallerin tamamı için 0,5 saat karıştırmada metallerin tutunmasının sağlandığı belirlenmiştir. Bu sayede, en yüksek alıkonma ile minimum etkileşim kullanarak, kolay uygulanabilirlik, sorbentlerin kolay hazırlanması ve uygulanabilir ve hızlı alıkonma yöntemi elde edilmiştir.

Sentezlenen ve oluşturulan metal giderimi için kullanılan Hap sorbentleri ve yöntemi için biyolojik riskleri bakteriyel etkileşim ve bakterilerin temel biyokimyasal parametreleri üzerinden incelenmiştir. Optimize edilen metal alıkonma şartlarında denenen gram pozitif ve gram negatif bakteriler için Hap'in modifikasyonsuz haline göre çok daha düşük bakteriyel canlılık ve biyofilm oluşumu belirlenmiştir. Nişasta ve L-sistein modifikasyonu sonucu özellikle sorbentlerin yüzey özellikleri nedeniyle bakterilerin protein, antioksidan ve lipid yapılarını etkileyerek, bu sorbent

modifikasyonlarının ve oluşturulan yöntemin bakteriyel canlılık ve biyofilm oluşumu sınırlandığı görülmüştür.

Sonuç olarak, sorpsiyona dayalı metal alıkonma metodu hızlı, kolay uygulanabilir, düşük biyolojik risklere sahip ve çevre dostu olarak tanımlanabilir. Sorbent olarak kullanılan nişasta ve L-sistein kaplı katı atıklardan elde edilen Hap sorbentleri yeni, doğal ve kolay sentezlenebilir olup, katı atıklardan elde edilmesi nedeniyle de katı atıkların yeniden kullanılabilmesi ve değerlendirilmesine imkan veren geniş özellikli süreç oluşturulmuştur.



## KAYNAKLAR

- [1] **Özsoy, S.** (2009). *Su ve Yaşam: Suyun Toplumsal Önemi*. (Yüksek Lisans tezi). Ankara Üniversitesi, Sosyal Bilimler Enstitüsü, Ankara.
- [2] **Ali, H., Khan, E., ve Ilahi, I.** (2019). Environmental Chemistry and Ecotoxicology of Hazardous Heavy Metals: Environmental. Persistence, Toxicity, and Bioaccumulation, *Journal of Chemistry*, 2019, 1–14.
- [3] **NELLIYAT, P.** (2016). Water Pollution: Extent, Impact, and Abatement. Indian Water Policy at the Crossroads: Resources, *Technology and Reforms*, 131-151.
- [4] **Akar, S. T., Tunç, D., Sayin, F., ve Akar, T.** (2022). Chitosan Functionalized Alunite as a Green Composite for Sorption and Preconcentration of Copper: From Parametri Optimization to Application - Journal of Polymers and the Environment, *Journal of Polymers and the Environment* , 31(2023), 1359–1372.
- [5] **Ali, A., Ahmed, A., ve Gad, A.** (2016). Chemical and Microstructural Analyses for Heavy Metals Removal from Water Media by Ceramic Membrane Filtration. *Water Science and Technolog*, 75(2), 439–450.
- [6] **Malik, S., Kumar, D.** (2023). Perspectives of Nanomaterials in Microbial Remediation of Heavy Metals and their Environmental Consequences: A Review. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 1–48.
- [7] **Mariana, M., H.P.S., A. K., Mistar, E. M., Yahya, E. B., Alfatah, T., Danish, M., ve Amayreh, M.** (2021). Recent Advances in Activated Carbon Modification Techniques for Enhanced Heavy Metal Adsorption, *Journal of Water Process Engineering* , 43,1022-21.
- [8] **Rodríguez, C., Briano, S., ve Leiva, E.** (2020). Increased Adsorption of Heavy Metal ions in Multi-walled Carbon Nanotubes with Improved Dispersion Stability, *Molecules*, 25(4), 3106.
- [9] **Agbeboh, N. I., Oladele, I. O., Daramola, O. O., Adediran, A. A., Olasukanmi, O. O., ve Tanimola, M. O.** (2020). Environmentally Sustainable Processes for the Synthesis of Hydroxyapatite, *Heliyon*, 6(4).
- [10] **Han, K., Sathiyaseelan, A., Saravanakumar, K., Park, S., Shin, S., Choi, H. B., Naveen, K. V., ve Wang, M.** (2022). Biomimetic hydroxyapatite chitosan nanoparticles deliver the erythromycin for improved antibacterial activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 72, 103374.

