

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**Ağır Metallerin Değişik Termofilik Bakterilerdeki
Akümülayonu, Biyosorbsiyonu ve Çevre
Biyoteknolojisinde Kullanımı Üzerine Çalışmalar**

Sadin ÖZDEMİR

DOKTORA TEZİ
(BİYOLOJİ ANABİLİM DALI)

DİYARBAKIR
EYLÜL 2008

T.C


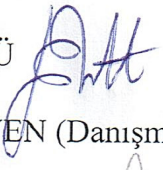
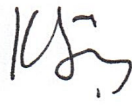


DİCLE UNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DIYARBAKIR

Sadin ÖZDEMİR tarafından yapılan “**Ağır Metallerin Değişik Termofilik Bakterilerdeki Akümülayonu, Biyosorpsiyonu ve Çevre Biyoteknolojisinde Kullanımı Üzerine Çalışmalar**” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyesinin

<u>Ünvanı</u>	<u>Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Başkan: Prof. Dr.	Özfer YEŞİLADA	
Üye : Prof.Dr.	Erhan ÜNLÜ	
Üye : Prof.Dr.	Kemal GÜVEN (Danışman)	
Üye : Doç.Dr.	Zübeyde BAYSAL	
Üye : Doç.Dr.	Fikret UYAR	

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 18/09/2008

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../2008

Prof. Dr. Hamdi TEMEL

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

Değerli eşim Halime ÖZDEMİR,

kızım Nehir ve oğlum Deniz'e

TEŞEKKÜR

Bu çalışma Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji Ana Bilim Dalı Başkanı, sayın hocam Prof.Dr. Kemal GÜVEN danışmanlığında yapılmıştır. Çalışmam sırasında bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak ihtiyaç duyduğum her konuda yardımlarını esirgemeyen hocama teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel aşamada AAS ve ICP-OES ölçümlerini birlikte yaptığımız Arş.Gör. Ersin KILINÇ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneyisel aşamada, her ihtiyaç duyduğum zaman desteğini gördüğüm arkadaşım Arş.Gör. Özlem DEMİRCİ ve Fatma MATPAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım sırasında yardımlarını gördüğüm, Yrd.Doç.Dr. Sait ERDOĞAN'a ve Yrd.Doç.Dr. Veysel TOLAN'a, ve aynı laboratuvarı paylaştığımız yüksek lisans ve doktora öğrencilerine teşekkürlerimi sunarım.

Tez yazımı sırasında yardımlarını gördüğüm arkadaşım Arş.Gör. Numan YILDIRIM'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gerek çalışmalarım sırasında gerekse de tez yazımı sırasında manevi desteklerini esirgemeyen eşim Halime ÖZDEMİR'e teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvar imkanı sağlayan D.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Dekanlığına ve Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

AMAÇ.....	i
ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	iv
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Metaller ve Çevresel Etkileri.....	3
1.1.1. Kadmiyum (Cd).....	8
1.1.2. Bakır (Cu).....	10
1.1.3. Nikel (Ni).....	11
1.1.4. Kobalt (Co).....	13
1.1.5. Mangan (Mn).....	14
1.1.6. Çinko (Zn).....	15
1.2. Ağır Metal Dirençliliği.....	16
1.2.1. Ağır Metal Dirençlilik Metabolizmasında Rol Alan Protein Aileleri.....	18
1.2.2. Bazı Ağır Metallerin Dirençlilik Mekanizmaları.....	19
1.3. Ağır Metallerle Kirletilmiş Atık Suları İyileştirme Yöntemleri.....	22
1.3.1. Ağır Metallerle Kirletilmiş Atık Suların İyileştirilmesinde Kullanılan Geleneksel Teknikler.....	23
1.3.2. Ağır Metallerle Kirletilmiş Atık Suların İyileştirilmesinde Kullanılan Biyolojik Teknikler.....	25
1.3.2.1. Biyoakümülyasyon.....	27
1.3.2.2. Biyosorpsiyon.....	30
1.3.2.2.1. Ölü Biyokütle İle Biyosorpsiyonun Avantajları Ve Dezavantajları....	34
1.3.2.2.2. Biyoakümülyasyon İle Biyosorpsiyon Arasındaki Farklar.....	36
1.3.2.2.3. Metal Biyosorpsiyonunda Kullanılan Biyokütle Çeşitleri.....	37
1.3.2.2.4. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler.....	43
1.3.2.3. İmmobilizasyon.....	45
1.3.2.3.1. Prekonsantrasyon.....	46
1.3.2.4. Biyokütlenin Önişlenişi.....	47
1.3.3. Termofilik Bakteriler.....	48
1.3.3.1. Termofilik Basiller.....	50
1.3.3.1.1. <i>Bacillus</i>	50
1.3.3.1.2. <i>Geobacillus</i>	51
1.3.3.1.3. <i>Anoxybacillus</i>	52
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	54
3. MATERYAL METOD.....	75
3.1. Biyolojik Materyal.....	75
3.2. Kimyasal Maddeler.....	75
3.3. Kullanılan Besiyerleri.....	75
3.3.1. Besiyeri Maddeleri.....	75
3.3.2. Sıvı Besiyeri.....	75
3.3.3. Katı Besiyeri.....	76
3.4. Bakteri Üretimi.....	76
3.5. Kullanılan Aletler.....	77

3.6. Metal Çözeltilerin Hazırlanması.....	77
3.7. Kullanılan Metal Konsantrasyonları.....	78
3.8. Seçilen Bakterilerin Minimum İnhibe Edici Konsantrasyonlarının (MIC) Belirlenmesi.....	79
3.9. Metal (Cd, Co, Cu, Mn, Zn ve Ni) Konsantrasyonunun Bakteri Üremesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi.....	79
3.10. Metal Akümülyasyonun Tespit Edilmesi.....	79
3.11. Kurutulmuş Ölü Bakteri Hücreleri Tarafından Metal Biyosorpsiyonunun Tespit Edilmesi.....	80
3.11.1. Kurutulmuş Ölü Bakteri Hücrelerinin Biyosorpsiyon İçin Hazırlanması.....	80
3.11.2. Metal Biyosorpsiyon Çalışmaları.....	80
3.11.2.1. pH'nın Bakteri Hücreleri Tarafından Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	81
3.11.2.2. Sıcaklığın Bakteri Hücreleri Tarafından Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	81
3.11.2.3. Başlangıç Metal Konsantrasyonunun Bakteri Hücreleri Tarafından Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	82
3.11.2.4. Biyokütle Miktarının Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	82
3.11.2.5. İnkübasyon Süresinin Bakteri Hücreleri Tarafından Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	83
3.11.2.6. Farklı Bakteri Türlerinin Çalkalamalı ve Statik Koşullarda Kadmiyum Metal Biyosorpsiyonunun Karşılaştırılması.....	83
3.12. Amberlit XAD-4 Üzerine Tutuklanmış (İmmobilize Edilmiş) Ölü (Kurutulmuş) <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Ağır Metal Biyosorpsiyon Çalışmaları.....	84
3.12.1. Ölü (Kurutulmuş) <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in XAD-4 Üzerine Tutuklanması (İmmobilize Edilmesi).....	84
3.12.1.1. Kolonun Hazırlanması.....	84
3.12.2. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> ile Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nin Prekonsantrasyonu.....	84
3.12.3. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> ile Doğal Atık Sularda Bulunan Bazı Metallerin (Cd, Cu ve Ni) Prekonsantrasyonu.....	85
3.12.4. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> ile Cd Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi	85
3.13. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı ve Kurutulmuş Ölü <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu.....	86

3.13.1 Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu	86
3.13.2. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Kurutulmuş Ölü <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu	86
4. BULGULAR	88
4.1. Seçilen Bakteri Varyetelerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC) Değerleri	88
4.2. Farklı Metal (Cd, Cu, Co, Mn, Ni ve Zn) Konsantrasyonlarının Seçilen Bakteri Varyetelerinde Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	89
4.2.1. Farklı Metal (Cd, Cu, Co, Mn) Konsantrasyonlarının <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	89
4.2.1.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi	89
4.2.1.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	91
4.2.1.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	92
4.2.1.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	93
4.2.2. Farklı Metal (Cd, Cu, Co, Mn) Konsantrasyonlarının <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	95
4.2.2.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	95
4.2.2.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	96
4.2.2.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	97
4.2.2.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	98
4.2.3. Farklı Metal (Cd,Cu,Mn,Ni,Zn) Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus toebii</i> sub. sp. <i>decanicus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	100
4.2.3.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus toebii</i> sub sp. <i>decanicus</i> 'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	100

4.2.3.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus toebii</i> sub. sp. <i>decanicus</i> 'un Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	101
4.2.3.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus toebii</i> sub. sp. <i>decanicus</i> 'un Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	102
4.2.3.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus toebii</i> sub. sp. <i>decanicus</i> 'un Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	103
4.2.3.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus toebii</i> sub. sp. <i>decanicus</i> 'un Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	104
4.2.4. Farklı Metal (Cd,Cu,Mn,Ni,Zn) Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	105
4.2.4.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	105
4.2.4.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	106
4.2.4.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	107
4.2.4.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	108
4.2.4.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Üreme ve Biyoakümüülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi.....	109
4.3. Termofilik Bakterilerde Metal Biyosorpsiyonu.....	111
4.3.1. pH'nın <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	111
4.3.2. Sıcaklığın <i>Bacillus thermantarcticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	112
4.3.3. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	113
4.3.4. Biyokütle Miktarının <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	114
4.3.5. İnkübasyon Süresinin <i>Bacillus thermoantarcticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	115
4.3.6. pH'nın <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	116

4.3.7. Sıcaklığın <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	117
4.3.8. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> ' un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	118
4.3.9. Biyokütle Miktarının <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	119
4.3.10. İnkübasyon Süresinin <i>Anoxybacillus amylolyticus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	120
4.3.11. pH'nın <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	121
4.3.12. Sıcaklığın <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	123
4.3.13. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	124
4.3.14. Biyokütle Miktarının <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	126
4.3.15. İnkübasyon Süresinin <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	127
4.3.16. pH'nın <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	128
4.3.17. Sıcaklığın <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	129
4.3.18. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	130
4.3.19. Biyokütle Miktarının <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	132
4.3.20. İnkübasyon Süresinin <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi.....	133
4.4. 50 mg/l Cd ve Mn Konsantrasyonunda Tutulan Bakteri Peletlerinin Asitle Çözünürleştirdikten Sonra Biyosorpsiyon Analizi.....	134
4.5. Farklı Bakteri Varyetelerinin Çalkalamalı ve Statik Koşullarda Kadmiyum Biyosorpsiyonunun Karşılaştırılması.....	135
4.6. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı ve Kurutulmuş Ölü <i>Geobacillus toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i> 'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu.....	136
4.6.XAD-4 Üzerine Tutuklanmış (İmmobilize Edilmiş) Ölü (Kurutulmuş) Bakteri <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> ile Ağır Metal biyosorpsiyon Çalışmaları.....	137

4.7.1. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) Bakteri <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> ile Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nun Prekonsantrasyonu	137
4.7.2. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> 'in Cd Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi	138
4.7.3. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) <i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> ile Doğal Atık Sularda Bulunan Bazı Metallerin (Cd, Cu ve Ni) Prekonsantrasyonu.....	139
5.TARTIŞMA SONUÇ	140
6. REFERANSLAR	164
7. TABLOLAR	192
8. ŞEKİLLER	194
9.ÖZGEÇMİŞ	198

AMAÇ

Son yıllarda mikroorganizmaların (mezofilik) metalleri yüksek oranda bağlama potansiyelleri göz önüne alınarak biyoteknolojide kullanımları gündeme gelmiştir. Bu çalışmada da değişik termofilik bakteri varyeteleri kullanılarak bu bakterilerin Cd, Co, Cu, Mn, Ni ve Zn gibi metallere dirençlilik, biyoakümülyasyon ve biyosorpsiyon değerleri tespit edilerek, bu bakterilerin çevre kirliliğini azaltmada kullanılabilirliği yanında, bu bakterilerin değişik dolgu maddesi ile kolonda immobilize edilerek düşük metal konsantrasyonlu suların konsantre hale getirilerek AAS (Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi) gibi aletlerle ölçülebilir hale getirme potansiyeli de göz önüne alınarak biyoteknolojik anlamda değerlendirilmeleri amaçlanmıştır.

ÖZET

Bu çalışmada Nicolaus B. ve arkadaşları tarafından izole edilen ve tanımlanan termofilik karakterdeki *Geobacillus toebii* sub sp. *decanicus*, *Bacillus thermantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* bakterilerin farklı metallere (Cd, Co, Cu, Mn, Zn ve Ni) karşı toleranslarını için minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) katı besiyerinde tespit edildi.

Ayrıca, farklı metal (Cd, Co, Cu, Mn, Zn ve Ni) konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*, *Bacillus thermantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* üremesine etkisi ve bu metallerin akümüülasyonu sıvı besiyerinde incelendi. Bu bakterilerin sıvı besiyerinde katı besiyerine göre daha duyarlı oldukları tespit edildi. Çalışılan dört farklı termofilik varyeteleri farklı biyoakümüülasyon kapasiteleri göstermiştir ve en yüksek Cd, Cu ve Zn biyoakümüülasyon kapasitelerinin sırasıyla; 7196,2; 6862,1 ve 36496 µg/g kuru bakteri ağırlığı olarak *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* ile elde edildiği, en yüksek Co biyoakümüülasyon kapasitesinin 620,1 µg/g kuru bakteri ağırlığı olarak *Bacillus thermoantarcticus* ile elde edildiği, en yüksek Ni biyoakümüülasyon kapasitesinin 977,2 µg/g kuru bakteri ağırlığı olarak *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile ve en yüksek Mn biyoakümüülasyon kapasitesinin ise 28566 µg/g kuru bakteri ağırlığı olarak *Anoxybacillus amylolyticus* ile gerçekleştirildiği tespit edildi.

Kurutulmuş ölü *Bacillus thermantarcticus* ve *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Cd, Co, Cu ve Mn *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ve *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından Cd, Cu, Mn, Zn ve Ni biyosorpsiyonu üzerine pH (2,0-10,0), sıcaklık (30-80 °C) , başlangıç metal konsantrasyonu (10, 25, 50, 100, 200 and 300 mg/l), biyokütle miktarı (0,25, 0,5, 1,25, 2,5, 5 and 10 g/l), zaman (15, 30, 45, 60, 90, 120 min.) ve çalkalamanın biyosorpsiyon üzerine etkisi çalışıldı. Termofilik bakterilerde tüm metaller için optimum pH değerleri 4,0-6,0 arasında tespit edildi. Termofilik bakterilerde metal uzaklaştırılması için optimum sıcaklık bakterilerin kendi üreme sıcaklıklarına yakın değerde olduğu tespit edildi.

Farklı Cd konsantrasyonlarına maruz kalan canlı ve kurutulmuş ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un hücre membranında metal biyosorpsiyonu belirlendi.

Ayrıca, Amberlit XAD-4 üzerine tutturulmuş ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in ağır metal prekonsantrasyonu ve uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn için prekonsantrasyon faktörü 125 olarak tespit edildi. Cd, Cu, Mn ve Zn metalleri için geri kazanım yüzdeleri % 100 olarak, Ni için ise % 97,5 olarak tespit edildi.

Anahtar Kelimeler: Termofilik bakteriler, Ağır metal, Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu (MIC), biyoakümülyasyon, biyosorpsiyon, immobilizasyon, prekonsantrasyon

SUMMARY

In this study, minimum inhibitory concentrations (MIC) of different heavy metals (Cd, Co, Cu, Mn, Zn and Ni) in order to investigate the metal tolerance in thermophilic bacteria *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*, *Bacillus thermantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus* and *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* which were isolated and identified by Nicolaus et al. were determined in the solid media.

Furthermore, the effect of different metal concentrations (Cd, Co, Cu, Mn, Zn and Ni) on the growth of bacteria and bioaccumulation on *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*, *Bacillus thermantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, and *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* were investigated in the liquid media. In this study, it was found that the bacteria in liquid media were more sensitive than in the solid media. The different thermophilic bacteria strains tested presented distinct uptake capacities, and maximum Cd, Cu, and Zn bioaccumulation results were obtained with *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* (7196,2; 6862,1 and 36496 µg/g dry weight respectively), maximum Co bioaccumulation result was obtained with *Bacillus thermoantarcticus* (620,1 µg/g dry weight), maximum Ni bioaccumulation result was obtained with *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* (977,2 µg/g dry weight) and maximum Mn bioaccumulation result was obtained with *Anoxybacillus amylolyticus* (28566 µg/g dry weight).

Effects of pH (2,0-10,0), temperature (30-80 °C), initial metal ion concentration (10, 25, 50, 100, 200 and 300 mg/l), effect of dried powdered cell concentration (0,25, 0,5, 1,25, 2,5, 5 and 10 g/l), contact time (15, 30, 45, 60, 90, 120 min.) and agitation on biosorption of Cd, Co, Cu and Mn by dried powdered bacteria *Bacillus thermantarcticus* ve *Anoxybacillus amylolyticus* and on the biosorption of Cd, Cu, Mn, Zn and Ni by dried powdered bacteria *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* and *Geobacillus toebii* sub sp. *decanicus* were tested. The optimum pH values were found to be at the range of 4,0-6,0. The optimum temperature for metal

removal by thermophilic bacteria studied was found to be near their optimum growth temperature.

Metal biosorption capacity of the cell membrane of wet and dried powdered cells of *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* exposed to different Cd concentration was determined.

Besides, dried powdered cells of *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* immobilized onto Amberlite XAD-4 were used for heavy metal preconcentration and removal. Preconcentration factor for Cd, Cu, Ni, Mn, and Zn was determined as 125. The recoveries of Cd, Cu, Mn, and Zn were found to be 100 % and for Ni was found to be 97,5 %.

Key words: Thermophilic bacteria, Heavy metal, Minimum Inhibition Concentration (MIC), bioaccumulation, biosorption, immobilization, preconcentration

1. GİRİŞ

Son yıllarda nüfustaki hızlı artış, enerji ve besin yetersizliği, düzensiz kentleşme, insanların aşırı tüketim isteği ve başdöndürücü bir hızla gelişen teknolojik ilerlemeler, çevre kirliliği sorununun önemini iyice hissettirir hale getirmiştir. Söz konusu sorunların çözümlenmesinde önemli rol oynayan teknolojik gelişmeler, insanlığın yararına birçok yeni ve alternatif ürünler sunarken küçümsenmeyecek oranda ve nitel- nicel yönden oldukça farklı atıklar oluşmaktadır (**Dönmez, 2006**). Bu tür katı ve sıvı atıkların arıtmaları mevcut geleneksel arıtım süreçleri ile yeterli düzeyde yapılamamaktadır. Bunun yanında etkili bir arıtım ise, ilgili endüstri kuruluşlarına oldukça pahalıya mal olmaktadır. Bu nedenle, günümüzde birçok endüstri kuruluşlarının önemli sorunu olan bu tür atıkların arıtımında; ekonomik yönden ucuz, pratik uygulamalarda kolaylık sağlayacak arıtım süreçlerine yönelik geniş bilimsel araştırmalar yapılmaktadır (**Uğurlu, 2004**).

Çevre kirliliğini artıran ve ekolojik dengenin bozulmasında önemli rol oynayan endüstri kuruluşlarının başında, atıksularında ağır metal içeren kuruluşlar gelmektedir. İlgili endüstri kuruluşları, süreçleri gereği çeşitli ağır metalleri kullanmaktadır (**Sağlam ve Cihangir, 1995**). Bu metaller içerisinde kurşun, çinko, bakır, kobalt, kadmiyum, krom, nikel, arsenik, civa ve gümüş gibi metal iyonları, kalıcı etkilerinden dolayı canlı sistemleri ve çevre sağlığı yönünden önem taşımakta olup belirli bir sınırı aşınca da son derece toksik etki göstermektedir (**Ceylan ve Şanlı, 1980; Wong ve Kwok, 1992**).