- [11] **Barbara, S.L.**, (2007), *Environmental Geochemistry*, Retrieved from <https://books.google.com.tr/books>.
- [12] **Jalili, V., Zendehdel, R., ve Barkhordari, A.** (2021). Supramolecular Solvent-Based Microextraction. Techniques for Sampling and Preconcentration of Heavy Metals: A Review. *Reviews in Analytical Chemistry*, 40(1), 93–107.
- [13] **Turan, F., Sen, S.** (2018). Yağış Sularının Ağır Metal İçeriğinin Uzaklaştırılmasında Doğal Zeolitlerin Etkinliğinin Araştırılması. *Fen Mühendislik Dergisi/Dokuz Eylül Üniversitesi*, 20(60), 915-923.
- [14] **Ackova, D. G.** (2018). Heavy Metals and their General Toxicity for Plants. *Plant Science Today*, 5(1), 14-18.
- [15] **Özbolat, G.,Tuli, A.** (2016). Ağır Metal Toksisitesinin İnsan Sağlığına Etkileri. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(23783), 502-521.
- [16] **Lee, J. Y., Kim, J., Choi, D. W., Lee, D. W., Park, J. H., Yoon, H. J., Pyo, H. S., Kwon, H. J., ve Park, K. S.** (2012). The Association of Heavy Metal of Blood and Serum in the Alzheimer's Diseases. *Toxicological Research*, 28(2), 93-98.
- [17] **Lead Definition, Uses, Properties, & Fac.** Encyclopedia Britannica. (2018). Retrieved from <https://www.britannica.com/science/lead-chemical-element>.
- [18] **Lead.** (2024). Royal Society of Chemistry. Retrieved from <https://www.rsc.org/periodic-table/element/82/lead>.
- [19] **Gidlow, D.** (2004). Lead Toxicity. *Occupational Medicine*, 54(2), 76-81.
- [20] **Caglieri, A. Goldoni, M., Acampa, O., Andreoli, R., Vettori, M. V., Corradi, M., Apostoli, P., & Mutti, A.** (2006). The Effect of Inhaled Chromium on Different Exhaled Breath Condensate Biomarkers among Chrome-Plating Workers. *Environmental Health Perspectives*, 114(4), 542-546.
- [21] **Mardiyono, & Hidayati, N.** (2020). Bioremediation of Chrome Heavy Metals on Metal Coating Waste with Bacillus Subtilis Bacteria. AIP. Conference Proceedings.
- [22] **Xiong, X., Li, Y., Li, W., Lin, C., Han, W., ve Yang, M.** (2010). Copper Content in Animal Manures and Potential Risk of Soil Copper Pollution with Animal Manure use in Agriculture. *Resources, Conservation and Recycling*, 54(11), 985-990.
- [23] **Fitzgerald, D. J.** (1998). Safety Guidelines for Copper in Water. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 67(5), 1098-1102.
- [24] **Georgopoulos, P. G., Roy, A., Yonone-Lioy, M. J., Opiekun, R. E.,ve Lioy, P. J.** (2001). Environmental Copper: Its Dynamics and Human Exposure Issues. *Journal of toxicology and environmental health. Part B, Critical reviews*, 4(4), 341–394.

- [25] **Türker, A., ve Acar, O.,** (2022). Determination of Zinc, Copper, Iron, Nickel, Chromium, Cadmium and Lead in Milk Samples by Flame and Electrothermal Atomic Absorption Spectrometers. *Records of Agricultural and Food Chemistry* , 2(2), 94- 102.
- [26] **Dölen, Emre.** (2010). Bunsen Beki Ve Spektral Analizin doğuşu ve Türkiye’de Tanıtılması. *Osmanlı Bilimi Araştırmaları*, 11(1), 93-118.
- [27] **The History of Atomic Absorption Spectroscopy.** (2019). Retrieved from <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=18556>.
- [28] **Planck’s Quantum Theory - Black Body Radiation, Planck’s Constant.** (2023). Retrieved from <https://byjus.com/chemistry/planks-quantum-theory>.
- [29] **A.J. (Tom) Van Loon. (1980).** Analytical Atomic Absorption Spectroscopy. Retrieved from Google Books. <https://books.google.com.tr>.
- [30] **Annabel.** (2022). The beer-lambert law - IMA. IMA. Retrieved from <https://imamagnets.com/en/blog/the-beer-lambert-law/>.
- [31] **Ankara Üniversitesi. Fen ve Edebiyat Enstitüsü.** *Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi (AAS)* [PowerPoint slides]. Retrieved from <https://acikders.ankara.edu.tr>.
- [32] **Christian, G. D.** (2006). Atomic Absorption Spectroscopy for the Determination of Elements in Medical Biological Samples, 77–112.
- [33] **Hitit Üniversitesi. Fen ve Edebiyat Enstitüsü.** *Aletli Analiz Yöntemleri Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi* [PowerPoint slides]. Retrieved from <http://web.hitit.edu.tr>.
- [34] **B. Bilsen.** Atomik Absorpsiyon Spektroskopi (atomic absorption spectroscopy). [http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blogpage\\_454.html](http://bilsenbesergil.blogspot.com/p/blogpage_454.html).
- [35] **Kılıç, Ü. (2006).** *8-Hidroksikinolin İmmobilize Edilmiş Silikon Kolonun Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresine Örnek Sunumunda Yeni Bir Yöntem Olarak Kullanımı.* (Yüksek Lisans Tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [36] **Ankara Üniversitesi. Fen ve Edebiyat Enstitüsü.** *Atomic Absorption Spektroskopi (AAS)* [PowerPoint slides]. Retrieved from <https://acikders.ankara.edu.tr>.
- [37] **Burylin M.Yu., Pupyshev A.A.** (2017). Development of Atomic Absorption Spectroscopy. *Journal of Analytical Chemistry*, 72( 9), 935–946.
- [38] **A Practical Guide to Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry.** Retrieved from <https://books.google.com.tr/books>.
- [39] **Butcher, D. J.** (2021). Innovations and developments in graphite furnace atomic