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ağır metaller ve türevlerinin çevrede yaygın olarak bulunması endüstriyel faaliyetlerin doğal bir sonucudur. Ancak ağır metallerin canlı tarafından fark edilmeden dokularda biriktirilebilmesi ve metabolizmada bu ağır metallerin neden olabileceği toksik etkiler tartışılmaz bir gerçektir. (**Çabuk ve ark., 2007**).

Son zamanlarda ağır metallerin hem en önemli, hem de en tehlikeli maddeler olduğunu görüyoruz. Bazı araştırmacılar, ağır metal kirlenmesini en ciddi çevre problemi olarak değerlendirmektedirler. Endüstri atıklarından kaynaklanan ağır

metallerin, su kirliliğinde oynadıkları rol büyüktür. Bu metaller; insan, hayvan ve bitki için tehlike arz etmektedir. Besin zinciri ve özellikle su ile insan vücuduna giren bu ağır metaller ciddi hastalıklara, hatta ölüme yol açmaktadırlar (**Gül, 1992; İleri, 1993**)

Ağır metallerin gerek endüstriyel atık sularından ve gerekse ağır metal ile kirlenmiş/kirletilmiş çevresel su kaynaklarından uzaklaştırılmasında çeşitli kimyasal ve fiziksel süreçler (çökeltme ve çamur ayırma, kimyasal oksidasyon, iyon değişimi, ters ozmoz, elektro-kimyasal uygulama ve buharlaşma vb.) kullanılmaktadır (**Volesky, 1987; Elmacı ve ark., 2005**). Ancak bu yöntemlerin ekonomik olmayışları ve elde edilen arıtım düzeyinin yeterli olmaması nedeniyle bu alanda önemli bir potansiyele sahip mikroorganizmaların etkin bir şekilde kullanıldığı ve tercih edildiği görülmektedir (**Gadd, 1990; Matheickal ve Yu, 1997; Çabuk ve ark., 2007**). Bu amaçla çeşitli bakterilerin, fungusların ve alglerin kullanıldığı bilinmektedir (**Akar ve ark.; 2006; Çabuk ve ark., 2006; Tunalı ve ark., 2006**).

Mikroorganizmaları kullanarak ağır metallerin biyolojik iyileştirilmesi (biyoremediasyon), sadece bilimsel yenilik açısından değil, bunun yanında endüstrideki potansiyel uygulanırlığı açısından da son yıllarda büyük ilgi görmeye başlamıştır. İlk olarak radyoaktif elementlerin sulu ortamda mikroorganizmalar tarafından doğrudan adsorplanabildiğine dikkat çekilerek, bu özelliğin mikroorganizmaların yaşam fonksiyonlarından bağımsız olduğu belirtilmiştir (**Tsezos ve Volesky, 1981**).

Metal iyonlarının sulu ortamlardan, uzaklaştırılmasında canlı ve ölü biyokütle kullanılmaktadır. Canlı biyoküteller tarafından gerçekleştirilen metal giderimine biyoakümülyasyon denilmektedir. Biyoakümülyasyonda, mikroorganizmalar ağır metallerle, hücre membranından karşılıklı taşınım, hücre duvarlarında biyosorpsiyon ve hücre dışı kapsüllerle tutulma, çökeltme, kompleks oluşumu ve oksidasyon-redüksiyon mekanizmalarının da içerisinde bulunduğu bir dizi mekanizmayla reaksiyon verirler. (**Dönmez ve Aksu, 2000; Elmacı ve ark., 2005**).

Biyosorpsiyon; biyolojik materyallerin, sulu çözeltilerdeki atık maddelerin hücre yüzeyi veya içinde akümüle edilmesidir. Çözeltideki metal iyonları, hücre

duvarlarındaki biyopolimerlerde bulunan kimyasal, fonksiyonel gruplarla tutulurlar. Yüzeydeki bu bağlanmalar amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, fosfat, tiyoeter ve diğer fonksiyonel gruplarla gerçekleşir (Aksu ve Kutsal, 1991; Drake ve Rayson; 1996; Madrid ve Camara; 1997; Lale ve ark., 2005). Metal iyonlarının biyosorpsiyonu genel olarak adsorpsiyon, iyon değiştirme, kompleksiyon ve mikroçökeltme olaylarını ihtiva etmekte olup, hızlı ve tersine döndürülebilen bir olaydır (Volesky, 1987).

Diğer bir gelişme de hücrelerin tutuklanarak (immobilizasyon) kullanılmış olmasıdır. Tutuklanmış hücre kullanım metodu; hem hücrelerin arzu edilen bir şekilde kolayca elde edilmesine, hem de dayanıklı biyokütle oluşmasına vesile olur, ve biyokütlenin tekrar tekrar biyosorpsiyon-desorpsiyon olarak kullanılmasını sağlar. Tutuklanmış hücre metodunun kullanılmasıyla değişik reaktör şekilleri teşhis etmek kolaylaşmaktadır (İleri ve ark., 1994).

Bugüne kadar gerçekleştirilen biyosorpsiyon, biyoakümülyasyon ve immobilizasyon işlemleri için mezofilik mikroorganizmalar kullanılmıştır. Bu çalışma ile termofilik mikroorganizmaların da söz konusu işlemler için kullanılabileceği ilk kez araştırılmıştır.

GENEL BİLGİLER

1.1. Metaller ve Çevresel Etkileri

Antik çağlarda metal cevherleri işlenmeye başlandığından beri metaller insan faaliyetleri sonucu olarak doğal çevrimler dışında atmosfere, hidrosfere ve pedosfere yayılmaya başlamışlardır. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metalleri etkilerini bilmeden takı, silah, su borusu vb. çeşitli amaçlar için kullanmışlardır. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlanması ile endüstri bölgelerindeki ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmış ve ağır metal kirliliğinden kaynaklanan ilk tanımlanan zehirlenmeler Japonya'da ortaya çıkmıştır (Başkaya ve Teksoy, 1997) .

Ağır metaller kayaçların ve dolayısıyla toprakların doğal bileşenleridir ve topraklar bileşimlerine bağlı olarak farklı oranlarda ve formlarda ağır metal içerirler. Ağır metallerin çevredeki jeolojik nedenlerle oluşan doğal dağılım deseni son yıllarda antropojen etki ile önemli ölçüde değişmeye başlamıştır (**Başkaya ve Teksoy, 1997; Kocaer ve Başkaya, 2003**).

Ağır metal terimi, düşük konsantrasyonlarda zehirli ya da toksik olan, nispeten yüksek bir yoğunluğa sahip metalik kimyasal elementler için kullanılır. Gerçekte ağır metal tanımı fiziksel özellik açısından yoğunluğu 5 g/cm^3 ten daha yüksek olan metaller için kullanılmaktadır. Ağır metaller dünya kabuğunun doğal bileşenleridir, yıkılmazlar ve yok edilemezler (**Yıldırım, 2004; Coral ve ark. 2005**). Bu gruba kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, civa ve çinko olmak üzere 60'tan fazla metal dahildir. Bu elementler doğaları gereği yer kürede genellikle karbonat, oksit, silikat ve sülfür halinde stabil bileşik olarak veya silikatlar içinde hapis olarak bulunurlar. Ağır metaller, su kaynaklarına, endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprağı ve dolayısı ile bileşimde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla geçerler. Sulara taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, sülfat, sülfür olarak katı bileşik oluşturarak su tabanına çöker ve bu bölgede zenginleşirler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı da suların ağır metal konsantrasyonu sürekli olarak yükselir (**Coral ve ark. 2005**).

Ağır metallerin ekolojik sistemde yayınımları dikkate alındığında doğal çevrimlerden daha çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle çevreye yayınımları söz konusu olduğu görülmektedir. Yıllık olarak doğal çevrimler sonucu 7600 ton kadmiyum, 18800 ton arsenik, 3600 ton civa ve 332000 ton kurşun atmosfere atılmakta iken insan faaliyetleri sonucu deşarj edilen miktarlar dikkate alındığında ise, kadmiyum (8 kat), civa ve kurşun, (6 kat), arsenik, (3 kat) daha fazladır (www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf).

Ağır metallerin çevreye yayınımlarında etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur

yakma tesisleridir. **Tablo 1**'de temel endüstrilerden atılan metal türleri genel olarak gösterilmiştir.

Tablo 1. Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri
(www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf)

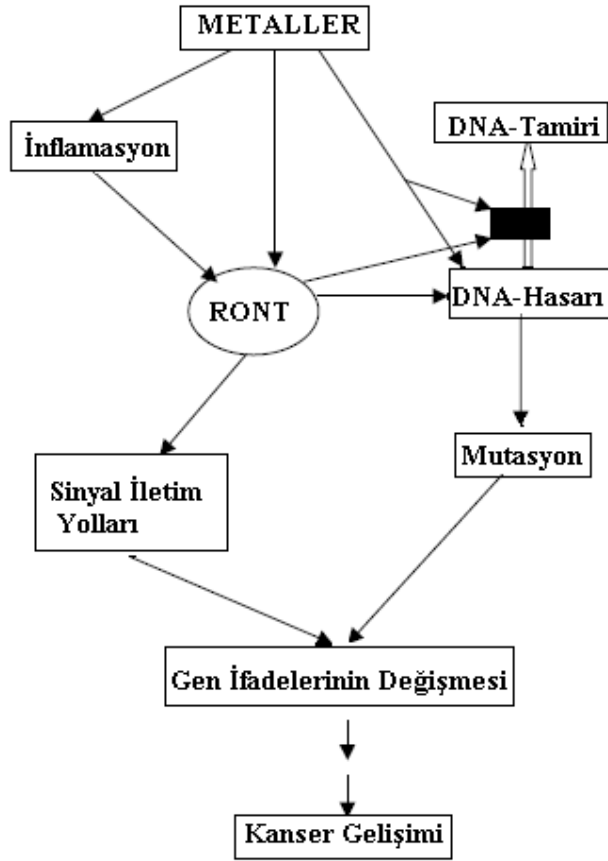
Endüstri	Cd	Cr	Cu	Hg	Pb	Ni	Sn	Zn
Kağıt Endüstrisi	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+	+
Klor-alkali Üretim	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre Sanayi	+	+	+	+	+	+	-	+
Demir-Çelik San.	+	+	+	+	+	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+	+	+	+	+	+

İnsan var olduğundan beri metallerle etkileşim halindedir. Aslında evrimde metalin oynadığı rol değerlendirilmeksizin insan evrimi yorumlanamaz. Hücrelerin normal fonksiyonları ve organizmaların hayatını devam ettirebilmesi için çeşitli metallerin varlığı gereklidir (**Galaris ve Evangelou, 2002**). Ağır metaller, biyolojik proseslere katılma derecelerine göre yaşamsal olan ve yaşamsal olmayan olarak sınıflandırılırlar. Yaşamsal olarak tanımlananların organizma yapısında belirli bir konsantrasyonda bulunmaları gereklidir ve bu metaller biyolojik reaksiyonlara katıldıklarından dolayı düzenli olarak besinler yoluyla alınmaları zorunludur. Ağır metal katyonları, azot bağlanması, fotosentez, oksijenli solunum ya da nitrat solunumu esnasında suyun yıkımı, bir elektron katalizi, C-C bağlarının tekrar düzenlenmesi, hidrojen asimilasyonu, ürenin yıkımı, genlerin mRNA'ya transkripsiyonu ve tek bir hücreden insana programlanmış gelişim gibi pek çok karmaşık biyokimyasal reaksiyonlarda önemli rol oynarlar. Bunları hepsi biyokimyasal ağır metal kompleks bileşikler tarafından katalizlenerek ya da oluşturularak gerçekleştirilir (**Bigerson ve ark., 1988**). Buna rağmen, yüksek konsantrasyonlarda bu ağır metal iyonları hücrede toksik etkiye neden olabilecek spesifik olmayan kompleks bileşikler oluşturur (**Katalay ve ark., 2005; Bigerson ve ark., 1988**).

Buna karşın esansiyel olmayan ağır metaller çok düşük konsantrasyonda dahi fizyolojik yapıyı etkileyerek metabolik reaksiyonları yavaşlatır ve canlı organizmalar için aşırı derecede zehir etkisi yapar (**Elmacı ve ark., 2007**). Bu gruba en iyi örnek kükürtlü enzimlere bağlanan civadır. Bir ağır metalin yaşamsal olup olmadığı dikkate alınan organizmaya da bağlıdır. Örneğin; nikel, bitkiler açısından toksik etki gösterirken, hayvanlarda iz elementi olarak görev alır (**Duffus ve Worth, 1996**).

Pekçok metal esansiyel olmasına rağmen, bütün metaller belli optimum seviyeyi geçtiğinde hücrelere karşı toksik etki gösterirler. Yüksek atom ağırlığına sahip ağır metal katyonları sülfat gruplarına güçlü bir şekilde bağlanma eğilimindedirler. Kobalt, nikel, bakır ve çinko'nun divalent katyonları düşük konsantrasyonlarda hayati fonksiyona sahiptirler ancak yüksek konsantrasyonlarda toksiktirler (**Choudhury ve Srivastava, 2001**).

Ağır metallerin toksik etkisiyle ilgili etkilerden kaçınmak için, hücreler ve organizmalar kompleks mekanizmalar geliştirmişlerdir. Örneğin, pek çok yapısal protein ve enzimin yeterli aktivitesi için metal iyonları gerekli olmasına rağmen proteinlerin çevresi bu metal iyonlarından korunmuş ve izole edilmiştir. Proteine bağlanmış metaller nispeten daha düşük toksiktirler. Aksine, proteinlerin, DNA'nın, lipidlerin, ya da diğer biyomoleküllerin yüzeylerine zayıf bağlanmış ya da serbest redoks aktif metal iyonları düşük seviyelerde dahi toksiktir. Bu metallerin hücre transformasyonunu indüklediği mekanizmalar net değildir, fakat bunların serbest radikal üretimine yol açmaları metalle indüklenen karsinogenezde rol aldıklarını gösterir (**Şekil 1**) (**Galaris ve Evangelou, 2002**). Demir, bakır, kadmiyum, krom, nikel ve diğer metal iyonları reaktif oksijen türleri üretme yeteneği gösterirler. Bu oksijen türleri, hücre içinde oluştuklarında lipid peroksidasyonu, DNA hasarları, sülfidril gruplarının azalması, değişen sinyal geçiş yolları ve kalsiyum homeostazisini indükleme yeteneğine sahiptir. Metal iyonlarının yol açtığı mutasyonlar ya başlangıç ya da tümör ilerlemesinin gözlemlendiği daha sonraki aşamalarda etkisini gösterir. Ancak karsinogenez karmaşık bir süreç olduğu için metaller normal hücre fonksiyonları etkileme ve kanserin gelişimine neden olma gibi pek çok farklı rol alabilirler (**Müller ve ark., 2000; Galaris ve Evangelou, 2002; Yıldırım, 2004**).



Şekil 1. Metallerle İndüklenen Olası Karsinogenez Mekanizması (Galaris ve Evangelou, 2002) (RONT: Reaktif oksijen ve nitrojen türleri)

Ağır metallerin insan metabolizmasında oluşturdukları etki ve etkin oldukları aşamaları ana sistemler açısından ele alırsak bunları;

- Kimyasal reaksiyonlara etki edenler
- Fizyolojik ve taşıma sistemlerine etki edenler
- Kanserojen ve mutajen olarak yapı taşlarına etki edenler
- Alerjen olarak etki edenler
- Spesifik etki edenler olarak sıralamak mümkündür (Baş ve Demet, 1992; Vural, 1993).

Bazı önemli ağır metallerin üzerinde durmak gerekmektedir.

1.1.1. Kadmiyum (Cd)

Kadmiyum, 1817 yılında keşfedilmiş toksik bir metaldir. Kadmiyum, çinko üretimine eşlik eden metal olarak üretilmiştir. Çinko üretimindeki çevreye salınımından önce havaya, yiyeceklere ve suya doğal süreçlerle önemli miktarlarda karışmamıştır. Ancak günümüzde kadmiyum da çevre kirliliğine sebep olan ağır metaller arasında yerini almıştır (www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs5.html). Günümüzde kadmiyum endüstriyel olarak nikel/kadmiyum pillerde, korozyona karşı özellikle deniz koşullarına dayanımı nedeniyle gemi sanayinde çeliklerin kaplanmasında, sigara dumanı, rafine edilmiş yiyecek maddeleri, su boruları, kömür yakılması, kabuklu deniz ürünleri, tohum aşamasında kullanılan gübreler ve endüstriyel üretim aşamalarında oluşan baca gazları, cam, tekstil, sentetik polimer, boya sanayinde, PVC stabilizatörü olarak, alaşımlarda ve elektronik sanayinde, deterjanlarda ve rafine petrol türevlerinde bulunur ve bunların çok yaygın kullanımı sonucunda da önemli miktarda kadmiyum kirliliği ortaya çıkar. Kadmiyum önemli miktarda gümüş kaynaklarda ve sprey boyalarda da kullanılmaktadır (**Baş ve Demet, 1992; Vural, 1993; Järup, 2003;Chatterjee, 2006**).

Kadmiyum aşırı uzun bir biyolojik yarılanma ömrüne (10-30 yıl) sahiptir ve bu durumdan dolayı çevrede bulunan en toksik maddelerden biri olarak kabul edilmektedir (**Yıldırım, 2004;Chatterjee, 2006**).

Kadmiyum ve çinko yerkürede bir arada ve benzer yapılarda bulunurlar. Bu iki metal insan vücudunda da benzer strüktürel ve fonksiyonel özellikler göstermektedirler. Kadmiyum, önemli enzim ve organ fonksiyonlarında çinkonun yerini alabilmektedir ve bu fonksiyonların gerekli şekilde gerçekleşmesini engellemektedir (**Chatterjee, 2006**). Zn ve Cd'nin vücut içindeki oranları Cd zehirlenmesi Zn yetersizliğiyle arttığından çok önemlidir. (www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf).

Kadmiyum, çeşitli mekanizmalara karışarak indüklenmiş toksisiteye yol açar. Kadmiyum, hücre içi iletişim ağına ve gen regülasyonuna karışır. Kadmiyum,

süperoksit dizmutaz ve katalaz gibi antioksidant enzimlerin aktivitelerinde değişikliklere neden olur. Lipit peroksidasyonu da aynı zamanda kadmiyum toksisitesiyle ilişkilidir. Ayrıca, kadmiyum toksisitesi reaktif oksijen türlerinin üretimiyle ilgilidir (Müller, 1991; Stohs ve Bagchi, 1995; Galaris ve Evangelou, 2002). Kadmiyumun, kültüre edilmiş insan hücrelerinde oksidatif stresi indüklediği bulunmuştur. Kadmiyumla indüklenen oksidatif stres negatif olarak DNA, RNA, ribozom sentezinde enzim sistemlerini etkileyebildikleri bildirilmiştir (Yu ve ark., 2004).