absorption spectrometry (GFAAS). *Applied Spectroscopy Reviews*, 58(1), 65-82.

- [40] **Electrothermal Atomization – Graphite Furnace.** (2023, March 16). Chemistry LibreTexts. Retrieved from <https://chem.libretexts.org>.
- [41] **Akbaba, T.N.** (2018). Electrotermal Atomik Absorpsiyon. Spektrometresi İle Farklı Gıda Numunelerinde Cd ve Se Tayinleri. (Yüksek Lisans tezi). Gazi Üniversitesi, Fen. Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [42] **Saatci, A.** (2011). *Eser Elementlerin Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi İle Tayininde Modifiye Edilmiş Nano Malzemelerle Ayrılması Ve Zenginleştirilmesi.* (Yüksek Lisans tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [43] **Soydemir, E.** (2013). *Katı Örneklemeli Yüksek Çözünürlüklü Elektrotermal Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile 2, 5 pm Hava Partiküllerinde Civa Tayini.* (Doktora tezi). İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [44] **Welz, B., Sperling, M.** (2008). Atomic absorption spectrometry. John Wiley & Son. Retrieved from <https://books.google.com.tr>.
- [45] **Know the Performance Parameters of AAS Monochromator.** Erişim <https://lab-training.com/know-the-performance-parameters-of-aas-monochromator/>.
- [46] **PhotoMultiplier Tube And Scintillator.** (2017). Retrieved from <https://commons.wikimedia.org/wiki>.
- [47] **Maharishi Dayanand University.** *Atomic Absorption Spectroscopy Applications Guide.* [PowerPoint slides] Retrieved from <https://www.slideshare.net>.
- [48] **KAY, M. I., YOUNG, R. A., ve POSNER, A. S.** (1964). Crystal Structure of Hydroxyapatite. *Nature*, 204(4963), 1050–1052.
- [49] **Shashvatt, U., Aris, H., ve Blaney, L.** (2017). Evaluation of Animal Manure Composition for Protection of Sensitive Water Supplies Through Nutrient Recovery Processes. *Chemistry and Water*, 469, 509.
- [50] **Hydroxyapatite : Properties, uses and applications.** Retrieved from <https://www.fluidinova.com/hydroxyapatite-properties-uses-and-applications>.
- [51] **Hui, K. C., Kamal, N. A., Sambudi, N. S., ve Bilad, M. R.** (2021). Magnetic Hydroxyapatite For Batch Adsorption of Heavy Metals. *E3S Web of Conferences*, 287, 04005
- [52] **Ghedjemis, A., Ayeche, R., Kebaili, M., Benouadah, A., ve Gil, L. F.** (2022). Application of Natural Hydroxyapatite In The Treatment of Polluted Water: Utilization of Dromedary Bone as Bioadsorbent. *International Journal of Applied Ceramic Technology*, 19(4), 2124–2134.