Kadmiyum diğer ağır metaller içinde suda çözünme özelliği en yüksek olan elementtir. Bu nedenle doğada yayılım hızı yüksektir ve insan yaşamı için gerekli elementlerden değildir. Suda çözünebilir özelliğinden dolayı Cd^{+2} halinde bitki ve deniz canlıları tarafından biyolojik sistemlere alınır ve akümüle olma özelliğine sahiptir (Waalkes, 2000). Kadmiyum vücutta % 20 gibi bir oranla çok iyi absorbe edilemiyor olsa bile, bu diğer birçok metale kıyasla oldukça yüksek bir orandır. Kadmiyum içeriği $0,01 \text{ mg/m}^3$ havanın 14 günden daha fazla solunması durumunda kronik akciğer rahatsızlıkları ve böbrek yetmezliği ortaya çıkar. Çünkü kadmiyum ve bileşikleri genellikle böbrekler ve karaciğerde birikirler ve burada kadmiyumu detoksifeye etmek için düşük moleküler ağırlıklı metalotiyoneinlere bağlanır (Kayhan, 2006).

Kadmiyum, genotoksik ve mutajenik durumlar üretebilmesine rağmen bu durum genellikle yüksek doz gerektirir. Kadmiyum redoks aktif bir metal olmadığı için, kadmiyum stabil DNA bileşim formları ve primer karsinojenik mekanizma gibi olası olmayan indirek oksidatif DNA zararı oluşturmaz. Böylece epigenetik, non-genotoksik ya da indirek genotoksik mekanizmalar yoluyla etkili olabilir. Böyle mekanizmalar apoptozisin bloke edilmesi ya da hücre çoğalmasının uyarılmasına neden olan anormal gen ekspresyonları içerebilir. Her iki potansiyel mekanizma genetik materyale zarar verilmeden karsinojenik dönüşümle sonuçlandığı bulunmuştur. Ayrıca kadmiyum bazı proto-onkogenleri veya hücre çoğalmasıyla ilişkili olan genleri aktive edebilir (Beyersman ve Hechtenberg, 1997; Doğru, 2007).

Kısa süreli olarak 0,05 mg/kg kadmiyum alınımı mide rahatsızlıklarına neden olurken, uzun süreli (>14 gün) 0,005 mg/kg/gün dozu böbrek ve kemiklerde önemli problemlere neden olmaktadır. Kronik kadmiyum zehirlenmesinde ortaya çıkan en önemli etki özellikle akciğer ve prostat kanseridir. Kadmiyum zehirlenmesine bağlı olarak kemik erimesi ve buna bağlı hastalıklarda görülür. Diğer taraftan kansızlık, dişlerin dökülmesi ve koku duyumunun yitirilmesi de önemli etkilerdir (**Doğru, 2007**).

1.1.2. Bakır (Cu)

Atmosfer koşullarında metalik gri tonunda bulunmayan iki metalden biri olan bakır, M.Ö. 5000 yılından beri tanınmaktadır ve adını ilk bulunduğu yer olan Kıbrıs'ın Latincesinden (aes cyprium:Kıbrıs cevheri, cyprium ve daha sonra Cuprum) almıştır. İlk kez Mısırlılar tarafından üretilen bakır, M.Ö. 3000 yılından itibaren (Bronz Çağı) Anadolu, Yunanistan ve Hindistan'da mekanik özellikleri alaşımlandırma yolu ile artırılarak kullanılmıştır (www.metalurji.org.tr/dergi/dergi137/d137_4651.pdf).

Endüstride bakırın önemli rol oynamasının ve çeşitli alanlarda kullanılmasının nedeni çok farklı özelliklere sahip olmasıdır. Bakırın en önemli özelliklerinin arasında yüksek elektrik ve ısı iletkenliği, aşınmaya ve korozyon direnci, çekilebilme ve dövülebilme özellikleri sayılabilir. Ayrıca alaşımları çok çeşitli olup endüstride (otomotiv, basınçlı sistemler, borular, vanalar, elektrik santralleri ve elektrik, elektronik vd.) değişik amaçlı kullanılmaktadır (<http://ekutup.dpt.gov.tr/madencil/metalmad/oik638.pdf>).

Evrimsel süreçlerde metal proteinlerinde bakır bulunur. 1816'da Bucholz ilk olarak bitki ve hayvan dokularında bakırın bulunduğunu rapor etmiştir. Bakır insan ve hayvan dokularında enzimler için gerekli olan insan diyetinin gerekli bir iz elementidir (**Brewer ve ark., 2001**).

Bakır içeren biyolojik bileşiklerin ana fonksiyonu oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonlarıdır. Bakır içeren biyolojik moleküller serbest radikaller üretmek için moleküler oksijen ile direkt reaksiyona girer. Yüksek bakır konsantrasyonlarının

oluşturduğu toksit serbest hidroksil radikallerinin DNA'ya zarar vermesi ile kanser ve hücre proliferasyonunun arttığı bulunmuştur. (**Theophanides ve Anastassopoulou, 2002**). İkinci en önemli olay, bakır iyonu hücre içinde oksijen-bağımlı zararlı reaksiyonlara katılır. Aynı zamanda, sitokrom oksidaz, SOD, askorbat oksidaz, lizin oksidaz ve tirozinaz gibi pek çok enzimlerin yapısal bir parçasıdır (**Galaris ve Evangelou, 2002; Nasulewicz, 2004**).

Bakırın DNA'ya yüksek bir ilgi ile bağlandığı bulunmuştur. Özel bölgelere bakır iyonlarının bağlanması proteinlerin, polinükleotidlerin, DNA'nın ve biyomembranların üç boyutlu yapılarını modifiye edebilir (**Theophanides ve Anastassopoulou, 2002**).

Bakır vücut fonksiyonları açısından önemli olmakla beraber özellikle saç, derinin esnek kısımları, kemik ve bazı iç organların temel bileşenidir. Erişkin insanlarda ortama 50-120 mg bulunan bakır, amino asitler, yağ asitleri ve vitaminlerin normal koşullarda metabolizmadaki reaksiyonlarının vazgeçilmez ögesidir. Birçok enzim ve proteinin yapısında bulunan bakır, demirin fonksiyonlarını yerine getirmesinde aktivatör görevi üstlenir. Bakır eksikliğinde hayvanlarda anormallikler, kansızlık, kemik hataları ve sinir sisteminde bozukluklar tespit edilmiştir (**Vanderwerf ve ark., 2001**).

Akut bakır zehirlenmesi seyrek olarak gözlenir. Akut bakır zehirlenmesinde gözlenen belirtiler tükürük salgısının artması, mide ağrıları, bulantı, ishal gibi sindirim sistemi mukozasının tahriş olmasından kaynaklanır. Ayrıca alınan doza bağlı koma durumuna ve ölümlere sebebiyet verebilir. İçme sularında Dünya Sağlık Örgütü tarafından açıklanan sınır değeri 2mg/l'dir (**Habashi, 1997**).

1.1.3. Nikel (Ni)

Nikel ilk olarak Axel Cronstedt (1751) adlı İsveçli bir minerolojist tarafından bulunmuştur. Nikelin başlı başına bir element olduğu 1775'de Torbern Bergman ve arkadaşları tarafından kanıtlanmış ancak 1804'e kadar herhangi bir üretimi yapılmamıştır. İlk saf metal üretimi Jeremias Richter (1804) tarafından yapılmıştır. İlk bulunuşundan sonra uzun bir süre boyunca nikel içeren alaşımlar üretilmiştir. 1830'larda "Alman Gümüşü" olarak bilinen bakır-nikel-çinko alaşımları İngiltere ve

Almanya’da büyük miktarlarda üretilmiştir. 1870’de çelik alaşımlandırma elementi olarak önem kazanan nikel, daha sonra elektrolitik olarak kaplama teknolojisinin geliştirilmesiyle geniş bir kullanım alanı bulmuştur (www.metalurji.org.tr/dergi/dergi137/d137_4651.pdf).

Benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı metalik nikel ve onun bileşikleri, modern endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır. Nikelin büyük bir çoğunluğu (% 80), korozyon ve ısı direncinin yüksek, sertliğinin ve dayanımının iyi olması sebebiyle alaşım üretiminde kullanılmaktadır. Nikel hem altın için mükemmel bir beyazlatıcı hem de bakır ile birlikte kullanıldığında mekanik özellikleri, işlenebilirliği ve döküm özellikleri iyi olan bir alaşım eldesini mümkün kılan önemli bir elementtir (**Vural, 1993; Denkhaus ve Salnikow, 2002**). Nikelin ana kullanım alanları; paslanmaz çelik, bakır-nikel alaşımları ve diğer korozyona dayanıklı alaşım üretimleridir. Saf nikel; kimyasal katalizör olarak elektrolitik kaplamada ve alkali pillerde, pigmentler, madeni para, kaynak ürünleri, mıknatıslar, elektrotlarda, elektrik fişlerinde, makine parçaları ve tıbbi protezlerde kullanılmaktadır (**Vural, 1993; Denkhaus ve Salnikow, 2002; <http://ehp.niehs.nih.gov/roc/tenth/profiles/s118nick.pdf>; www.portfolio.mvm.ed.ac.uk/studentwebs/session2/group29/nicktox.htm**).

Nikel karsinogenезisinin moleküler temelini kanıtlanması zordur. Bunun nedeni karsinogenik nikel bileşiklerinin DNA onarım aktivitesini inhibe etmesi ve DNA’ya oksidatif zarar üretmesine rağmen pek çok deney sistemlerinde zayıf mutajenik etkiye sahip olduğu bulunmuştur (**Watt ve Ludden, 1999**).

Yüksek organizmalardaki nikelin gerekliliği sorgulanabilir. Yüksek organizmalardaki canlılarda bilinen nikel içeren hiçbir enzim ya da koenzim yoktur. Tüm bu faktörler nikelin insanlar için yararlı olup olmadığını karar vermeye kesin bir katkıda bulunmaz (**Denkhaus ve Salnikow, 2002**).

Nikel tüketen hayvanların karaciğerlerinde demir, bakır ve çinko konsantrasyonları azalmıştır. Aynı zamanda nikel eksikliği karbonhidrat ve amino asit

metabolizmasında görev alan pekçok enzimin spesifik aktivitesinde düşüğe neden olmuştur (**Nielsen, 1991**).

Bakteriyel hayatta çok iyi bilinen yedi adet nikel içeren mikrobiyal enzim belirlenmiştir. Bunlar; üreaz, hidrojenaz, CO-dehidrojenaz, metil-koenzim M redüktaz, ni-süperoksit dizmutaz, glioksilaz I ve cis-trans izomeraz'dır (**Ragsdale, 1998**). Nikel içeren enzim bulunduran bakteriler Ni biyometabolizmasını, taşıma sistemlerini ve nikel bağlayıcı proteinleri çalışmak için iyi bir modeldir (**Watt ve Ludden, 1999**).

Yüksek nikel alınımı ile ilgili çalışmalar nikelin teratojenik olduğu ve karsinojenik potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. Nikel belirgin bir şekilde DNA ile reaksiyona girmemesine rağmen proteinlerle güçlü bir etkileşim kurar. Bu kurulacak ilişkinin kuvveti mevcut olan amino asit kompozisyonuna bağlıdır ve en yüksek affinitenin histidin artıkları ile olduğu görülür (**Crowe ve ark., 1994**).

1.1.4. Kobalt (Co)

Kobalt adını ortaçağ avrupa madencilerinin kurşun ve kalay madenlerinin üretimi esnasında oluşan, ergimeyen ve metalin kullanılmasını engelleyen katı yapı nedeniyle maden ruhu, şeytan anlamına gelen "Kobold" tanımlamasından almıştır. M.Ö. 2000'li yıllardan beri kobalt bileşikleri cam ve emayede mavi boya olarak kullanılmasına rağmen, element olarak 1742 yılında İsveçli araştırmacı G. Brant tarafından yeni bir metal olarak ve 1780'de Torbern Bergman tarafından element olarak tanımlanmıştır (**Habashi, 1997**).

Kobalt stratejik ve endüstriyel uygulamalarda ve askeri alanda önemli kullanım alanlarına sahiptir. Kobalt, en çok süper alaşım olarak jet motor türbinlerinde kullanılırken, malzemelere manyetiklik özelliği kazandırma, korozyondan korunma ve mekanik özelliklerin iyileştirilmesi amacıyla alaşımlarda, yüksek hız çeliklerinde, takım çeliklerinde, elmas takımlarında ve kesici uçlarda alaşım elementi olarak da kullanılır. Bileşikleri ise petrol ve seramik endüstrisinde katalizör ve boyalarda pigment, mürekkep ve verniklerde kurutma maddesi olarak kullanılır. Ayrıca pil elektrotlarında, her tip manyetik malzemelerde ve kayıt cihazlarında kullanılmaktadır (www.atsdr.cdc.gov/tfacts33.html).

Kobalt ve kobalt bileşiklerinin insanlar üzerinde kansere neden olduğuna dair henüz kesin bulgular olmamasına rağmen, kobalt bileşikleri risk teşkil etmektedirler ve kanserojen madde gibi muamele görürler. Kobalt içeren implant takılan bölgelerde tümör oluşumuna da rastlanmış ve hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, kobalt sülfitin, tek zincir DNA kırıklarına neden olduğu bulunmuştur (**Kawanishi, ve ark., 1994**). Ayrıca, kobalt, indirekt olarak oksidatif stres oluşturarak, reaktif oksijen türlerinin birikmesine neden olur (**Freeman ve ark., 2005**).

Günlük besin ihtiyacımızda çok küçük bir yer teşkil eden kobalt, kırmızı kan hücreleri üretiminin ve sinir düzenlenmesinde kullanılan B12 vitaminin bileşenidir. Kobalt vücutta yapı taşı olarak bulunur ve anemiyi engeller, ayrıca B12 vitaminin; yorgunluk, sindirim kolaylığı ve kas problemlerinin giderilmesine faydası vardır. Yetersiz kobalt alınımında pernisiyöz (zararlı) anemi ve sinirlerde bozukluk gibi pek çok problemler ve semptomlar ortaya çıkar ancak yeterli B12 vitamini alınarak etkiler ortadan kaldırılabilmektedir (**Kawanishi, ve ark., 1994**).

1.1.5. Mangan (Mn)

Mangan ilk olarak C.W. Scheele ve ark. tarafından fark edildi ve 1774'te J.G. Gohn tarafından ilk kez bir serbest metal olarak izole edildi. İlk kez bulunduğu manyetik kayadan isimlendirilmiştir. Yer kabuğu üzerindeki en yaygın 12. elementtir ve % 0.1'ini oluşturur. Mangan serbest metal halinde bulunmaz ve 100 mineralden daha fazlasıyla bileşik halinde bulunabilir. Buna ek olarak % 7-27 oranında deniz tabanındaki nodüllerde bulunur (**Liu ve ark., 2005**).

Mangan yoğun bir şekilde; metalurjide, kuru hücre pillerinde, fungusit olarak (MANEB), camlarda, seramiklerde, boyalarda, pigmentlerde, toprak ve gıda katkı maddelerinde ve tıpta yüzyıllardır veya daha fazla bir süredir yoğun bir şekilde kullanılmıştır. Manganın % 90'ından daha fazlası demir ve çelik yapımında ve demirsiliko mangan alaşımlarında kullanılır. Diğer kullanım alanları ise korozyonu azaltmak için bakır veya alüminyum alaşımı şeklinde, permanganat ile olan alaşımlarında ise kimyasal endüstrilerde oksidasyon reaksiyonlarında kullanılır (**Gerber ve ark., 2002**).

Diğer bir taraftan esansiyel bir element olan mangan, antioksidant savunma sisteminde önemli bir role sahiptir ve aynı zamanda kanser hücrelerini modifiye eden süperoksit dizmutazın'ın (MnSOD) bir parçasını oluşturur (**Parker, ve ark., 1987; Liu ve ark., 2005**).

Bakterilerde yüksek dozdaki mangan, DNA replikasyonunu ve onarımını etkilemektedir. AMES testinde özellikle manganın sorumlu olmadığı görülmesine rağmen mikroorganizma ve memeli hücrelerinde mangan DNA zararlarına ve kromozom kırılmalarına neden olur. Yüksek oranda mangan memelilerde verimliliği etkiler ve embriyo ve fetüs üzerinde toksik etkiye sahiptir (**Domingo, 1994**). Mangandan kaynaklanan kanser üzerine olan bilgiler azdır. Fakat mevcut sonuçlar inorganik manganın karsinogenik olduğuna işaret etmemiştir (**Gerber ve ark., 2002**).

1.1.6. Çinko (Zn)

Metalik çinko kompleks cevherlerden yapılan bakır bazlı alaşımların üretiminde ortaya çıkmasına rağmen, üretimi hakkında kesin bir bilgi mevcut değildir. M.Ö. 1000 yıllarında Çinlilerin ve 14. yüzyılda Hindistanlıların metalik çinko ürettikleri ileri sürülmektedir. Avrupa'da Löhyenns ilk kez Goslar'da bu metali bulmuştur (1617) ve muhtemelen ismini de vermiştir (www.metalurji.org.tr/dergi/dergi137/d137_4651.pdf).

Çinko demir konstrüksiyon malzemelerinkine kıyasla daha elektronegatif olduğundan çinko kaplamalar çelik yapılar için çok iyi korozyondan korunma sağlarlar ve bu özellik en önemli kullanım alanını oluşturur. Çinko beyazı veya Çin beyazı olarak bilinen çinko oksit (ZnO), boya pigmenti olarak kullanılır Ayrıca demir, bronz, cam, kağıt yapımı, fungusitler, akü, ve kauçuk-lastik sanayinde kullanılmaktadır. Tıpta; dermal ürünler, antiseptikler, insülin preparatlarında da kullanılır (**Vural, 1993**).

Çinkonun ilk olarak 1869'da Raulin tarafından *Aspergillus niger*'in büyümesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (**McCall ve ark., 2000**). Mikroorganizmaları, bitkileri ve hayvanları içeren yaşayan bütün canlıların büyümesi gelişmesi ve farklılaşması için

esansiyel olduğu gösterilmiştir (**McCall ve ark., 2000; Choudhury ve Srivastava, 2001**).

Çinkonun gelişme, deri bütünlüğü ve fonksiyonu, yumurta olgunlaşması, bağışıklık gücü, yara iyileşmesi ve karbohidrat, yağ, protein, nükleik asit sentezi ya da degradasyon gibi sayısız fonksiyonu rapor edilmiştir. Alkol dehidrojenaz, karbonik anhidraz ve karboksipeptidaz gibi 70'den fazla metaloenzim fonksiyonu için ko-enzim bileşeni olarak gereklidir. Aynı zamanda DNA bağılı proteinlerin temel bileşenidir. tRNA sentetaz çinko bağımlıdır. Çinko eksikliği apoptizi etkin hale getirmektedir. Fizyolojik miktarlardaki çinko Cd, Hg, Pb ve Sn gibi diğer ağır metal iyonlarının zehirleyici etkilerini azaltmaktadır (**Glasfeld and Schimmel, 1997**).

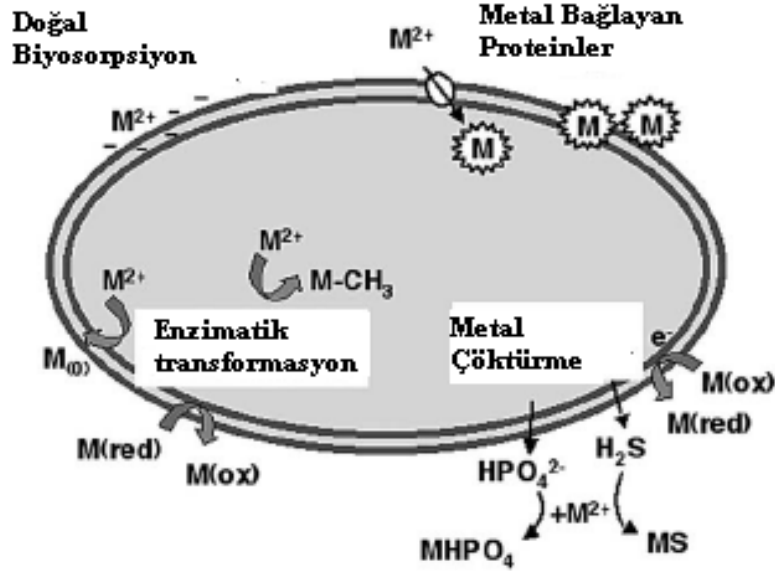
Yüksek çinko konsantrasyonları birçok önemli fonksiyonları etkileyen inhibitördür. Çinko bakteri ve mitokondrilerin elektron taşıma sisteminin potensiyel inhibitörü olarak bilinir. Toksisitesi Cd, Hg, Pb, Cu, Ni, ve Co gibi diğer metallerle karşılaştırıldığında nispeten daha düşük olduğu bulunmuştur (**Choudhury ve Srivastava, 2001**).

1.2. Ağır Metal Dirençliliği

Verilen bir metalin direnç oluşturma mekanizmasının gelişimi, hücre ile metalin etkileşimine bağılıdır. Pekçok hücre ağır metal iyonlarının iki tip alım sistemini kullanarak bu karmaşık problemi çözer. Birincisi hızlıdır ve spesifik değildir. Bu hızlı sistem bakteri stoplazmik membranı boyunca uzanan kemiosmatik gradient ile çalışır. Diğer ikinci tip yüksek substrat özgülüğüne sahiptir, yavaştır ve enerji kaynağı olarak ATP enerjisini kullanır. Bazen, kemiosmotik gradiyente ek olarak bu yüksek enerji gerektiren alım sistemleri sadece besin kıtlığı zamanında ya da özel metabolik durumlarda hücre tarafından kullanılır (**Choudhury ve Srivastava, 2001**).

Bakteriler ve diğer mikroorganizmaların ağır metallere karşı direnci (**Şekil 1**) için; geçirgen bir bariyer ile metalin dışarı atılması, metalin hücrelerden aktif taşınma ile dışarı çıkarılması, metale duyarlı olan hücresel hedefleri zarara karşı korumak için

proteinler ya da diğer ligandlar ile metali hücre içi fiziksel ayrılması, hücre dışı ayırma, transformasyon ve detoksifikasyon gibi çeşitli mekanizmalar geliştirdikleri bilinmektedir (Choudhury ve Srivastava, 2001; Valls ve Lorenzo, 2002).



Şekil 2. Bakterilerdeki Olası Ağır Metal Direnç Mekanizmaları (Valls ve Lorenzo, 2002)

Bir hücre, herhangi bir ağır metalin yüksek konsantrasyonu ile karşılaştığında, spesifik olmayan taşıyıcı proteinler daimi olarak salgılandığı için dışarıdaki yüksek konsantrasyona rağmen stoplazma içerisine ağır metal iyonları geçebilir. Bu yüzden hücre membranında bulunan geçitler kapatılmaz. Bu ağır metallerin toksik olmasının ilk nedeni açık geçit sistemidir (Nies ve Silver 1995).

Yüksek atomik numaraya sahip Hg^{+2} , Cd^{+2} ve Ag^{+2} gibi ağır metal katyonları bir kez hücreye girdiğinde özellikle sülfidril gruplarına bağlanma eğilimindedirler. Sülfidril gruplarına bağlanarak, metaller duyarlı enzim aktivitelerini inhibe edebilirler (Müler ve ark., 2000). Diğer ağır metal katyonları fizyolojik iyonlarla etkileşime girebilirler. Örneğin; Cd^{+2} ; Zn^{+2} , Ca^{+2} ve Ni^{+2} ile buna karşın Co^{+2} ; Fe^{+2} ile ve Zn^{+2} ise Mg^{+2} ile etkileşime girebilir. Böylece fizyolojik katyonların fonksiyonlarını inhibe ederler. Sonuç

olarak ağır metal oksianyonları, yapısal olarak metalle ilgisi olmayan metabolizmaya da müdahale edebilir ve ağır metal oksianyonlarının indirgenmesi radikal oluşumuna neden olabilir. (Nies, 1999).

1.2.1. Ağır Metal Dirençlilik Metabolizmasında Rol Alan Protein Aileleri

Biyolojik membran boyunca ağır metal taşıyan bu proteinler, yaşamın ilk günlerinden bu yana gelişen protein ailelerinin üyeleridir. Bu taşıma sistemleri taşıma işini gerçekleştirmek için gereken enerjiyi ATP hidrolizi ile karşılayabilirler. Örneğin, metal taşıyıcı protein ailesine mensup olan ABC-ailesi (Fath ve Kolter, 1993; Paulsen ve arkadaşları, 1997; Kolenbrander ve ark., 1998; Patzer ve Hanke, 1998), P-tipi ATP-azlar (Tao ve ark. 1995; Tao ve ark., 1998) ve A-tipi ATP-azlar (Kurado ve ark., 1997; Liu ve Rosen, 1997) ATP enerjisini kullanırlar. Stoplazmik membran boyunca bir proton gradiyentine sahip bakteride, bir protonun içeri geçişi bir metal katyonunun dışarı atılımı şeklinde gerçekleşebilir. Bunlar RND-taşıyıcılarıdır (Schmidt ve Schlegel, 1994; Rensing ve ark., 1997). Bazı durumlarda, metal taşımalarını kemiosmotik kuvvet ile gerçekleştirirler. Örneğin, HoxN- (Navarro ve ark., 1993; Komeda ve ark., 1997), Chr- (Nies ve ark., 1998), CorA- (MIT) (Paulsen ve ark., 1998; Nies, 1999) ve CDF-protein aileleri (Nies, 1999) bu şekilde çalışır.

Metalotiyoneinler (MT): Bu proteinler, birçok prokaryot ve ökaryotlarda bulunan, molekül ağırlığı düşük (6000-7000 D), metal bağlayan proteinlerdir (Güven, 1999). Metalotiyoneinler bir stresle indüklenebilir antioksidant özellikli proteinlerdir (Choudhury ve Srivastava, 2001). Metalotiyoneinler, aşırı yüksek metal ve sülfür içeriği ile karakterize edilirler, aromatik amino asitlerden ve histidin amino asitinden yoksundurlar (Güven, 1999; Choudhury ve Srivastava, 2001). Metalotiyoneinler, başlangıçta sadece Cd bağlayan proteinler olarak düşünülmüştür, ancak artan ilgi düzenine göre Zn, Cd, Cu, Hg ve Ag'ye de bağlandıkları bilinmektedir. Ökaryotlarda çok yaygın olmalarına karşın, prokaryotik metalotiyoneinler ilk olarak siyanoobakteri *Synechococcus* sp.'de tanımlanmıştır. Bu molekülün Cu, Cd ve Zn ile kompleks oluşturduğu ve yüksek oranda tiol içerdiği saptanmıştır. İlk olarak en iyi tanımlanan

bakteriyel metalotiyoneinler *Synechococcus* 6301'den elde edilmiştir (**Choudhury ve Srivastava, 2001**).

1.2.2. Bazı Ağır Metallerin Dirençlilik Mekanizmaları

Kadmiyum(Cd): Bakterilerde kadmiyuma direnç kadmiyumun dışarıya atılmasıyla ilişkilidir. Ancak siyanobakterilerin bu kuralın dışında olduğu görülür. Smt metalotiyonein sentezinin artışı kadmiyum direncini arttırırken, gen ekspresyonu azalması dirençliliği azaltır. Metalotiyonein geni smtA, SmtB regülatörü ile kontrol edilir. Ayrıca, siyanobakterilerde RND ve P-tipi taşıyıcı sistemler ile metal taşınması metalotiyoneinlerden kadmiyum dirençliliğinde daha önemli olduğu belirlenmiştir (**Turner ve ark., 1996; Thelwell ve ark., 1998**). Gram (-) bakterilerde temelde bir çinko taşıyıcı olan Czc ve nikel dışarı atıcı olan Ncc benzeri RND ile çalışan sistem tarafından kadmiyumun detoksifiye edildiği görülür. Gram (+) bakterilerde kadmiyum dışarı atıcı P-tipi ATPazın ilk örneği *Staphylococcus aureus*'daki CadA pompasıdır. Bu protein, P-tipi ATPazların alt ailesinin ilk üyesidir ve daha sonra bulunan bakır, kurşun ve çinko taşıyıcıları bu proteinle ilişkilidir (**Liu ve ark., 1997**).

Bakır (Cu): Bütün ağır metal katyonlarında olduğu gibi, özellikle bakır için hücre içi katyon konsantrasyonu iyi bir şekilde kontrol edilmelidir. Bakır metabolizması; *E. coli*'de, bazı ilişkili *Pseudomonas*'larda, Gram pozitif bakteri *Enterococcus hirae*'de ve *S. cerevisiae*'de çalışılmıştır (**Lee ve ark., 1994**).

E. coli'deki plasmidce kodlanan bakır dirençlilik mekanizması, gelişimin log fazındaki bakır azaltılmış akümülyasyondan ve aynı zamanda bunların dışarı atılmasına bağlıdır. Bununla birlikte statik fazda bulunan hücrelerdeki periplazmik kompleksasyon üzerine de dayalı olabilir (**Kanamaru ve ark., 1995**). Plazmidce kodlanan bakır dirençliliği ortak bir ikili komponent düzenleyici sistem ile düzenlenir ve güçlü bir şekilde kromozom ile kodlanan işlevlerle birliktelik içerisindedir. Bununla birlikte bakır homeostazisi kesin olarak ortaya konamamıştır. Ek olarak çeşitli organizmalarda bakırın taşınmasında CopA (bakır alınımlı ve bakterinin bakır ihtiyacını karşılar), CopB (bakırın dışarı atılması ve detoksifikasyonundan sorumludur), CopC ve CopD proteinlerinin ve

P-tipi ATPazların (*Enterococcus hirae*'deki cop operonundan kodlanır) ilişkili olduğu bulunmuştur (Spain, 2003).

Nikel (Ni): Bakteriler ve *S. cerevisiae*'de nikelin hücreye CorA sistemi ile girdiği bulunmuştur. Bununla birlikte CorA sistemi ilk tanımlanmış nikel taşıyıcı protein ailesi üyesidir. Nikel muhtemelen *A. eutrophus*'un HoxN'inde ve *Helicobacter pylori*'nin NixA'sında histidin artıklarına bağlanmıştır. Nikel alınımı muhtemelen kemiosmottik gradiyent ile çalışmaktadır. Şaşırtıcı bir şekilde *E.coli*'de nikel bir ABC taşıyıcısı tarafından sağlanmış ve bu taşıyıcı bir periplazmik nikel bağlayıcı protein ihtiva etmektedir. Çoğu ağır metal katyonlarında olduğu gibi nikel detoksifikasyonu taşıma ve/veya ayırma ile yapılabilir. *S. cerevisiae*'de nikel vakuol içerisine atılır ve muhtemelen vakuol içerisinde histidine bağlanır. Vakuol içerisine taşınma bir proton pompası ATPaz'ı gerektirir, aynı zamanda bu tarz Ni taşınması bir kemiozmotik gradiyent ile de gerçekleştirilebilir (Denkhaus ve Salnikow , 2002). En iyi bilinen nikel dirençli bakteri *A. eutrophus* CH34 ırkıdır ve bir RND taşıyıcı nikel dışarı atım sistemi ile çalışan bir sistem tabanlıdır. Tanımlanmış olan iki sistem vardır. Bunlar bir nikel-kobalt dirençli Cnr ve bir nikel-kobalt-kadmiyum dirençli Ncc'dir. (Schmidt ve Schlegel, 1994).

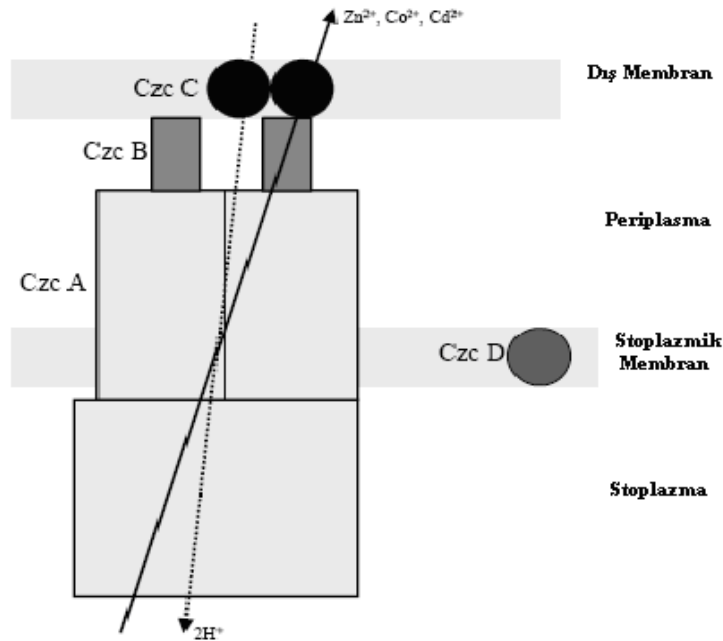
Kobalt (Co): Co^{+2} pekçok bakteri hücresinde CorA sistemi ile hızlı bir şekilde akümüle edilir. Kobalt konsantrasyonu düşük olduğu zaman herhangi bir ATP ile çalışabilen alım sistemleri saptanmamıştır. Fakat *R. eutrophus* ve *Rhodococcus rhodochrous*'da nikel taşıyan bir sistemin HoxN ile ilişkilendirilmiştir (Komeda ve ark., 1997). Gram negatif bakterilerde kobalt dirençliliği bir RND taşıyıcı ile çalışan zar boyunca uzanan dışarı atım sistemine dayalıdır. Kobalt dirençliliğinin ya nikel ya da çinko ağır metal dirençliliği ile ilişkili olduğu görülmüştür (Xiong ve Jayaswal, 1998). CDF protein ailesi üyelerinin de kobalt taşınmasında görev aldığı bulunmuştur. Kobalt, Gram negatif bakterilerde RND taşıyıcı sistemleri ile ökaryot ve Gram pozitif bakterilerde CDF taşıyıcıları tarafından detoksifiye edilir (Schmidt ve Schlegel, 1994).

Mangan (Mn): Mangan, Mg alım sistemi ile *A. eutrophus* içerisine alındığı bulunmuştur. *S. typhimurium*'da ağır metal katyonları temelde hızlı ve spesifik olmayan

CorA sistemi ve daha yavaş ve daha spesifik P-tipi ATP-azlar, MgtA ve MgtB tarafından akümüle edilir ki bu sistemlerin hepsi magnezyum alım sistemleridir. Bütün sistemler Mn^{+2} 'i de taşır, fakat normal koşullar altındaki bakteri hücreleri, diğer mangan taşıyıcı sistemlerin yanı sıra *S. cerevisiae*'de de bulunan CorA sistemi ile de Mn^{+2} taşır. Manganca kısıtlı şartlar altında bakterilerdeki mangan alınımı temelde ABC-ailesi taşıyıcıları ile kolaylaştırılabilir (Paulsen ve ark., 1998; Nies, 1999).

Çinko (Zn): Çinkonun yüksek seviyelerine olan direnç hücre dışı akümülyasyon, metalotiyoneinlerle ayırma, hücre içi fiziksel ayırım ya da dışarıya atma tabanlı oluşundan kaynaklanabileceği bildirilmiştir. Ayrıca, kemiosmotik CDF ve RND sistemleri ve P-Tipi ATPaz tabanlı çinko dışarıya atım sistemleri bilinmektedir. P-Tipi ATPaz'lar çinkoyu sadece stoplazmik membran boyunca taşıırken, Gram negatif bakterilerdeki RND sistemlerinde bütün hücre duvarı boyunca taşıdıkları düşünülmektedir (Choudhury ve Srivastava, 2001). *S.cerevisiae*'de 2 ayrı çinko alım sistemi mevcuttur. Yüksek substrat affinitesi gösteren birinci sistem çinko eksikliği yaşayan hücrelerde indüklenir. (Zhao ve Eide, 1996).

Czc Dışarı Atım Pompası: Plazmid pMOL *czc* operonu 3 yapısal genden oluşur. Bunlar CZcC, CzcB ve CzcA' dır. Bu genlerin ürünleri kompleks katyon dışarıya atım pompasını oluşturur (Şekil 3). CzcA, bir CDF proteindir ve H^+ gradiyenti ile çalışan pompa olarak rol üstlenir. CzcB, bir MFP proteindir ki bu muhtemelen iyonları periplazmik boşluğa bırakmaksızın, membranlar boyunca dışarıya atılmasını kolaylaştırmak ve iç membran ile dış membran iletişimde bir role sahiptir. CzcC, bir OMP proteindir ve taşımının dış membran boyunca etkin bir şekilde gerçekleşmesinde rol oynar (Choudhury ve Srivastava, 2001).



Şekil 3. Czc Dışarı Atım Pompası (Choudhury ve Srivastava, 2001)

1.3. Ağır Metallerle Kirletilmiş Atık Suların İyileştirme Yöntemleri

Endüstriyel aktivelerin artması çevresel kirlenme problemlerini şiddetle arttırmakta (Lalitagaury ve ark., 2000) ve toksik metaller gibi çoğu kirleticilerin birikmesiyle birçok ekosistem bozulmaktadır (Costa ve Duta, 2001; Gazso, 2001; Teitzel ve Parsek, 2003; Zouboulis ve ark., 2004). Ağır metal kirliliği, elektrokaplama, otomobil endüstrisi, elektriksel ve elektronik materyallerin üretilmesi ve kullanılması, batarya, seramik, matbaacılık, frezecilik, plastik üretimi, pigment, fotoğraf, boru, silah, lastik, film ve metalurjik gelişmeler sonucu meydana gelir (Schneegurt, 2001; Malik, 2004; Zouboulis ve ark., 2004; Tawfik ve ark., 2005). Diğer kirleticilerle karşılaştırıldığında metallerin daha önemli olması bu maddelerin sulu ortamda biyolojik olarak ayrışamamasından kaynaklanır (İlhan ve ark., 2004). Ağır metaller ile kirlenilen atıksular, genellikle BOİ (Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı) değeri düşük ve asidik sularlardır (Malkoç ve Nuhoğlu, 2006). Giderek büyüyen tehlike çevrede bulunan ağır metaller sağlık problemleri meydana getirir ve besin zinciri

yoluyla yaşayan dokularda birikmesi ciddi sağlık problemlerini ortaya koyar (**Malik, 2004; Zouboulis ve ark., 2004; Chen ve Pan, 2005**).

Hemen hemen bütün metaller; su içinde yaşayan organizmaların yanı sıra, maruziyet seviyesi yeterince yüksekse insanlar için de toksik etki gösterirler. Bu nedenle insan sağlığı ve su ekosistemleri üzerindeki olumsuz etkilerinden dolayı metal iyonları çeşitli yöntemlerle su ve atık sulardan giderilmelidir (**İlhan ve ark., 2004**). Çevre mühendisleri ve bilim adamları atıkların iyileştirilmesi için düşük maliyetli uygun teknolojiler geliştirmekle karşı karşıya kalmışlardır (**Nourbakhsh ve ark., 1994**)

1.3.1. Ağır Metallerle Kirletilmiş Atık Suların İyileştirilmesinde Kullanılan Geleneksel Teknikler

Günümüzde, endüstriyel sıvı atıklardan ağır metallerin giderilmesinde çeşitli geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar; kimyasal çöktürme, iyon değişimi, elektro-kaplama, elektro-koagülasyon, sementasyon, ters osmoz ve elektro-diyaliz şeklinde sıralanabilir (**Ahluwalia ve Goyal, 2007**).