- [53] **Watanabe, T., Guilhen, S. N., Marumo, J. T., Papai, R., ve De Araujo, L. G.** (2021). Uranium Biosorption by Hydroxyapatite and Bone Meal: Evaluation of Process Variables Through Experimental Design. *Environmental Science and Pollution Research International*, 29(53), 79816–79829.
- [54] **Nayak, A., ve Bhushan, B.** (2021). Hydroxyapatite as an Advanced Adsorbent for Removal of Heavy Metal Ions from Water: Focus on its Applications and Limitations. *Materials Today: Proceedings*, 46, 11029-11034.
- [55] **El-Nagar, D. A., Massoud, S. A., ve Ismail, S. H.** (2020). Removal of Some Heavy Metals and Fungicides from Aqueous Solutions Using Nano-Hydroxyapatite, Nano-Bentonite and Nanocomposite. *Arabian Journal of Chemistry*, 13,(11), 7695-7706.
- [56] **Gibert, O., Valderrama, C., Martínez, M. M., Darbra, R. M., Oliva, J., ve Martí, V.** (2021). Hydroxyapatite Coatings on Calcite Powder for the Removal of Heavy Metals from Contaminated Water. *Water*, 13(11), 1493.
- [57] **Li, R., Lan, G., Liu, Y., Qiu, H., Ding, X., Xu, B., ve Deng, C.** (2022). Melamine Sponge Loading Improves the Separation Performance of Magnetic Hydroxyapatite for Pb(II) Adsorption. *Separation and Purification Technology*, 291, 120851.
- [58] **Bazargan-Lari, R., Zafarani, H. R., Bahrololoom, M., ve Nemati, A.** (2014). Removal of Cu(II) Ions from Aqueous Solutions by Low-cost Natural Hydroxyapatite/Chitosan Composite: Equilibrium, Kinetic and Thermodynamic Studies. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 45(4), 1642-1648.
- [59] **Agbeboh, N. I., Oladele, I. O., Daramola, O. O., Adediran, A. A., Olasukanmi, O., ve Tanimola, M. O.** (2020). Environmentally Sustainable Processes for the Synthesis of Hydroxyapatite. *Heliyon*, 6(4), e03765.
- [60] **Foroutan, R., Peighambardoust, S. J., Hosseini, S. S., Akbari, A., ve Ramavandi, B.** (2021). Hydroxyapatite Biomaterial Production from Chicken (femur and beak) and Fishbone Waste through a Chemical Less Method for Cd<sup>2+</sup> Removal from Shipbuilding Wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 413, 125428.
- [61] **Foroutan, R., Peighambardoust, S. J., Amarzadeh, M., Korri, A. K., Peighambardoust, N. S., Ahmad, A., ve Ramavandi, B.** (2022). Nickel ions abatement from aqueous solutions and shipbuilding industry wastewater using ZIF- 8-chicken beak hydroxyapatite. *Journal of Molecular Liquids*, 356, 119003.
- [62] **Granito, R. N., Rennó, A. C. M., Yamamura, H., De Almeida, M. C., Ruiz, P. L. M., ve Ribeiro, D. A.** (2018). Hydroxyapatite from Fish for Bone Tissue Engineering: A Promising Approach. *PubMed*, 7(2), 80-90.

- [63] **Han, K., Sathiyaseelan, A., Saravanakumar, K., Park, S., Shin, S., Choi, H. B., Naveen, K. V., ve Wang, M.** (2022). Biomimetic hydroxyapatite-chitosan nanoparticles deliver the erythromycin for improved antibacterial activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 72, 103374.
- [64] **Starch - Definition, Formula, Uses, and Facts with Examples.** (2022). Retrieved from <https://byjus.com/chemistry>.
- [65] **Robyt, J. F.** (2008). Starch: Structure, Properties, Chemistry, and Enzymology. *Glycoscience*, 1437–1472.
- [66] **Robyt, J. F.** (2008). Starch: Structure, Properties, Chemistry, and Enzymology. *Glycoscience*, 1437–1472.
- [67] **Clemente Plaza, N., Reig García-Galbis, M., ve Martínez-Espinosa, R.** (2018). Effects of the Usage of L-cysteine (L-cys) on Human Health. *Molecules*,.
- [68] **Ooi, C. W., Waldo, U., Norazriena, Y., Lim, K. S., Tan, S. T., Rozalina, Z., ve Ahmad, H.** (2022). L-cysteine Grafted Fiber-optic Chemosensor for Heavy Metal Detection. *Optical Fiber Technology* 71,102938.
- [69] **Dişbudak, A., Bektaş, S., Patır, S., Genç, Ö., ve Denizli, A.** (2002). Cysteine-Metal Affinity Chromatography: Determination of Heavy Metal Adsorption Properties. *Seperation and Purification Technology*, 26(23), 273-281.
- [70] **Zhou, S., Wang, J., Gan, L., Han, X., Fan, H., Mei, L., Huang, J., ve Liu, Y.** (2017). Individual and Simultaneous Electrochemical Detection toward Heavy Metal Ions based on L-cysteine Modified Mesoporous  $\text{MnFe}_2\text{O}_4$  Nanocrystal Clusters. *Journal of Alloys and Compounds*, 721, 492-500.
- [71] **Fan H., Li, L., Zhou, S., ve Liu, Y.** (2016). Continuous Preparation of  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  Nanoparticles Combined with Surface Modification by L-cysteine and their Application in Heavy Metal Adsorption. *Ceramics International*, 42(3), 4228-4237.
- [72] **Saygin, H., Baysal, A.** (2020). Similarities and Discrepancies Between Bio-Based and Conventional Submicron-Sized Plastics: In Relation to Clinically Important Bacteria. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 105, 26–35.
- [73] **Topić, N., Cenov, A., Jozić, S., Glad, M., Mance, D., Lušić, D., Kapetanović, D., Mance, D., ve Lušić, D. V.** (2021). Staphylococcus aureus—An Additional Parameter of Bathing Water Quality for Crowded Urban Beaches. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 18(10), 5234.
- [74] **Finley RL, Collignon P, Larsson DGJ, McEwen SA, Li XZ, Gaze WH, Reid-**