1. Çöktürme: Sulardaki ppm seviyesindeki toksik ağır metalleri uzaklaştırmada en yaygın kullanılan yöntemdir. Bazı metal tuzları suda çözünmez ve doğru anyon eklendiği zaman çökeltme gerçekleşir. Yöntem maddi olarak uygun olmasına rağmen, etkinliği düşük pH'da ve diğer tuz iyonlarının varlığında etkili olur. Yöntem, diğer kimyasalların eklenmesini gerektirir ki bu durumun sonucunda ise fazla sulu çamur meydana gelir. Bu çamuru yok etme fazla maliyet gerektirir. Kireç, bisulfit veya iyon değişimi ile çöktürmenin özgünlüğü yoktur ve düşük konsantrasyonlu metal iyonlarını uzaklaştırmak için etkisizdir.

2. İyon-değişimi: İyon-değişimi, endüstrilerdeki atık sulardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında başarılı bir şekilde kullanılan diğer bir metottur. Diğer metodlar ile kıyaslandığında nispeten pahalı olmasına rağmen, geniş hacimlerle çalışılabilmekte ve ppm seviyesindeki ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Bir iyon-değiştirici, ya katyonları ya da anyonları çevrelerindeki metallerle değiştirme yeteneği

olan bir maddedir. İyon-değişimi için genelde kullanılan matriksler sentetik organik iyon değiştirici reçinelerdir. Bu yöntemin dezavantajı, atık sulardaki organik ve diğer katılar tarafından matriksin kolayca kirlenmesinden dolayı konsantr metal çözeltilerinin kullanılamamasıdır. Buna ilaveten iyon-değişimi seçici değildir ve pH'ya oldukça fazla duyarlıdır.

3. Elektro-kaplama: Bu yöntem madencilikte ve metalurjik endüstriyel işlemlerde süzüntülerin kümelenmesi ve asit maden drenajında yaygın olarak kullanılır. Metallerin uzaklaştırılması ve geri kazanımı için metal transformasyonu ve elektrik-elektronik endüstrisinde de kullanılır. Ag, Au, Cd, Co, Cr, Ni, Pb, Sn ve Zn gibi atık sularda bulunan metaller çözünmeyen anotlar kullanılarak elektro-depozisyon yoluyla iyileştirilebilir.

4. Elektro-koagülasyon: Metalleri solüsyonlardan uzaklaştırmak için elektrik akımının kullanıldığı elektrokimyasal bir yaklaşımdır. Elektro-koagülasyon sistemi çözünmeyen metallerin, tanenlerin ve boyaların uzaklaştırılmasında etkilidir. Atık sularda bulunan kontaminantlar elektriksel yüklenme tarafından çözeltilerde muhafaza edilirler. Bu iyonlar ve diğer yüklenmiş partiküller elektro-koagülasyon sistemi yoluyla zıt elektrik yüklü iyonlarla nötralize oldukları zaman, sabit bir formda çökelir ve sabit kalmaya başlarlar.

5. Sementasyon: Elektrokimyasal mekanizmayı kapsayan bir başka çöktürme metodudur. Bu metod çözeltilerdeki yüksek oksidasyon potansiyeline sahip bir metalin örneğin; Fe(0)'ın ferrus (II) iyonuna oksidasyonu gibi daha düşük oksidasyon potansiyeline sahip bir metalle yer değiştirmesidir. As, Cd, Ga, Pb, Sb ve Sn'de olduğu gibi Ag, Au ve Pb gibi soy metallerle sementasyon yoluyla bakır en fazla sıklıkla ayrıştırılır.

6. Ters-ozmoz ve elektro-diyaliz: Seyreltik atık sulardan metal iyonlarının iyileştirilmesinde yarı geçirgen membranların kullanımını içerir. Elektro-diyalizde seçici membranlar elektrolit hücreler içerisindeki elektrotlar ve devam eden elektriksel akım

altındaki alan iyon göçü arasına yerleştirilmiştir ki burası metallerin geri kazanımını sağlar (**Ahluwalia ve Goyal, 2007**).

Bu geleneksel metotlar ile ortamda bulunan metaller tam olarak giderilemeyebilir (**Hussein ve ark., 2004; Liu ve ark., 2004**). Bunun dışında bu tekniklerin; pahalı oluşu, ekipman ve takip sistemleri gerektirmesi, fazla kimyasal ve enerji ihtiyacının olması, toksik çamur ve diğer atık ürünler oluşturması, arıtım süreçlerinin zorluklar içermesi, arıtım verimliliğinin düşük olması gibi dezavantajları vardır (**Costa ve Duta, 2001**). Bu yüzden daha düşük maliyet ve çevreye daha az zararlı biyoteknolojilerin kullanımlarını gerektirir (**Gupta ve ark., 2000; Wightman ve ark., 2004**).

1.3.2. Ağır Metallerle Kirletilmiş Atık Suların İyileştirilmesinde Kullanılan Biyolojik Teknikler

Çevre biyoteknolojisi, çevre kalitesini geliştirmek için mikroorganizmalara başvuran bir tekniktir. Biyoremediasyon, toksik kimyasalların ve diğer zararlı atıkların birikmesiyle sonuçlanan çevresel zararları azaltma ya da elimine etmek için organizmaların kullanılmasıdır. Bu teknoloji, organik ve inorganik bileşimlerin dönüşümleri için doğal olarak oluşan ya da genetik mühendisliği tarafından genetiği değiştirilmiş mikroorganizmaları kullanma temelleri üzerine kurulmuştur. Biyolojik metodlar, fiziksel ve kimyasal tekniklerle yarış içerisinde (Gazso, 2001).

Sucul sistemlerdeki ağır metal kirliliği günümüzde ciddi bir tehdit edici sorun oluşturmaktadır (**Gupta ve ark., 2000**). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, mikroorganizmaların çevreyi kirleten metallerin temizlenmesinde büyük bir rol oynayabileceği bulunmuştur (**Costa ve Duta, 2001; Boyanov ve ark., 2003; Spain, 2003**). Bundan yola çıkarak son yıllarda ağır metal içeren atıksuların arıtımında biyolojik yöntemlerin; etkili, pratik ve ekonomik olmaları nedeniyle konvansiyonel fiziksel-kimyasal arıtım yöntemlerine tercih edilmekte ve bilimsel araştırmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır. Biyolojik süreçlerle metal arıtımı, özellikle mikrobiyal hücrelerle

yapılan metal biyosorpsiyonu etkili ve alternatif bir teknoloji oluşturacak güçtedir (**Costa ve Leite, 1991; Scott, 1992; Yazgan ve ark., 1993; Gupta ve ark., 2000**).

Tarihin erken dönemlerinden beri mikroorganizmalar metaller ile birlikte var olmuşlardır. Metaller, pek çok enzimin aktif merkezlerinde yer almaktadır. Metalin kimyasal özellikleri anahtar reaksiyonların katalizasyonunda veya protein yapısını korumada uygunluk arz eder. Bu metaller bu nedenle normal hücre metabolizması için düşük miktarlarda gereklidir ve alımları aşırı değil de yeterli edimini sağlayan karışık homeostatik mekanizmalara tabidir. Diğer pek çok metal biyolojik açıdan uygun olmayan işlevler görür ve toksik etki yaparlar. Biyolojik sistemler metallerin doğadaki kalımlılığı üzerinde bir etkiye de sahiptir; ya metaller biyolojik sistemlerde immobilize edilerek etkisiz hale getirme, mobilize edilerek faydalı hale getirme ya da daha toksik formlara dönüştürme potansiyeline sahiptir (**Valls ve Lorenzo, 2002**).

Kirleticilerin ortadan kaldırılması için biyolojik tekniklerin 3 ana avantajı vardır. Birincisi, işlemler kontamine olmuş bölgelerde in situ olarak uygulanabilir. İkincisi ise, biyolojik işlem teknikleri genellikle çevre dostudur (ikinci bir kirlilik oluşturmaz) ve üçüncü olarak, maliyet açısından uygundur (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Biyolojik substratların temel avantajları; aktif bağlanma bölgeleri çeşitliliği, küçük ve tek biçimli boyutları, geniş yüzey alanlarına sahip olmaları, ve iyon-değiştirici reçinelerden daha az biyolojik substrat gerektirmesi şeklinde sıralayabiliriz (**Madrid ve Camara, 1997**).

Mikroorganizmalarda metal bağlanması, mikrobiyal biyokütlenin yüzeyine metal difüzyonu ile başlayarak aktif ve pasif taşıma mekanizmalarının bir kombinasyonunu kapsar. Farklı biyolojik metodlar arasında biyoakümülyasyon ve biyosorpsiyonun, metallerin ortadan kaldırılması için iyi bir potansiyele sahip olduğu gösterilmiştir (**Zouboulis ve ark., 2004**). Literatür taramasına bağlı olarak biyoakümülyasyon ve biyosorpsiyon terimleri biyokütle'nin durumuna göre kullanılmıştır (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Metal akümülatif biyosüreçler genelde iki geniş kategoriye ayrılmaktadır:

- a) Canlı hücreleri uygulayarak biyoakümülyasyon ve
 - b) Canlı olmayan biyokütle kullanarak biyosorpsiyon (pasif alım)
- (Zouboulis ve ark., 2004).

1.3.2.1. Biyoakümülyasyon

Biyoakümülyasyon; canlı hücrelerin gerçekleştirdiği bir olgu olarak tanımlanmıştır. Tam olarak biyoakümülyasyon canlı hücreler tarafından toksik maddelerin alımı olarak tanımlanabilir. Toksik bileşikler hücre içerisine taşınabilir, hücre içerisine akümüle edilebilir, hücre membranı boyunca geçebilir ve hücrenin metabolik döngüsüne katılabilir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008). Biyoakümülyasyonda, biyolojik materyal olarak alg, mantar, maya ve bakteriler kullanılmaktadır (Malik, 2004).

Biyoakümülyasyonda, metal alınımı ilk aşamada çok hızlı bir şekilde cereyan etmekte ve bu olayda metal iyonlarının hücre duvarlarına temas eder etmez hemen yüzey adsorpsiyonu ile mikroorganizmaların hücre yüzeyine bağlandığını göstermektedir. Yüzey alınımını takiben ikinci metal bağlama aşaması gerçekleşmektedir. Bu aşama yavaş cereyan etmekte ve metaller hücre membranının transport özelliğine bağlı olarak stoplazmaya geçmektedirler. Sitoplazmadaki metaller ise çözünmez formda tutulmaktadır (Volesky ve ark., 1993). Bu bağlanma sürecinde de polisakkaritlerin önemli rolü vardır. Neticede metallerin inter ve intrafibriller, parakristalin bölgeler, proteinler, RNA ve polifosfatlar, vakuoller gibi formlarda ve hücre yapılarında alınımına uğramaktadır. Genelde hücre duvarlarına metal bağlanması hızlı ve yüksek verimlilik gösterirken hücrenin stoplazmasındaki bölgelerde (sitosoluble) çok yavaş ve düşük verimliliktedir (Sağlam ve Cihangir, 1995).

Metal biyoakümülyasyonunu etkileyen faktörler çok çeşitli olup, bunlardan; ortam pH'sı, başlangıç metal konsantrasyonu, besi ortamının çeşidi, kültürün yaşı ve ısı

değişiklikleri gibi faktörler ilk sıralarda yer almaktadır (**Srinath ve ark., 2002; Malik, 2004; Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Canlı hücre sistemleri tarafından biyo-alım mekanizmalarında, sistemin ekstrem pH, yüksek metal konsantrasyonu gibi faktörlere duyarlılığı ve dış metabolik enerji gereksinimleri gibi belli kısıtlamalar söz konusudur (**Dönmez ve Aksu, 2001**). Bununla birlikte bu tarz problemlerle; ırk seçimi ve karbon kaynağı olarak organik atık kullanımı sırasında karşılaşılabilir. Metal dirençli soyların izolasyonu ve seçiminde, kullanılan canlı hücre sisteminin birincil kısıtlamasının üstesinden gelme en önemli hedeflerden biri olmalıdır. Dirençli hücrelerin birçok metale bağlandığı düşünülür ki bu metaller etkin bir işlemin geliştirilmesi için artmış biyo-çöktürme ve/veya hücre içi akümülyasyon için bir ön gereksinimdir. Daha iyi metal biyosorpsiyonu, biyoakümülyasyonu ve biyoçökeltimi kapasiteleri için tek bir türe bağlı kalmaktan ziyade, çoklu tür kullanımı daha iyi bir yaklaşım olabilir. Çoklu tür birlikteliği, yüksek pH ve yüksek metal konsantrasyonu gibi endüstriyel atık sulardaki ekstrem şartlara daha iyi dayanabilirler (**Pumpel ve ark., 2001**).

Daha fazla dirençli ve verimli soyları üretmenin diğer pratik yollarından biri hücrelerin devamlı olarak yüksek konsantrasyonlarda ağır metallere adaptasyonu ile gerçekleştirilir. **Dönmez ve Aksu (2001)**, *Candida* türlerini Cu ve Ni eklenmiş gelişim ortamındaki seri ön kültürler ile Cu ve Ni'e adapte etmişlerdir. Adapte hücreler yüksek metal konsantrasyonunun varlığında adapte olmayanlara göre daha iyi geliştiklerini göstermişlerdir. Hatta adapte olan hücreler tarafından özel metal alım kapasitesinin ve % metal uzaklaştırılmasının, tüm test edilen konsantrasyonlarda adapte olmayan hücrelerinkinden daha yüksek olduğu tespit edilmiştir. Araştırmacılar, adaptasyon mekanizmalarını tam olarak ortaya koyamamalarına rağmen, metalotiyonein veya diğer bakır bağlayan proteinlerin daimi sentezinden ya da genetik düzenlenişteki adaptasyon faktörlerinden birinin değişikliğinden bahsetmişlerdir. Hatta gelişen hücre sistemlerinde yeterli enerji rezervinin varlığı, vakuol içerisine metalin aktif taşınımını kolaylaştırdığını da göstermişlerdir.

Metal akümülyasyonunun çeşitli mekanizmaları akümüle edilmiş olan ürünlerin farklı lokalizasyonlarda gerçekleştiği açıktır. Bu mekanizmalardaki çeşitlilikler mikroorganizmaların maruz kaldıkları çevresel koşulların toksik etkilerinin yanısıra konsantre edilen metalin toksisitesini de azaltır. Genelde gözlenme ihtimali düşük olan kısa süreli biyosorpsiyon çalışmaları, hücre içi akümülyasyonu geciktirmiştir. Bu tarz çalışmaların pek çoğu metalin yüzeye adsorpsiyonu ile sonuçlanır. Bununla birlikte, canlı hücreler tarafından metalin ortadan kaldırılmasını gösteren çalışmalar genellikle metabolik olarak intrasellüler akümülyasyonla ilişkili olarak gerçekleşirler. Son çalışmalar gelişen hücrelerin hücre içi detoksifikasyon mekanizmaları ile metalleri ortadan kaldırabildiğini kanıtlamıştır. Bu gerçekler, gelişen hücrelerin biyoremediasyonda uygulanması sırasında ortaya çıkarılmıştır (**Malik, 2004**).

Yine canlı hücrelerle metallerin alımın sürecinde birçok mikroorganizmanın metal bağlayıcı proteinler sentezledikleri rapor edilmektedir (**Costa ve Leite, 1991; Yazgan ve ark.,1993**). Bu sentezin, ağır metalleri detoksifikasyon mekanizması gereği yapıldığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalar metal derişimlerinin artışına paralel olarak metal-bağlayıcı proteinlerin arttığını göstermektedir. Metallerin her iki tip alımında bu özgül düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin önemi büyüktür (**Han ve ark., 1992**).

Ekstrasellüler polimerik maddelerin de yüksek metal akümülyasyonu potansiyeli ile metal iyonlarına seçici olarak bağlandığı gösterilmiştir. Bununla birlikte bu yapıların varlığı bakterinin türüne ve üreme koşullarına bağlıdır. Bu polimerler anyonik potansiyeye sahiplerdir ancak metal katyonlarına bağlanırlar ve bazı durumlarda kapsülün yapısına katılır ya da hücre etrafında çökerek azalırlar (**Yee ve Fein 2000**). Bakteriler tarafından sentezlenen ekstrasellüler polisakkaritler aynı zamanda çeşitli katyonların toksisitesine karşı dirençte de görev alır. Bu tarz bakteriler geniş çeşitlilikteki metalleri akümüle etme eğilimindedir (**Srinath ve ark. 2002**). Ekzopolisakkaritler ile metal katyonları arasındaki etkileşimden, ekzopolisakkaritlerin yapısında yer alan asidik fonksiyonel gruplar sorumludur (**İyer ve ark., 2005**).

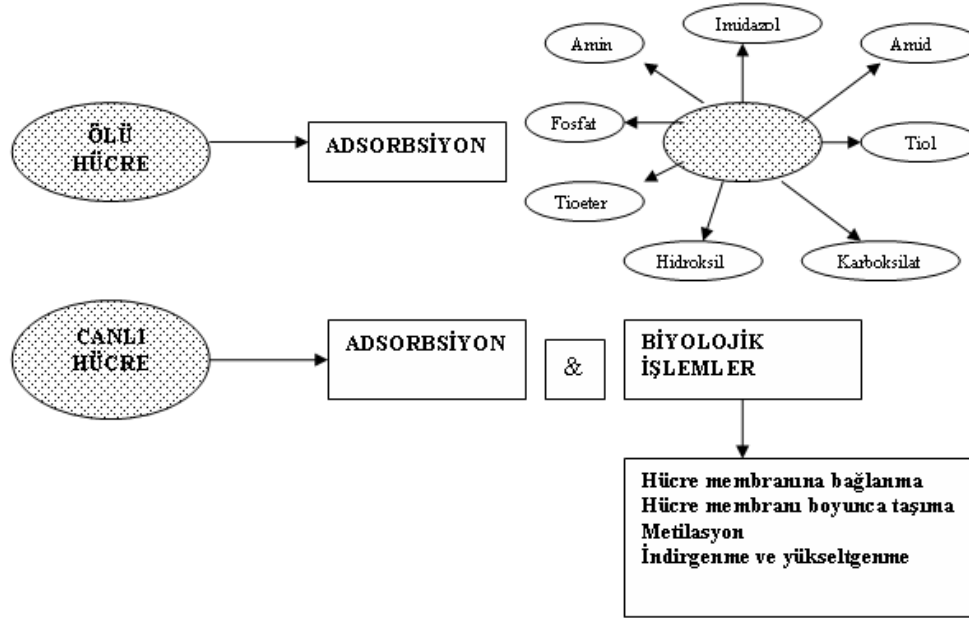
1.3.2.2. Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon, ölü ya da inaktif biyolojik materyaller tarafından toksik maddelerin alınımı olarak tanımlanabilir. Bu tanımla birlikte genellikle biyosorpsiyon olgusu daha çok ölü biyokütle ile özdeşleştirilmektedir (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**). Biyokütle bu durumu biyolojik kökenli bir iyon değiştirici olarak ya da kimyasal madde gibi rol alarak göstermektedir. Biyosorpsiyon, pekçok metabolizmadan bağımsız çalışan işlemlerdir. Bu işlemler temelde hücre duvarında gerçekleşmektedirler (**Ahluwalia ve Goyal, 2007**).

Şimdiye kadar bu alanda yapılan çalışmalarda, metalle kontamine olmuş atıklardan kontaminantların uzaklaştırılması için alternatif bir fikir ileri sürülmüştür. Metallerle biyosorpsiyon sürecinin temelde iki hedefi vardır. Birincisi altın, gümüş ve platin gibi ticari değere sahip paslanmaz metallerin geri kazanımını; ikincisi ise canlı sistemleri ve çevresi için çok küçük derişimlerde bile son derece toksik olan civa, bakır, demir, kurşun, krom, kadmiyum, nikel ve çinko gibi ağır metallerin kirli sulardan uzaklaştırılmasıdır. Arıtım sistemlerinde, özellikle biyolojik arıtım süreçlerinde mikroorganizmaların kullanılması arıtımın daha etkili ve randımanlı yapılmasını da sağlayacaktır (**Costa ve Leite, 1991**).

Karmaşık ve çok az anlaşılmiş olan metal alım mekanizması; organizmaların ölü veya canlı oluşuna, mikroorganizma çeşidine ve elementlerin türüne bağlıdır (**Madrid ve Camara, 1997**). **Şekil 4'de** ölü ve canlı hücrelerin metal sorpsiyon mekanizması görülmektedir.

Ölü veya inaktif hücrelerdeki metal biyosorpsiyonu, önemli bölgeler olan hücre duvarında metabolizmadan bağımsız olarak gerçekleşir. Metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyon işlemleri genellikle hızlıdır. Metal iyonları hücre duvarı biyopolimerlerinde bulunan kimyasal gruplarla etkileşime girerek sulu çözeltilerde hücre yüzeyine absorbe olurlar. Hücre duvarı çeşitli polisakkaritleri, lipidleri ve proteinleri içerir ve bundan dolayı metal iyonlarını bağlama kapasitesine sahip çeşitli aktif bölgeler sunar (**Madrid ve Camara, 1997**).



Şekil 4. Metal İyileştirme Mekanizması (Madrid ve Camara, 1997)

Alg, bakteri, siyanobakteri ve fungus gibi farklı mikroorganizma grupları arasındaki hücre duvarı kompozisyonunca farklar, kendilerine bağlanan metal iyonlarının miktarı ve tipleri açısından da farklılıklar arz eder (Gupta ve ark., 2000). Hücre duvarındaki muhtemel bağlanma bölgeleri; amin, amit, imidazol, hidroksil, karboksilat, fosfat, tiol, tioeter, sülfat, sülfidril ve diğer fonksiyonel grupları içerir (Crist ve ark., 1981; Gupta ve ark., 2000; Al-Qunaibit ve ark., 2005; Vijayaraghavan ve Yun, 2008). Bu metal bağlamada görev alan grupların fonksiyonu modifikasyon ya da engellemeler kullanılarak ortaya çıkarılabilir (Tobin ve ark., 1990; Gupta ve ark., 2000). Karboksil gruplarının alglerde Cu ve Al bağlamada görev aldığı düşünülmektedir. Karboksil grup modifikasyonları *B. subtilis* tarafından gerçekleştirilen metal alınımında belirgin bir azalmaya neden olmuştur. *B. subtilis*'te teikoik asit ve *B. licheniformis*'te teikoik asitin yanında teikronik asitin metal bağlamada görev alan birincil alan olduğu bulunmuştur (Gupta ve ark., 2000).

Metal bağlamanın en az iki basamaklı süreçte gerçekleştiği görülür. Bunlardan ilk basamak, hücre duvarındaki reaktif kimyasal gruplar ve metal arasındaki

stokiyometrik etkileşimi içerir. İkinci basamak ise metal ya da metallerin depolanmasıdır (Sağlam ve Cihangir, 1995; Gupta ve ark., 2000).

Pek çok araştırmacı biyosorpsiyondan sorumlu mekanizmaları açıklamışlardır. Bu mekanizmaların muhtemelen iyon değişim, fiziksel ve/veya kimyasal adsorpsiyon, kompleksasyon, koordinasyon, elektrostatik etki, kovalent bağlanma, Van der Waal's kuvvetleri, şelatlama ve mikroçökeltme işlemlerinin bir ya da daha fazla kombinasyonu ile gerçekleştiğini açıklamışlardır (Breierova ve ark., 2002; Chatterjee, 2006; Mack ve ark., 2007).

Cd biyosorpsiyonu bakımından Gram pozitif ve Gram negatif bakteriler karşılaştırıldığında, Gram pozitif bakterilerin hücre duvarının dış yüzeyinde glikoproteinlerin Cd için daha fazla bağlanma bölgesine sahip olduğu görülmüştür. Peptit omurgasının amino ve karboksil gruplarının azot ve oksijeni Pb, Cu ve Cr gibi metal iyonları ile bağlanmada bir koordinasyon sağlar. Bu tarz bağlanma oluşumu protonların ayrılması ile başarılı ve pH tarafından belirlenen protonlanmanın boyutuna bağlıdır (Gourdon ve ark., 1990) .

Streptomyces pilosus'un hücre duvarı peptidoglikanlarının karboksil gruplarının bakır bağlamadan sorumlu olduğunu ve aynı zamanda amin gruplarının ise metal iyonlarını ortadan kaldırılmasında çok etkin olduğu gösterilmiştir. Amin grupları sadece katyonik metal iyonlarını şelatlamazlar aynı zamanda elektrostatik etkileşim ya da hidrojen bağları ile anyonik metal türlerini de adsorbe ederler (Golab ve Breitenbach 1995).

Yapılan pek çok çalışmada metal bağlamada bir iyon değişim olgusu olduğu önerilir. Daha önce yapılan çalışmalarda, *Spirulina platensis*'e Cu^{+2} , Pb^{+2} , Zn^{+2} , Ni^{+2} , Cd^{+2} ve Cr^{+3} bağlanmasının bir iyon değişim reaksiyonu ile gerçekleştiği tespit edilmiştir. Benzer sonuçlar, *Sargassum fluitans*'ın protonlanmış biyokütlesi tarafından Cd, Cu ve Zn'nun bağlanmasında da elde edilmiştir (Schiewer ve Volesky, 1995).

E. coli K12'de peptidoglikanın, metal ya da metallerin pek çoğunun en önemli bağlayıcısı olduğu bulunmuştur. Bunun yanında karboksil gruplarının da metal bağlamaya katkıda bulunan birincil bileşenler olduğu gösterilmiştir. Lipopolisakkarit ve fosfolipitlerin fosforil gruplarının *E. coli* dış membranındaki metal katyonlarının en uygun bağlandığı bölgeler olduğu kanıtlanmıştır. *E. coli* K12'nin saflaştırılmış saf hücre kılıflarında toplanan metalin pek çoğunun membran bileşenlerinin polar baş bölgelerinde olduğu ya da peptidoglikan üzerinde olduğu görülmüştür. *Streptomyces longwoodensis*'de fosfat bölgelerinin uranyum bağlamada birincil bölgeler olduğu gösterilmiştir. Funguslarda *Rhizophus arrhizus* tarafından uranyum alım mekanizması iyi çalışılmıştır. Uranyum biyosorpsiyonunda kitin kristallerinin amin azotları görev alır ve bir dizi olay sonucu gerçekleşir. Funguslar üzerinde yapılan diğer çalışmalarda PO_4^{-3} ve COO^- gruplarının birincil bağlanma bölgeleri olarak rol aldığı gösterilmiştir (**Gupta ve ark., 2000**).

Citrobacter sp'de eşsiz bir metal alım mekanizması rapor edilmiştir. Gliserol 2-fosfat eklenmesiyle *Citrobacter* sp.'nin U^{+6} , Cd^{+2} , Cu^{+2} ve Pb^{+2} 'nin çok yüksek oranda ortamdan uzaklaştırdığı gösterilmiştir. Alım mekanizması fosfat tabanlı gliserol 2-fosfat'ın HPO_4^{-2} 'e yıkımını içerir ve bunun sonucunda metallerin çözünmez metal-fosfat olarak (örneğin $Cd-HPO_4$ gibi) çökeldiği gösterilmiştir (**Schiewer ve Volesky, 1995**).

Mikrobiyal biyokütlelerin kompleks doğasından dolayı bunların metal bağlama mekanizmaları iyi anlaşılamamıştır. Bununla birlikte metal ya da metallerin lokalizasyonu, elektron mikroskopu ve X-ray enerji dispersiyon analizi kullanılarak aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Kimyasal analiz için X-ray fotoelektron spektroskopisi atomlardaki ya da moleküllerdeki bağlanma enerjilerini ortaya koymak için nispeten yeni bir tekniktir. Bu teknik denge yüklerinin dağılımına dayanır ve böylelikle bir atom ya da iyonların oksidasyon durumu hakkında bilgi verir (**Ahluwalia ve Goyal, 2007**).

1.3.2.2.1. Ölü Biyokütle ile Biyosorpsiyonun Avantajları ve Dezavantajları

AVANTAJLARI:

- Biyosorpsiyon büyümeden bağımsızdır ve ölü biyokütle hücreleri toksik sınırlanmaya maruz kalmaz. Besiyeri ortamında hücrelerin çoğaltılması için pahalı besinlere gerek yoktur. Böylece, besin eklenmesi ya da oluşan metabolik ürün problemi mevcut değildir.
- Fermantasyon endüstrilerinden fermantasyondan sonra ortaya çıkan atıklar biyokütle olarak kullanılabilir.
- Yöntem canlı mikrobiyal hücrelerin fizyolojik kısıtlanmaları tarafından yönetilmez.
- Ölü biyokütlenin bir iyon değiştirici gibi davranmasından dolayı, işlem oldukça hızlıdır ve birkaç saat ile birkaç dakika arasında gerçekleşir. Biyokütle üzerine metalin yüklenmesi sıklıkla çok yüksektir ve bu durum çok etkin metal alınımıyla sonuçlanır.
- Hücreler ölü olduğu için, pH, sıcaklık ve metal konsantrasyonunun geniş aralığında çalışmak mümkündür. Bu işlemler için aseptik koşullara gereksinim duyulmaz.
- Eğer metalin miktarı ve değeri kazanım için önemli ise ve eğer biyokütle çok ise metal yüklü biyokütle yakılabilir ve daha ileriki aşamalara gerek kalmaz, böylelikle metalin geri bırakımını ve geri kazanımı mümkün olabilir.
- Atık sulardaki ağır metal konsantrasyonlarını çok düşük seviyelere indirgeme etkinliğine sahiptirler, bol miktarda kolayca üretilebilirler ve ekonomik biyosorbent materyalleri kullanılabilir. Bu biyosorbentler, metal iyonlarının giderilmesinde yüksek seçiciliğe sahiptirler. Ayrıca bu yöntem ile çok seyreltik sulardan bile kirleticiler etkili bir şekilde giderilebilmektedir.

- Biyosorpsiyon yönteminin diğer avantajları ise bu yöntemin yerinde uygulanabilen bir yöntem olması, çok özel dizaynlar ve endüstriyel işlemler gerektirmemesi ve birçok sistemle ekonomik bir şekilde birleştirilebilmesidir (**Stanley ve Ogden, 2003; Bayramoglu ve ark., 2005; Tewari ve ark., 2005; Ahluwalia ve Goyal, 2007**).

DEZAVANTAJLARI:

- Metalin bağlandığı bölgeler işgal edildiğinde erken doyumluk problemi gerçekleşebilir ve bu durumda daha ileriki uygulamalar öncesi desorpsiyon gerçekleştirilmesi gerekir.
- Hücrelerde metabolizma olmadığı için, biyolojik yöntemin geliştirilme potansiyeli sınırlıdır. Ön büyüme esnasında meydana gelen adsorbe edici ajan üretimi için biyosorbentin karakteristiği üzerinde herhangi bir biyolojik kontrol mevcut değildir. Bu durum, eğer fermantasyon ünitesinden elde edilen atık biyokütle kullanılacak ise ortaya çıkacaktır.
- Metal denge durumunu, ölü biyokütle kullanıldığı için biyolojik olarak değiştirmek mümkün değildir. Örneğin az çözünen veya organometalik bileşiklerin yıkımı için herhangi bir metal denge durumunda biyolojik değiştirici potansiyeli yoktur (**Ahluwalia ve Goyal, 2007**).

1.3.2.2.2. Biyoakümülyasyon ile Biyosorpsiyon Arasındaki Farklar

1. Biyosorpsiyon genellikle düşük maliyetlidir. Kullanılan biyosorbentlerin büyük bir kısmı endüstriyel, tarımsal ve diğer tip atık biyokütlelerdir. Biyoakümülyasyonda ise maliyet genellikle pahalıdır. İşlem canlı hücre gerektirir ve bu nedenle bakımı maliyet gerektirir.
2. Biyosorpsiyonda solüsyonun pH'sı biyokütlenin alım kapasitesine kuvvetli bir şekilde etki eder. Bununla birlikte işlem geniş pH aralıklarında yürütülebilir. Biyoakümülyasyonda ise alıma ilaveten ekstrem pH koşulları altında gelişen hücrelerin kendileri de kuvvetli bir şekilde etkilenir.
3. Biyosorpsiyonda hücreler inaktif oldukları için, sıcaklık işlemi etkilemez. Aslında bazı araştırmacılar sıcaklığın artmasıyla alımın arttığını rapor etmişlerdir. Biyoakümülyasyonda ise sıcaklık ciddi bir şekilde işlemi etkiler.
4. Biyosorpsiyonda biyokütlenin saklanması ve depolanması kolay iken biyoakümülyasyonda kültürün bakımı için dış metabolik enerji gereklidir.
5. Biyosorpsiyonda seçicilik zayıftır. Bununla birlikte; biyokütlenin işlenmesi veya modifikasyonu ile seçicilik geliştirilebilir. Biyoakümülyasyonda ise bu seçicilik daha iyidir.
6. Biyosorpsiyonda çok yönlülük var. Bağlanma bölgeleri, iyonların çeşidine göre değişir. Biyoakümülyasyonda ise çok fazla değişken değildir ve yüksek metal/tuz konsantrasyonlarında etkilenme eğilimindedir.
7. Biyosorpsiyonda alım seviyesi çok yüksektir. Bazı biyokütlelerin toksikantları yaklaşık olarak onların ağırlığı kadar tuttuğu rapor edilmektedir. Biyoakümülyasyonda ise gelişen hücreler yüksek toksikant miktarına duyarlı oldukları için, alım genellikle düşüktür.

8. Biyosorpsiyonda alım genellikle hızlıdır. Biyosorpsiyon mekanizmalarının büyük bir kısmı hızlıdır. Biyoakümülyasyonda intrasellüler akümülyasyon zaman gerektirdiği için, alım genellikle biyosorpsiyona göre daha yavaştır.
9. Biyosorpsiyonda toksikant ilginliği uygun koşular altında yüksektir. Biyoakümülyasyonda kirleticinin toksisitesine bağlıdır.
10. Biyosorpsiyonda biyosorbent yüksek olasılıkla tekrar elde edilebilir ve muhtemelen birçok kez yeniden kullanılabilir. Biyoakümülyasyonda toksikantlar hücre içi akümüle oldukları için tekrar kullanmak çok düşük limitlidir.
11. Biyosorpsiyonda uygun geri alım sıvısının seçimiyle toksik bileşik muhtemelen geri kazanılır. Çoğu örnekte asidik veya alkalın solüsyonlar toksikantların uygun bir ortamdan geri kazanımı için ispatlanmıştır. Biyoakümülyasyonda toksik bileşik geri kazanılabilse dahi biyokütle bir daha kullanılmaz (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

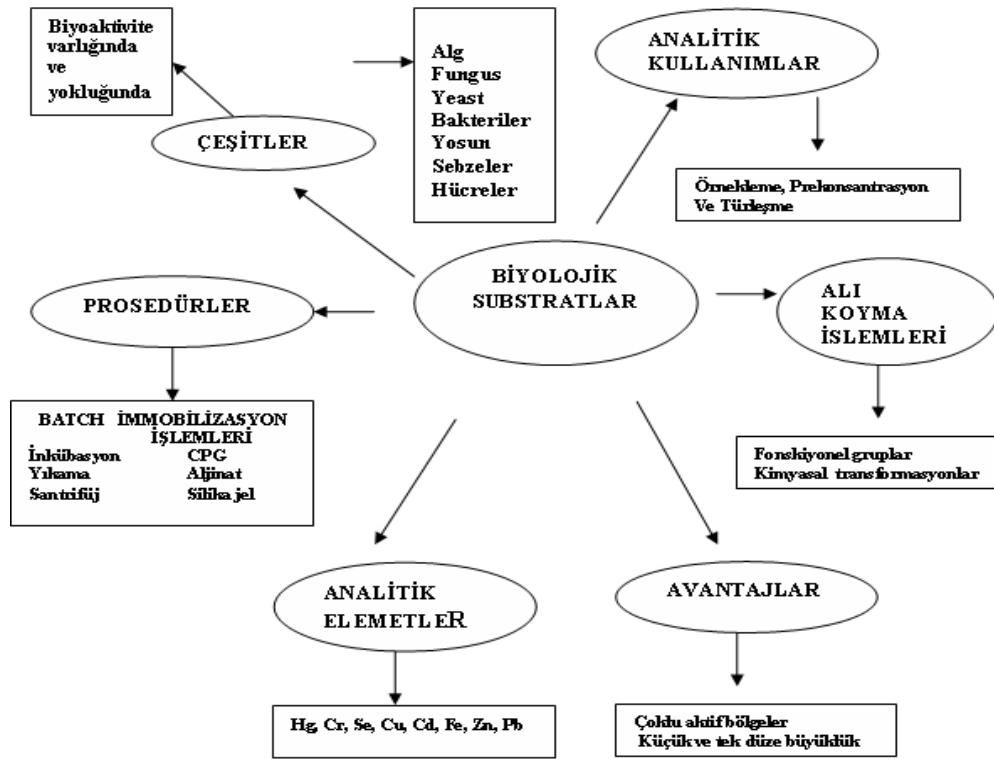
1.3.2.2.3. Metal Biyosorpsiyonunda Kullanılan Biyokütle Çeşitleri

Bazı mikroorganizmaların metalleri akümüle etme yeteneğine sahip olduğu 1980'lerin ilk yıllarında ortaya konmuştur. Toksikolojik bakış açısıyla pek çok araştırma yayınlanmıştır, fakat bu araştırmalar canlı hücrelerin aktif metabolizmasından kaynaklanan akümülyasyonun, mikrobiyal hücrelerin metabolik aktiviteleri üzerine metallerin etkileri ve gıda zincirindeki akümülyasyonun sonuçları ile ilgiliydi (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Ancak daha sonra yapılan pek çok araştırma, inaktif/ölü mikrobiyal biyokütlenin pasif bir şekilde çeşitli fizikokimyasal mekanizmalarla metallere bağlanabildiğini ortaya çıkardı. Bu yeni bulgularla birlikte biyosorpsiyonla ilgili çalışmalar, metallerin uzaklaştırılması için önerilen farklı orjinli birçok biyosorbentin bulunmasıyla ivme kazanmaya başladı. Araştırmalar biyosorpsiyonun sadece biyokütlenin kimyasal

kompozisyonuna veya tipine bağlı olmadığını aynı zamanda dış fizikokimyasal faktörler ve solüsyonun kimyasına da bağlı olduğunu göstermiştir (Ahluwalia ve Goyal, 2007) .