- Smith R, Timinouni M, Graham DW, ve Topp E .** (2013). The Scourge of Antibiotic Resistance: The Important Role of the Environment. *Clin Infect Dis*, 57(5), 704-710.
- [75] **Saygı, H., Tilkili, B., Kayisoglu, P., ve Baysal, A.** (2024). Oxidative Stress, Biofilm-formation and Activity Responses of *P. aeruginosa* to Microplastic-treated Sediments: Effect of Temperature and Sediment Type. *Environmental Research*, 248, 118349.
- [76] **Crone, S., Vives, M., Kvich, L., Saunders, A. M., Malone, M., Nicolaisen, M. H., Martínez-García, E., Rojas-Acosta, C., Gomez-Puerto, M. C., Calum, H., Whiteley, M., Kolter, R., ve Bjarnsholt, T.** (2019). The Environmental Occurrence of *Pseudomonas aeruginosa*. *APMIS. Acta Pathologica, Microbiologica Et Immunologica Scandinavica*, 128(3), 220-231.
- [77] **Driscoll, J. A., Brody, S. L., ve Kollef, M. H.** (2007). The Epidemiology Pathogenesis and Treatment of *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *Drugs*, 67(3), 351-368.
- [78] **Rice, S. A., van den Akker, B., Pomati, F., ve Roser, D.** (2012). A risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in Swimming Pools: a Review. *Journal of Water and Health*, 10(2), 181–196.
- [79] **Sooriyakumar, P., Bolan, N., Kumar, M., Singh, L., Yu, Y., Li, Y., Weralupitiya, C., Vithanage, M., Ramanayaka, S., Sarkar, B., Wang, F., Gleeson, D., Zhang, D., Kirkham, M., Rinklebe, J., ve Siddique, K. H.** (2022). Biofilm Formation and Its Implications on the Properties and Fate of Microplastics in Aquatic Environments: A Review. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 6, 100077.
- [80] **Barnes, R. J., Bandi, R. R., Chua, F., Low, J. H., Aung, T., Barraud, N., Fane, A. G., Kjelleberg, S., ve Rice, S. A.** (2014). The Roles of *Pseudomonas aeruginosa* Extracellular Polysaccharides in Biofouling of Reverse Osmosis Membranes and Nitric Oxide Induced Dispersal. *Journal of Membrane Science*, 466, 161-172.
- [81] **Maddela, N. R., Abiodun, A. S., Zhang, S., ve Prasad, R.** (2023). Biofouling in Membrane Bioreactors—mitigation and Current Status: a Review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 195(9), 5643-5668.
- [82] **Barer, M. R., ve Harwood, C. R.** (1999). Bacterial Viability and Culturability. *In Advances in Microbial Physiology/Advances in Microbial Physiology*, 93-137.
- [83] **Lehtinen, J.** (2007). Improvements in the Assessment of Bacterial Viability and Killing. *Turun Yliopiston Julkaisuja Annales Universitatis Turkuensis*.
- [84] **Saygı, H., ve Baysal, A.** (2020). Biofilm Formation of Clinically Important Bacteria on Bio-Based and Conventional Micro/Submicron-Sized Plastics. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 105(1), 18-25.