1985'ten itibaren bazı biyokütle çeşitlerinin metal bağlama kapasitelerinin değerlendirilmesi hız kazanmıştır. Metal biyosorbisyonunda etkin olarak kullanılacak biyolojik moleküller, oldukça geniş bir spektruma sahiptir (Şekil 5). Bazı biyosorbentler belirli önceliği olmadan ağır metallerin büyük miktarını bağlayabilir ve biriktirebilir, oysaki bazıları belirli metal tipleri için spesifiktir (Regine ve Volesky, 2000). Metal uzaklaştırılması için temelde kullanılan biyosorbentler; bakteriler, funguslar, maya, algler, endüstriyel atıklar, tarımsal atıklar ve polisakkarit materyallerdir (Regine ve Volesky, 2000; Wang ve Chen, 2006) .



Şekil 5. Biyolojik Materyallere Genel Bir Bakış (Madrid ve Camara, 1997)

Metal biyosorpsiyonu için biyokütle seçiminde, biyokütlenin kökeni hesaba alınması gereken en önemli faktördür. Biyokütle; yiyecek, süt ve nişasta gibi endüstri dallarının fermantasyon atıklarından veya aktif çamurdan elde edilebilir. Ayrıca doğal ortamlardan gelen organizmalar (bakteri, maya, mantar ve alg) iyi biyokütle kaynaklarıdır. Biyosorpsiyon amaçlı özellikle kültürü yapılan hızlı büyüyen organizmalar (deniz yosunları) biyosorbent olarak kullanılabilir (**Regine ve Volesky, 2000; Alluri ve ark., 2007**).

Mikrobiyal kaynakların dışında yün, pirinç, çilek, hindistan cevizi kabuğu, atık kahve, yosun, atık çay, ceviz ağacı kabuğu, keten tohumu kabukları, buğday kepeği, sert kereste testere tozu, soya fasulyesi kabukları gibi tarımsal ürünlerin iyi birer biyokütle kaynağı oldukları kanıtlanmıştır (**Alluri ve ark., 2007**).

Ayrıca bazı sucul bitkilerden *Eicbbornia crassipes*, *Ipomoe aquatica*, *Iris pseudocorus*, *Azolla pinnata*, *Lemna minor* L. ve *Salvina molesta* metal biyosorbsiyonu yeteneklerine sahiptir. Yine *Lycopersicon esculentum* (domates) ve *Nicotiana tobaccum* (tütün) gibi bitkiler de metal birikimi yapabilmektedir (**Jain ve ark., 1990; Sen ve Mondal, 1990; Volesky ve ark, 1993**).

Bununla birlikte, deniz yosunu, alg, mantar, maya ve bakteriler ile yapılan biyosorpsiyon çalışmaları ümit vericidir (**Regine ve Volesky, 2000; Alluri ve ark., 2007**).

Deniz yosunu ve Algler: Son zamanlarda diğer bir biyosorbent olan deniz yosunu önem kazanmaya başlamıştır (**Regine ve Volesky, 2000; Davis ve ark., 2003**). Deniz algleri, deniz yosunu olarak bilinirler ve dünyanın büyük bir kısmında mevcut olan biyolojik kaynaklardır. Deniz yosunları deniz bentik alglerinin geniş bir grubudur. Geniş yüzey alanlarından dolayı biyosorpsiyon için birçok avantaja sahiptir. Bu özellik biyosorpsiyon işlemi için uygun biyosorbent partiküllerinin üretiminde temel bir elverişlilik sağlar. Hem katyonik hem de anyonik metal bileşikleri için çok-fonksiyonlu metal bağlanma bölgeleri ihtiva ederler (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**). Algal hücre komponentlerinin potansiyel metal katyonları bağlanma bölgeleri; karboksil, amin,

imidazol, fosfat, sülfat, sülfidril, hidroksil ve hücredeki protein ve şekerlerin ihtiva ettiği kimyasal fonksiyonel gruplardır (**Crist ve ark., 1981; Davis ve ark., 2000; Regine ve Volesky, 2000; Davis ve ark., 2003; Alluri ve ark., 2007**). Algler; kırmızı, yeşil ve kahverengi deniz yosunlarıdır ki bunlar arasında kahverengi deniz yosunları mükemmel biyosorbent olarak bilinirler (**Romero ve ark., 2006; Vijayaraghavan ve Yun, 2008**). Bu özelliğin nedeni, hücre duvarında jel formunda bulunan aljinik asit ihtiva etmesidir. Aljinik asit, nötral pH'da anyonik karboksilat ve sülfat iyonları ihtiva etmektedir (**Alluri ve ark., 2007**). Tatlı su formları ise galakturonik asit ve onun polimeri olan pektini içerir ki bunlar metalin bağlanacağı anyonik bölgelere sahiptirler ve bu bölgelere metaller elektrostatik ilgi ile bağlanabilir (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Mantarlar ve Mayalar: Mantarların büyük bir kısmı filamentli veya hifsel gelişim gösterirler. Mantarların hücre duvar yapıları çok tabakalıdır ve bu yapının kuru ağırlığınının % 90'ından fazlası amino veya amino olmayan polisakaritlerden meydana gelmiştir (**Yan ve Viraraghavan, 2000**). Mantarların hücre duvarlarının, bir polisakarit matriksi içerisine gömülü kitin iskeleti ihtiva eden iki fazlı sistemden oluştuğu düşünülmektedir.

Hücre duvarları; polisakarit ve glikanlar (β -1-4 ve β -1-3 D-glukoz atıklarına bağlanmış), kitin (β -1-4 N-asetil-D- glukozamine bağlanmış), kitozan (β -1-4 D-glukozamine bağlanmış), mannanlar (β -1-4 mannoza bağlanmış) ve fosformannanlar (fosforlanmış mannanlar) gibi glikoproteinlerce zengindirler. Amin, imidazol, fosfat, sülfat, sülfidril ve hidroksil gibi çeşitli metal bağlanma grupları bu polimerlerin içerisinde bulunur. Ayrıca maya hücrelerinin bazı kimyasal bileşikleri katyonların hızlı tersinir bağlanmasıyla iyon değiştirici gibi rol oynarlar (**Alluri ve ark., 2007**). Bu mikroorganizmalar farklı gıda/ilaç endüstrilerinde yaygın bir şekilde kullanıldığı için, kullanılan mikroorganizmanın kendisi atık olarak oluşur, böylelikle bu endüstrilerden mikroorganizmalar daha ucuz olarak elde edilirler. Ayrıca genetik ve morfolojik manipulasyon çalışmalarında kolaylıklar içermesi, özellikle toksik metallerin yüksek derişimlerine karşı farklı dirençlilik yetenekleri ve mikoriza üretmeleri tercih nedenleridir. Bunun yanında yine saprofit özellikteki mantarların metal biyosorbisyon

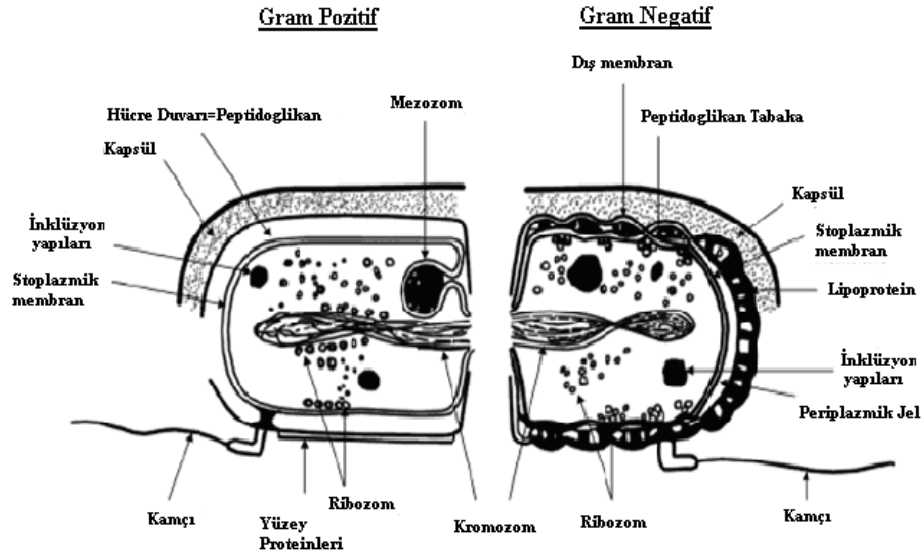
yeteneklerinin yüksek olduğu da gözlenmiştir (Costa ve Leite, 1991; Zhou ve Kiff, 1991).

Bakteriler: Değişik bakteri türleri arasındaki farklılıklar, onların yüzey bağlanma bölge sayısı, farklı iyonlar için farklı bağlanma mekanizmalarının bağlanma kuvveti ile ilişkilendirilir (Alluri ve ark., 2007). Biyosorpsiyon boyutu sadece iyonunun tipine bağlı değildir aynı zamanda bakterinin cinsine de bağlıdır. Bu durumun sebebi de hücre duvarı yapılarındaki farklılıklardır. Çok kısa etkileşim zamanları genellikle metal-bakteriyel biyokütle durumu elde etmede yeterlidir. Bakteriyel biyokütle’de gözlenen hızlı kinetikler atık su uygulama sistemlerinin düzeyi açısından bir avantajdır (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Bakteriyel hücre duvarı hücreye yapısal bütünlük sağlar fakat stoplazmik membranın hemen dışında bulunan peptidoglikan (poli-N-asetilglukozamin ve N-asetil muramikasit) varlığından dolayı diğer tüm organizmalardan ayrılır. Peptidoglikan bakteriyel hücre duvarının dayanıklılığında sorumludur ve hücreye şekil verir. Aynı zamanda nispeten porludur ve küçük substratlara geçirgen olmayan bir bariyer olarak değerlendirilir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008) .

Tüm bakterilerin hücre duvarı özdeş değildir. Aslında hücre duvarı kompozisyonu bakteri türlerinin farklılığı ve analizinde önemli faktörlerden biridir. Bakteriler genel olarak gram pozitif ve gram negatif olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 6). Gram pozitif bakterilerin hücre duvarı disakkarit N-asetil glukozamin- β ve 1,4 N-asetilmuramik asitin peptit zincirleri ile oluşturduğu peptidoglikanlardan oluşmuştur. Lipoteikoik asitler stoplazmik membran içerisinde lipidlere kovalent bir şekilde bağlı oldukları için peptidoglikanların stoplazmik membrana bağlanmalarından sorumludur. Çapraz bağlı peptidoglikan molekülleri bir ağ oluşturur ve bu ağ hücreyi sarar. Teikoik asitler, teikoik asit monomerleri arasındaki fosfodiester bağlarının varlığından dolayı Gram pozitif bakteri hücre duvarına genel bir negatif yük verir. Gram pozitif bakterilerin hücre duvarlarının % 90’ı peptidoglikandan ibarettir (Paknikar ve ark., 2003; Alluri ve ark., 2007; Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Diğer taraftan Gram negatif hücre duvarı daha incedir ve %10-20 peptidoglikandan oluşmuştur. Ek olarak fosfolipidler ve lipopolisakkaritlerden oluşan artı bir dış membrana sahiptirler. Lipopolisakkaritlerin bu yüklü doğası Gram negatif hücre duvarı üzerinde bütün bir negatif yük oluşturur (Vijayaraghavan ve Yun, 2008;).



Şekil 6. Gram Pozitif ve Gram Negatif Bakteri Hücre Duvarı (Vijayaraghavan ve Yun, 2008)

Teikoik asitlerin fosfodiester ve teikuronik asitlerin karboksil gruplarının hücre duvarının iyon-değiştirici kapasitesinde katkıları vardır (Paknikar ve ark., 2003). Gram pozitif bakterilerin, teikoik asitleri ve peptidoglikanların anyonik fonksiyonel gruplarının varlığı bilinmektedir. Gram negatif bakterilerin lipopolisakkarit, fosfolipid ve peptidoglikanların hücre duvarının metal bağlama kapasitesinden ve anyonik karakterinden sorumlu olduğunu da göstermiştir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Bacillus, *Pseudomonas*, *Streptomyces* gibi bakteri sınıfları iyi metal biyosorbent oldukları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Sağlam ve Cihangir, 1995).

1.3.2.2.4. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Biyosorpsiyonu etkileyen önemli faktörler; çözelti pH'sı, sıcaklık, iyonik güç, biyosorbent miktarı, biyosorbent boyutu, çözeltinin başlangıç konsantrasyonu ve çalkalama hızı gibi etkenleri içermektedir (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Mack ve ark., 2007**).

Bunlardan çözelti pH'sı biyosorpsiyonda genellikle önemli bir rol oynamaktadır ve biyokütlerdeki fonksiyonel grupların aktivitelerini ve hedef metalin çözelti kimyasını ve redoks potansiyellerini de etkiler. pH, metal iyonlarının alınımını etkiler. Yüksek çözelti pH'sında, metal bileşiklerin çözünürlüğü çökmeye neden olacak bir şekilde azalır ve bu durum sorpsiyon işlemlerini zorlaştırabilir. Bağlanma bölgelerinin aktivitesi pH ayarlanması ile değiştirilebilir. Örneğin; bakteriyel biyokütle metal iyonlarının biyosorpsiyonu esnasında iyon-değişim mekanizması ile metal katyonlarını bağlamadan sorumlu olan negatif yüklü karboksil gruplarından dolayı pH'nın 3'ten 6'ya çıkarılmasının yararlı olduğu bulunmuştur (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Mack ve ark., 2007**).

20-25 °C arasındaki düşük sıcaklıkların biyosorpsiyonu daha düşük boyutta etkilediği bulunmuştur. Hatta pek çok reaksiyon ısı bağımsız ya da ekzotermik olarak gerçekleşebilir. Sıcaklık biyosorbent ile metal iyonları arasındaki ilişkiyi etkiler ve bunu genellikle çözültideki metal iyonlarının stabilitesi, metal-sorbent kompleksinin stabilitesi ve hücre duvarının kimyasal birimlerinin iyonizasyonunu etkileyerek gerçekleşir. Yüksek sıcaklıklar ise, çözeltinin artan yüksek aktivitesi ve çözülmüş maddenin kinetik enerjisinden dolayı genellikle sorpsiyonu arttırır. Bununla birlikte yüksek sıcaklıklar biyosorbente fiziksel bir zarar verebilir. Biyosorpsiyonun oda sıcaklığında gerçekleştirilmesi her zaman arzu edilir, bunun nedeni bu koşulların tekrarlar için elverişli oluşudur (**Mack ve ark., 2007**).

Biyosorpsiyon işleminde biyokütle yüzeyine metalin adsorpsiyonunu etkileyen diğer önemli bir parametre de iyonik kuvvettir. Biyosorpsiyonun endüstriyel şartlara uygulanmasındaki temel komplikasyon uygulanacak olan atık sudaki diğer metal

iyonlarının varlığıdır. Bunlar sıklıkla ya ilgilenilen metal ile bağlanma bölgeleri için rekabet eder ya da ilgilenen metal iyonlarının bağlanmadığı bölgelere bağlanarak biyosorbentin düşük spesifitesi neden olur (**Mack ve ark., 2007**).

Bir biyosorbentin miktarı, biyosorpsiyon boyutunu güçlü bir şekilde etkiler. Pekçok örnekte, düşük biyosorbent miktarı yüksek alım ve düşük yüzde uzaklaştırma etkinliği meydana getirmiştir. Biyokütle konsantrasyonundaki bir artış biyosorbe olmuş metalin miktarını artırır. Bunun sebebi artan biyosorbente bağlı olarak bağlanma bölge sayılarının artışıdır. Diğer bir taraftan biyosorbentin birim ağırlığı başına biyosorbe edilen metalin miktarı, biyosorbent miktarının artışı ile azalır ki bu durum çeşitli faktörlerin karmaşık etkileşimlerinden dolayı olabilir. Ayrıca, artan biyosorbent miktarından dolayı bağlanma bölgelerinin arasındaki muhtemel bozulma, düşük spesifik alımına neden olacağı için etkili olmaz (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Biyosorbentin boyutu biyosorpsiyonda önemli rol oynar. Daha küçük boyutlu parçalar geniş yüzey alanına sahiptir ki bu durum biyosorpsiyonun lehinedir ve biyosorpsiyon işleminin daha kısa sürede gerçekleşmesini sağlar. Eş zamanlı biyosorpsiyon için kullanılan bir biyosorbent, rejenerasyon döngüsü esnasında uygulanan basınç ve ekstrem şartlara dayanması için yeterli bir şekilde esnek olmalıdır. Bu yüzden başlangıç deneylerinde uygun biyosorbent boyutunu belirlemek zorunludur. Eğer bir sorbent endüstriyel atıklar gibi toz halinde bulunuyorsa mekanik direnci artırılmalı ve biyosorpsiyon kolonlarında etkin kullanım için çaba sarfedilmelidir (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Yüksek başlangıç metal konsantrasyonlarının, yüksek metal alımına neden olarak biyosorpsiyon üzerinde etkiye sahip oldukları görülür. Bunun nedeni, düşük başlangıç metal konsantrasyonu durumunda, metalin başlangıç miktarının yüzey alanına oranının düşük oluşudur. Bununla birlikte yüksek metal konsantrasyonlarında sorpsiyon için mevcut olan alanlar mevcut metalin miktarı ile kıyaslandığında azalır. Yine de metal uzaklaştırılması güçlü bir şekilde başlangıç metal konsantrasyonuna bağlıdır. Bir biyosorbentin maksimum doyum potansiyelini belirlemek mutlaka gereklidir. Bunun

için deneyler muhtemel en yüksek başlangıç metal konsantrasyonlarında yürütülmelidir **(Vijayaraghavan ve Yun, 2008)** .

Bazı örneklerde dış film difüzyonu, biyosorpsiyon işleminin oranını etkileyebilir. Uygun bir çalkalama ile bu kütle transfer direnci azaltılabilir. Bu koşullar altında dış difüzyon kat sayısının değeri artar. Sonuç olarak yüksek çalkalama olaylarında sınır tabaka çok ince hale gelir ki bu durum genellikle bu tabaka boyunca bir metalin diffüze olma oranını arttırır **(Vijayaraghavan ve Yun, 2008)** .

1.3.2.3. İmmobilizasyon

Devamlı endüstriyel işlemler esnasında metalleri sorbe etmek amacıyla mikrobial biyokütleleri tekrar kazanabilmek için uygun tutuklama teknikleri kullanmak önemlidir. Laboratuar deneylerinde serbest hücreler değerli bilgiler sağlayabilir fakat endüstriyel uygulamalarda kolon dolgu maddesi olarak uygun değildir. Serbest hücreler genellikle düşük mekaniksel direnç, küçük partikül boyutu ve aşırı hidrostatik basınca sahiptirler ve uygun akış oranının ayarlanması gerekir. Yüksek basınç, serbest biyokütle ile integrasyonu bozabilir. Bu problemler için tutuklanmış hücre sistemleri kullanılır. Tutuklanmış mikroorganizmalar serbest hücreler ile kıyaslandığında üstün mekanik dirençlilik, yüksek metal bağlama yetenekleri, daha iyi kullanım süresi, kimyasal direnç, daha iyi tekrar kullanılabilirlik, yüksek biyokütle yüklemesi ve minimal tıkanma gibi avantajlara sahiptir **(Madrid ve Camara, 1997; Bağ ve ark., 1999; Lale ve ark, 2005)**.

Mikroorganizmalar aljinat mikroyataklarına, karajenan yataklarına (deniz yosunlarından üretilen önemli miktarda selüloz içeren kimyasal katkı maddesi), silika-tabanlı polimerlere, poliüretan köpük, polisülfan, poliakrilamit, sepiolit, cam yataklar, Chelex-100, ve Amberlit XAD-4 reçineleri gibi desteklerin bir grubu ya adsorpsiyon ya da fiziksel tutuklama yoluyla biyo-materyalleri immobilize etmede kullanılır **(Hu ve Reeves 1997; Bağ ve ark., 1999; Bai ve Abraham, 2003; Beolchini ve ark., 2003; Baytak ve Türker, 2005; Lale ve ark, 2005)**.