- [85] **Ghilini, F., Pissinis, D. E., Miñán, A., Schilardi, P. L., ve Díaz, C.** (2019). How Functionalized Surfaces can Inhibit Bacterial Adhesion and Viability. *ACS Biomaterials Science & Engineering*, 5(10), 4920-4936.
- [86] **Erdei-Tombor, P., Kiskó, G., ve Taczman-Brückner, A.** (2024). Biofilm Formation in Water Distribution Systems. *Processes*, 12(2), 280.
- [87] **Moyal, J., Dave, P. H., Wu, M., Karimpour, S., Brar, S. K., Zhong, H., ve Kwong, R. W. M.** (2023). Impacts of Biofilm Formation on the Physicochemical Properties and Toxicity of Microplastics: A concise review. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 261,(1).
- [88] **Pantosti, A.** (2012). Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Associated with Animals and Its Relevance to Human Health. *Frontiers in Microbiology*, 3.
- [89] **Chang, Y., Zhang, M., Xia, L., Zhang, J., ve Xing, G.** (2012). The toxic effects and mechanisms of CUO and ZNO nanoparticles. *Materials*, 5(12), 2850-2871.
- [90] **Baysal, A., Saygin, H., ve Ustabasi, G. S.** (2017). Interaction of PM2.5 Airborne Particulates with ZnO and TiO<sub>2</sub> Nanoparticles And Their Effect On Bacteria. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(1).
- [91] **Lushchak, V. I.** (2001). Oxidative Stress and Mechanisms of Protection Against It in Bacteria. *Biochemistry*, 66(5), 476-489.
- [92] **Saygin, H., Tilkili, B., Kayisoglu, P., ve Baysal, A.** (2024). Oxidative Stress, Biofilm-formation and Activity Responses of P. aeruginosa to Microplastic-treated Sediments: Effect of Temperature and Sediment type. *Environmental Research*, 238, 118349.
- [93] **Flora, S. J. S.** (2009). Structural, Chemical and Biological Aspects of Antioxidants for Strategies Against Metal and Metalloid Exposure. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(4), 191-206.
- [94] **Kaikunnan, S., Rejiniemon, T. S., Khaled, J. M., Alharbi, N. S., ve Mothana, R. A.** (2015). In-vitro Antibacterial, Antifungal, Antioxidant and Functional Properties of Bacillus Amyloliquefaciens. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 14(1).
- [95] **Lipid Peroxidation.** (2019, April 16). Retrieved from <https://www.newsmedical.net>.
- [96] **Ezraty, B., Gennaris, A., Barras, F., ve Collet, J.** (2017). Oxidative Stress, Protein Damage and Repair in Bacteria. *Nature Reviews. Microbiology*, 15(7), 385-396.
- [97] **Prokic, M.D., Radovanovic, T.B., Gavric, J.P., ve Faggio, C.** (2019). Ecotoxicological Effects of Microplastics: Examination of Biomarkers, Current State and Future Perspectives. *Trends in analytical chemistry*, 111, 37–46.

- [98] **Lynch, M. C., ve Kuramitsu, H. K.** (2000). Expression and Role of Superoxide Dismutase(SOD) in Pathogenic Bacteria. *Micorbes and Infection*, 2(10),1245-55.
- [99] **Wang, Y., Wu, Y., Wang, Y., Han, X., Mei, X., Yu, D., Wang, Y., ve Li, W.** (2017). Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*, 9(5), 521.
- [100] **Pelletier, D.A., Suresh, A.K., Holton, G.A., McKeown, C.K., Wang, W., Gu, B., Mortensen, N.P., Allison, D.P., Joy, D.C., Allison, M.R., Brown, S.D., Phelps, T.J., ve Doktycz, M.J.** 2010. Effects of Engineered Cerium Oxide Nanoparticles on Bacterial Growth and Viability. *Applicational Environmental Microbiolgy*. 76 (24),7981–7989.
- [101] **Saygin H, Baysal A.** (2020). Similarities and Discrepancies between Bio-based and Conventional Submicron-sized Plastics: in Relation to Clinically Important Bacteria. *Bulletin of Environmental. Contamination and Toxicology*, 105(1), 26–35.
- [102] **Ustabasi, G. S., ve Baysal, A.** (2020). Bacterial Interactions of Microplastics Extracted from Toothpaste under Controlled Conditions and the Influence of Seawater. *Science of the Total Environment*, 703,135024.
- [103] **Apak, R., Guclu, K., Ozyurek, M., ve Karademir, S.E.** (2004). Novel Total Antioxidant Capacity Index for Dietary Polyphenols and Vitamins C and E, using their Cupric Ion Reducing Capability in the Presence of Neocuproine: CUPRAC method. *J Agric Food. Chem.* 52, 7970–7981.
- [104] **Arora, A., Jain, J., Rajwade, J.M., ve Paknikar, K.M.** (2008a). Cellular Responses Induced by Silver Nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology Letters*, 179, 93–100.
- [104] **Arora, A., Jain, J., Rajwade, J.M., ve Paknikar, K.M.** (2008b). Cellular Responses Induced by Silver Nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology Letters*, 179, 93–100.
- [106] **Arboleda, A., Franco, M., Caicedo, J., Tirado, L., ve Goyes, C.** (2016). Synthesis and Chemical and Structural Characterization of Hydroxyapatite Obtained from Eggshell and Tricalcium Phosphate. *Ingenieria Y Competitividad*, 18(1), 69 – 71.
- [107] **Saygin, H., ve Baysal, A.** (2022). Interaction of Nanoplastics with Simulated Biological Fluids and their Effect on the Biofilm Formation. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(53), 80775-80786.
- [108] **Foroutan, R., Peighambardoust, S. J., Hosseini, S. S., Akbari, A., ve Ramavandi, B.** 2021). Hydroxyapatite Biomaterial Production from Chicken (femur and beak) and Fishbone Waste through a Chemical Less Method for Cd<sup>2+</sup> Removal from Shipbuilding Wastewater. *Journal of Hazardous Materials*, 413,125428.
- [109] **Lee, C., Kim, H., ve Kwon, J.** (2005). The Removal of Heavy Metals Using

Hydroxyapatite. *Environmental Research/ Environmental Engineering Research*, 10(5), 205-212.

- [110] **Liang W., Zhan L., Piao L., ve Rüssel C.** (2011). Lead and Copper Removal from aqueous Solutions by Porous Glass Derived Calcium Hydroxyapatite. *Material Science Engineering B*, 176, 1010-1014.
- [111] **Liu Z., Chen L., Zhang Z., Li Y., Dong Y., ve Sun Y.** (2013). Synthesis of Multi-walled Carbon Nanotube–Hydroxyapatite Composites and its Application in the Sorption of Co(II) from aqueous Solutions. *Journal of Molecular Liquids*, 179 , 46-53.
- [112] **Cui L., Hu L., Guo X., Zhang Y., Wang Y., Wei Q., ve Du B.** (2014a). Kinetic, Isotherm and Thermodynamic Investigations of Cu(II) Adsorption onto Magnesium Hydroxyapatite/ferroferric oxide Nano-composites with Easy Magnetic Separation Assistance. *Journal of Molecular Liquids* ,198, 157-163.
- [113] **Baysal, A., Akman, S., & Calisir, F.** (2008). A novel slurry sampling analysis of lead in different water samples by electrothermal atomic absorption spectrometry after coprecipitated with cobalt/pyrrolidine dithiocarbamate complex. *Journal of Hazardous Materials*, 158(2-3), 454-459.
- [114] **Cui L., Hu L., Guo X., Zhang Y., Wang Y., Wei Q., ve Du B.** (2014b). Kinetic, Isotherm and Thermodynamic Investigations of Cu(II) Adsorption onto Magnesium Hydroxyapatite/ferroferric oxide Nano-composites with Easy Magnetic Separation Assistance. *Journal of Molecular Liquids* , 198, 157-163.
- [115] **Du Q., Sun J., Li Y., Yang X., Wang X., Wang Z., ve Xia Z.** (2014). Highly Enhanced Adsorption of Congo red onto Graphene oxide/chitosan Fibers by wet-Chemical Etching off Silica Nanoparticles. *Chemical Engineering Journal*, 245, 99-106.
- [116] **Vahdat A., Ghasemi B., ve Yousefpour M.** (2019). Synthesis of hydroxyapatite and hydroxyapatite/Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanocomposite for removal of heavy metals. *Environmental Nanotechnology Monitoring*, 12,100233.
- [117] **Kongsri S., Janpradit K., Buapa K., Techawongstien S., ve Chanthai S.**(2013). Nanocrystalline Hydroxyapatite from Fish scale waste Preparation, Characterization and Application for Selenium Adsorption in aqueous solution *Chemical Engineering Journal*, 215–216, 522-532.
- [118] **R. Foroutan, R. Mohammadi, S. Farjadfard, H. Esmaeili, B. Ramavandi, G.A. Sorial.** (2019). Eggshell nano-particle potential for methyl violet and mercury ion removal: surface study and. field application. *Advanced Powder Technology*, 30, 2188-2199.
- [119] **Foroutan, R., Peighambardoust, S. J., Amarzadeh, M., Korri, A. K., Peighambardoust, N. S., Ahmad, A., ve Ramavandi, B.** (2022). Nickel ions abatement from aqueous solutions and shipbuilding industry

wastewater using ZIF-8-chicken beak hydroxyapatite. *Journal of Molecular Liquids*, 356, 119003.

- [120] **Cui L., Xu X., Guo X., Zhang Y., Wei Q., ve Du B.** (2014). Synthesis of Srontium Hydroxyapatite Embedding Ferroferric oxide nano- composite and its Application in Pb(II) Adsorption, *Journal of Molecular Liquids*, 197, 40-47.
- [121] **Saygin, H., Tilkili, B., Kayisoglu, P., ve Baysal, A.** (2024). Oxidative Stress, Biofilm-formation and Activity Responses of *P. aeruginosa* to Microplastic-treated Sediments: Effect of Temperature and Sediment type. *Environmental Research*, 248, 118349.
- [122] **Saygin, H., ve Baysal, A.** (2020). Similarities and Discrepancies between Bio-Based and Conventional Submicron-Sized Plastics: in relation to clinically important bacteria. *Bulletin of Environment Contamination. Toxicology*, 105(1), 26-35.
- [123] **Joo, S. H., ve Aggarwal, S.** (2018). Factors Impacting the Interactions of Engineered Nanoparticles with Bacterial Cells and Biofilms: Mechanistic Insights and State of Knowledge. *Journal of Environmental Management*, 225, 62-74.
- [124] **Rücker, C., Mahmoud, W. M. M., Schwartz, D., ve Kümmerer, K.** (2018). Biodegradation Tests of Mercaptocarboxylic acids, their Esters, Related Divalent Sulfur Compounds and Mercaptans. *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(19), 18393-18411.
- [125] **Saygin, H., ve Baysal, A.** (2020). Biofilm Formation of Clinically Important Bacteria on Bio-Based and Conventional Micro/Submicron-Sized Plastics. *Bulletin of Environment* 105(1), 18-25.
- [126] **Chen, X., Wang, Y., Chen, S., Sun, Y., Tan, Q., Ding, Z., Lu, Y., ve Yu, Y.** (2021). Microplastics as Carbon-nutrient Sources and Shaper for Microbial Communities in Stagnant Water. *Journal of Hazardous Materials*, 420, 126662.
- [127] **Saygin, H., ve Baysal, A.** (2020). Similarities and Discrepancies between Bio-Based and Conventional Submicron-Sized plastics: in Relation to Clinically Important Bacteria. *Bulletin of Environment Contamination, Toxicology*, 105(1), 26-35.
- [128] **Arora, S., Jain, J., Rajwade, J., ve Paknikar, K.** (2008). Cellular Responses Induced by Silver Nanoparticles: In vitro studies. *Toxicology Letters*, 179(2), 92-100.
- [129] **Aragaw, T.A.** (2021). Functions of Various Bacteria for Specific Pollutants Degradation and their Application in Wastewater Treatment: a review. *International Journal of Environment and Science Technology*. 18, 2063–2076.
- [130] **Lynch, M., Kuramitsu, H.** (2000). Expression and Role of Superoxide Dismutases (SOD) in Pathogenic Bacteria. *Microbes. Infect* 2 (10), 1245–1255.

- [131] **Saygin, H., ve Baysal, A.** (2020). Biofilm Formation of Clinically Important Bacteria of Bio-based and Conventional Micro/submicron-sized Plastics. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 105, 18-25.
- [132] **Li, T., Lu, M., ve Xu, B.** (2022). Multiple perspectives reveal the gut toxicity of polystyrene microplastics on *Eisenia fetida*: Insights into. community signatures of gut bacteria and their translocation. *Science Total Environment*. 838 (4), 15635.



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : GÜLŞEN MELTEM

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2022, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen ve Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü
- **Yükseklisans** : 2024, İstanbul Teknik Üniversitesi, Kimya Anabilim Dalı, Kimya Bölümü

### DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Akar, T., Alim, S., **Meltem, G.**, Sayin, F., ve Akar, S. T. (2024). A Novel Sustainable and Eco-friendly Biosourced Hybrid Sorbent for Toxic Pb(II) Decontamination: Nano Metal Oxide Functionalized Salt-tolerant Plant Biomass. *Journal of Cleaner Production*, 439, 140838.
- Baysal A., **Meltem, G.** Synthetic Hydroxyapatite Coated With Metal Organic Framework For Removal Of Heavy Metal Ions From Environmental Solutions. 12<sup>th</sup> Aegean Analytical Chemistry Days 19-22 October, İstanbul, Turkey.
- Baysal A., **Meltem, G.** Modification of Hydroxyapatite from Cattle Bones with Biopolymers to Remove of Heavy Metal from Environmental Samples and Limit the Biofilm Formation 12<sup>th</sup> Aegean Analytical Chemistry Days 19-22 October, İstanbul, Turkey.