1.3.2.3.1. Prekonsantrasyon

Metal iyonlarını eser seviyede belirlemek için, yüksek karmaşık analitik cihazların yerine genellikle prekonsantrasyon işlemleri gerekir. Bir heterojen sistemde, prekonsantrasyon gerçekleştirilirken sadece ilgi duyulan türleri konsantre etmekle kalınmaz aynı zamanda tamamen ya da kısmi olarak matriks etkileri ve engellemeleri de ortadan kaldırılır. Sonuç olarak prekonsantrasyon işlemleri hem ölçülen bileşiğin ve elementlerin zenginleştirilmesini hem de engellemelerin azaltılmasını ortaya koyar (**Maquieira ve ark., 1994**).

FAAS (Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre) çeşitli örneklerdeki metallerin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik işlem kolaylıkları, iyi seçicilik ve düşük maliyet gibi arzu edilir özellikler sunar. Bununla birlikte duyarlılığın az olması, aşırı çeşitlilikte iyon varlığında gerçekleşen bazı sınırlamalar ve/veya matriks engelleme problemlerinden dolayı FAAS tarafından iz metalleri direk olarak belirlemek zordur (**Baytak ve Türker, 2004; Baytak ve Türker, 2005**). ETAAS, ICP-OES ve ICP-MS gibi yüksek duyarlılığa sahip analitik araçların kompleksliği artmasına rağmen bu teknikler nispeten pahalıdır ve örneğin metallerin yüksek çözünmüş katı içerikleri gibi bir arada bulunmasıyla ilgili bazı sınırlamalar ortaya çıkarılır. Bu yüzden analitik cihazlardaki mevcut ilerlemeye rağmen prekonsantrasyon işlemlerinin kullanımı hala belirleme basamaklarından önce gereklidir (**Madrid ve Camara, 1997; Baytak ve Türker, 2005**).

Prekonsantrasyon yöntemleri kullanarak bu problemlerin üstesinden gelinebilir. Bu amaçla; solvent ekstraksiyonu, birlikte-çöktürme, elektro-kaplama, iyon-değişimi ve ayırma yöntemleri iz metallerin prekonsantrasyonu için kullanılmaktadır. Son yıllarda mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen prekonsantrasyon yöntemi yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Mikroorganizmaların metalleri biyosorbe etmek için kullanımı; yüksek geri kazanım özelliği, ekonomik avantajlar, kullanım kolaylıkları ve çevre dostu oluşu gibi özelliklerinden dolayı diğer prekonsantrasyon yöntemlerine göre daha iyi bir alternatif olmuştur. Genel olarak prekonsantre edici matriks kullanmaksızın özel bir elementi seçici bir şekilde adsorplamada; maya, fungus, bakteri ve alg gibi

farklı biyolojik mekanizmaların yanısıra sulu solüsyonlardan ağır metalleri akümüle etmede canlı ya da ölü mikroorganizmalar kullanılmaktadır (**Baytak ve Türker 2004**).

Amberlit XAD reçineleri; saflık, dayanıklılık, yüksek yüzey alanı ve gözeneklilik gibi iyi fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı prekonsantrasyon işlemlerinde çeşitli materyallerin şelatlanmasını geliştirmek için yaygın olarak kullanılmaktadır. Amberlit XAD-4 ligant bağlı reçineleri hazırlamak için bir katı sorbent olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Son zamanlarda XAD-4 reçinelerinin, bakteriler yüklenerek ağır metallerin prekonsantrasyonu için kompleksirici ajan olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (**Doğru ve ark., 2007**).

1.3.2.4. Biyokütlenin Önişlenişi

Biyosorbentler, ilk olarak biyoküteller farklı metodlarla önişlemlerden geçirilerek hazırlanır. Belli biyokütle tarafından belirli metallerin biyosorpsiyonunun önemi, biyosorbent materyali üzerindeki bağlanma bölge sayısına, bağlanma bölgelerinin erişebilirliğine, bağlanma bölgelerinin kimyasal durumuna, metal ve bağlanma bölgesi arasındaki ilgi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır (**Regine ve Volesky, 2000; Alluri ve ark., 2007**).

Biyokütle direk önişlemden geçirilebilse de, eğer büyük ebatlıysa küçük parçalara veya granüllere bölünür ve çeşitli yollarla sonra işlenir. Önişlemenin içerdiği metodlar; ısı işlemi, deterjanla yıkama, asit, alkali ve enzim uygulaması gibi işlemlerdir. Isı işlemi ve deterjanla yıkama ek metal bağlanma bölgelerini açığa çıkarır; enzimler istenmeyen bileşikler yok eder ve sorpsiyon etkinliğini artırır. Asitle biyokütlenin önişlemi, ağır metallerin biyoadsorpsiyonunda azalmayla sonuçlansa da, alkali önişleminde *Mucor rouxii*'nin biyoadsorpsiyon kapasitesi otoklavla ön işlem ile kıyaslandığında oldukça yükselmiştir (**Yan ve Viraraghavan 2000**). Asitle ön işlem sonrası ağır metal adsorpsiyonunun azalma nedeni, H⁺ iyonlarının biyokütleyle bağlanmasından kaynaklanabilir (**Alluri ve ark., 2007**).

1.3.3. Termofilik Bakteriler

Bakteriler, yaşadıkları sıcaklıklara göre çeşitli gruplara ayrılırlar. Düşük sıcaklık bakterileri, psikrofillerin optimum sıcaklık aralıkları 15-20 °C olup daha düşük sıcaklıklarda üreyebilirler. Mezofiller, genellikle 25-45 °C olan ortam sıcaklıklarında yaşarlar (**Arda, 2000**). Termofiller ise 45-80 °C'nin arasındaki sıcaklık değerlerinde iyi gelişirler. Hipertermofiller ise 80 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda iyi gelişirler (**Burg, 2003**).

Termofil bakteriler doğal olarak; sığ, sıcak yer kaynakları, hidrotermal ağız sistemleri, volkanik adalardaki tortullar, volkan ağız ve derin deniz hidrotermal ağızları dahil olmak üzere jeotermal olarak ısınmış birçok deniz ve kara habitatlarından izole edilmiştir (**Matpan, 2007; Szewzyk ve ark., 1994**).

Termofilik bakterilerin yüksek sıcaklık tercihleri evrimsel gelişmeleri hakkında bir takım spekülasyonların gelişmesine neden olmuştur. Bir teoriye göre, termofiller yeryüzü üzerindeki yaşayan ilk canlılar arasında yer almaktaydı ve bu dönemde yer kabuğu sıcaklığı oldukça yüksekti. Bu yüzden termofilik bakteriler evrimsel ata olarak adlandırılırlar. Yaklaşık 3,6 milyar yaşında oldukları tahmin edilmektedir. O zamanda oldukça yaygındılar ve gezegen üzerindeki yaşayan tüm canlıların yarısını oluşturdukları söylenmektedir. Bu yüzden, termofillerin gezegenimiz üzerindeki tüm canlı formlarının atasal organizması olduğu düşünülür (http://weblife.org/humanure/chapter3_8.html).

Geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilen termofilik mikroorganizmalar, yüksek sıcaklıkta optimum fonksiyon göstermek için biyolojik membranlarında çeşitli adaptasyonlara ihtiyaç duyarlar. Genelde bakterilerin fosfolipit kompozisyonu gelişim sıcaklığı ile değişir (**De Vrij ve ark., 1988**). Termofillerin ve hipertermofillerin stoplazmik membranlarının bileşenlerinin sıcaklığa karşı stabil olması gereklidir. Psikrofillerin membranları doymamış yağ asitlerince zengin lipidler içerir ki bu durum düşük sıcaklıkta membranlarının akışkan olmasını ve fonksiyon görmesini mümkün kılar (**Madigan ve ark., 2003**). Bunun aksine, termofiller doymuş yağ asitlerince zengin lipidlere sahiptirler. Böylelikle bu durum; membranlarının yüksek sıcaklıklarda

fonksiyon görmesini, membran akışkanlığının korunmasını ve stabil kalmasını sağlar (**Madigan ve ark., 2003; Fujita ve Kanehisa, 2005**). Membran stabilitesini arttırması açısından doymuş yağ asitleri doymamış yağ asitlerinden daha güçlü bir hidrofobik çevre oluşturur (**Madigan ve ark., 2003**).

Yüksek sıcaklıktaki gelişim, sadece dayanıklılık ve aktiviteden sorumlu olan membran bağımlı enzimlerin adaptasyonunu gerektirmez, aynı zamanda membran fosfolipid bileşenlerince adaptasyonu gerektirir. Bu membran fosfolipid kompozisyon adaptasyonu her bir membrandaki sıcaklık ve mikrovizkozite arasındaki ilişkiyi yansıtır. Hücrel fosfolipidlerin % 90'ını fosfatidilgliserol ve kardiolipin (difosfatidilgliserol) oluşturur. Yüksek gelişim sıcaklıklarında kardiolipin azalışı ile birlikte fosfatidilgliserol içeriğinde artış görülür. Hatta, gelişim sıcaklığındaki artış ile tüm membran lipidlerinin açıl zincir kompozisyonunda bir değişim gerçekleşir ve doymamış yağ asitlerinin aşamalı bir azalışı meydana gelir. İzo-anteizo yağ asit oranında artış oluşur ve doymuş lineer yağ asitlerinin daha uzun homologlarının varlığında bir artış gözlenir (**De Vrij ve ark., 1988**).

Termofil bakteriler, hem endüstriyel uygulama alanları için hem de temel bilimlerin gelişmesi için pek çok avantaj sağladığından dolayı son zamanlarda, bu bakteriler üzerine araştırmalar yoğun bir şekilde yürütülmektedir (**Akhmaloka ve ark., 2006**). Bu grup mikroorganizmaların yararlı biyoteknolojik özellikleri yüksek üreme oranı göstererek daha kısa kültürasyon zamanı sağlar (**Panikov, 2003**). Biyokatalitik endüstriler için yüksek potansiyel uygulama alanına sahip olan termostabil enzimlerin kaynağı olarak termofilik mikroorganizmalar kullanılabilir (**Studholme ve ark., 1999**). Termostabil enzimlerin biyoteknolojik işlemlere uygulanması, işlem maliyetini düşürebilir ve reaksiyon hızını artırabilir. Böylelikle verimlilik artar. Termofilik mikroorganizmalardan elde edilen enzimler oldukça stabildir (**Panikov, 2003; Lioliou ve ark., 2004**) sıcaklık ve pH'nın geniş bir aralığında aktiftir. Termofil bakterilerden elde edilen bu enzimler, çok çeşitli endüstriyel uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu enzimler; deterjan, gıda ve besin hidrolizi, maya, fırıncılık, tekstil, kağıt, (**Demirjian ve ark., 2001; Burg, 2003**) ilaç ve nişasta, selüloz, kitin ve pektin uygulamalarında kullanılmaktadır (**Burg, 2003**). Termofilik mikroorganizmaların fermantasyon

işlemlerine uygulanması aynı zamanda diğer mezofilik bakterilerin kontaminasyonunu engeller (Akhmaloka ve ark., 2006). Çeşitli biyosentetik aktivitelerinden dolayı termofiller pratik amaçlı değerli metabolitlerin üretilmesi için muhtemel adaydır (Panikov, 2003).

1.3.3.1. Termofilik Basiller

Termofilik basiller, sıcaklıkla muamele edilmiş besin ürünlerinin kontaminatları olarak düşünülse de esas potansiyelleri proteaz, amilaz, lipaz ve DNA restriksiyon enzimleri gibi termostabil enzimlerin kaynağı olarak öneme sahiptirler. Termofilik basiller 1994 yılında iki cins halinde (*Bacillus* ve *Alicyclobacillus*) sınıflandırılmaktaydı ve türlerin çoğu *Bacillus* cinsi içerisinde yer almaktaydı (Rainey ve ark., 1994).

1.3.3.1.1. *Bacillus*

Bacillaceae familyası içinde birçoğu saprofit olan aerob veya fakültatif anaerob, endospor oluşturan ve çomakçık şeklinde yapıya sahiptirler. Bazıları insan ve hayvanlar için patojendir (Bilgehan, 2002; Park, 2003; Janstova ve ark., 2004; Özşahin, 2006). Gram pozitif ya da değişken gramdır. Koloniler genellikle şeffaf ya da donuk renklidir. Bazen krem renkli koloniler meydana gelmektedir. Hareketli veya hareketiz olabilirler. *Bacillus* flagellası genellikle çevre kirpiklere (peritrişya) sahiptir (Yılmaz, 2002). *Bacillus* cinslerinin bazılarının termofilik, bazılarının ise mezofilik oldukları bilinmektedir. Örneğin; *Bacillus cereus* ve *Bacillus subtilis* ılımlı sıcaklıklarda büyüme gösterirken, *Bacillus stearothermophilus* 65 °C ve üzerindeki sıcaklıklarda büyüme gösterir (Demirijian, 2001; Black, 1996).

Son yıllarda, artan *Bacillus* cinsi bakterilerinin geniş ve çeşitli grupları yeni cinslere bölünmüştür. Bu cinsler; *Alicyclobacillus*, *Paenibacillus*, *Brevibacillus*, *Aneurinibacillus*, *Virgibacillus*, *Salibacillus*, *Gracilibacillus*, *Ureibacillus* ve son olarak *Geobacillus*'tur. Bu yeni cinsler 16S rRNA gen sekans analizleri baz alınarak ayrı filogenetik gruplara dahil edilmiştir (Banat ve ark., 2004).

Bacillus thermantharcticus:

Antartika'da Melbourne dağı krateri yakınlarındaki jeotermal topraktan izole edilmiştir. Gram pozitifdir. Optimum 63 °C ve pH 6,0'da gelişim gösterir. Oksidaz pozitif, katalaz negatiftir ve ekzopolisakkarit üretirler. Ekzosellüler ksilinaz, intrasellüler alkol dehidrogenaz, ekzo ve endosellüler glukozidaz üretirler (**Nicolaus ve ark., 1996**).

1.3.3.1.2. *Geobacillus*

Hücreleri çubuk şeklindedir, tek tek ya da kısa zincirler halinde bulunabilirler. Peritrikous bir kamçı vasıtasıyla hareket ederler. Hücre duvar yapısı Gram pozitifdir ancak Gram boyama reaksiyonu (+) ve (-)'ler arasında değişkenlik gösterebilir. Her bir hücre silindirik ve elipsi endospor oluşturur. Bu endosporlar terminal ya da subterminal olarak lokalize olabilir. Oluşturdukları koloni şekilleri ise boyutça değişkenlik gösterir ve belirli üreme ortamlarında pigment sentezleyebilirler. Enerjilerini kemo-organotrofik olarak sağlarlar. Aerobik ya da fakültatif anaerobik olabilir. Zorunlu termofiliktirler (**Nazina ve ark., 2001; Kuisiené ve ark., 2007**). Gelişim sıcaklık aralığı 37-75 °C'dir ve optimum 55-65 °C'de gelişirler. pH gelişim aralığı 6,0-8,5'dir ve optimum pH 6,2-7,5 arasında gelişir. G-C içeriği % 48,2-58 mol'dür. 16S rRNA sekansları bu cinsin üyeleri arasında % 96,5'den daha fazla bir benzerlik gösterir (**Nazina ve ark., 2001**).

Termofilik basillerin yeni bir cinsi olan *Geobacillus* 2001'de filogenetik Grup 5 içerisinde sınıflandırılmıştır (**Nazina ve ark., 2004**). Bazı izole edilen ve tanımlanan *Geobacillus* cinsi; *Geobacillus gargensis*, *Geobacillus vulcani*, *Geobacillus stearothermophilus*, *Geobacillus thermocatenulatus*, *Geobacillus kautophilus*, *Geobacillus thermoglucosidasius*, *Geobacillus thermodenitrificans*, (**Nazine ve ark., 2004**), *Geobacillus toebii* sp.nov. (**Sung ve ark., 2002**), *Geobacillus debilis*, *Geobacillus pallidus* (**Banat ve ark., 2004**), *Geobacillus tepidamans* sp. nov. (**Schäffer ve ark., 2004**), *Geobacillus caldxylosilyticus* (**Fortina ve ark., 2001**), *Geobacillus thermoleovorans* sub. sp. *stromboliensis* sub.sp. nov. (**Romano ve ark., 2005**), *Geobacillus kaustophilus* (**Takami ve ark., 2004**), *Geobacillus lituanicus* sp. nov. (**Kuisiené ve ark., 2004**), *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* sub. sp. nov. (**Poli ve**

ark., 2006), *Geobacillus subterraneus*, *Geobacillus uzensis*, (Nazina ve ark., 2001) türlerini içermektedir.

***Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*:**

Aerob, spor oluşturan bu termofilik bakteri İtalya'da Pomigliano, Naples'de sıcak kompostan izole edilmiştir. Hücreleri çubuk şekilli ve Gram pozitifdir. Optimum gelişim sıcaklığı 68 °C'dir. G-C içeriği % 43,5 mol'dür (Poli ve ark., 2006).

***Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*:**

Aerob, endospor oluşturan bu yeni termofilik bakteri Güney İtalya'da Stromboli adasında 918 m yükseklikteki jeotermal volkanik bir çevreden izole edilmiştir. Hücreleri çubuk şeklinde ve gram pozitifdir. Gelişim sıcaklık aralığı 50-75 °C'dir ve optimum 70 °C'de gelişirler. pH gelişim aralığı 5,0-8,0'dir ve optimum pH 7,0 arasında gelişir. G-C içeriği % 54,1mol'dür. 16S rRNA sekans analizler sonuçlarına göre *Bacillus* rRNA Grup 5'e dahil edilmiştir (Romano ve ark., 2005).

1.3.3.1.3. *Anoxybacillus*

Gram pozitif ve hareketlidirler. Fakültatif aerob veya zorunlu aerob'turlar. Gelişim sıcaklık aralığı 30-72 °C'dir ve optimum 60-72 °C arasında gelişirler. pH gelişim aralığı 5,7-11,0'dir ve optimum pH 7,5-8,5 aralıklarında gelişim gösterirler (Derekova, 2007; Kevbrin, 2005; D'Souza ve ark., 2004; Pikuta ve ark., 2000). Bu cins ilk kez 2000 yılında Pikuta ve ark., tarafından tanımlanmıştır. Bu cinsin ilk tanımlanan türü *Anoxybacillus pushchinoensis* DSM12423T'tir. *Anoxybacillus* cinsinin üyeleri daha önce *Bacillus* cinsi içerisinde yer almaktaydı. Cins, *A. gonensis*, *A. flavitermus*, *A. contaminans*, *A. voinovskiensis*, *A. ayderensis*, *A. kestanboluensis*, *A. pushchinoensis* adında yedi tür içermektedir (Poli ve ark., 2006).

Anoxybacillus amylolyticus:

Antartika'da Rittmann dağı jeotermal toprak örneğinden izole edilmiştir. Gram pozitif, çubuk şekilli ve filamentlidir. Gelişim sıcaklık aralığı 45-65  C ve optimum 61  C arasında gelişirler. pH gelişim aralığı 5,0-6,5'dir ve optimum pH 5,6'da gelişim gösterir. Ekzopolisakkarit üretir ve ekstrasellüler amilolitik aktivite gösterir. DNA'daki G-C içeriği % 43,5 mol'dür. 16S rRNA gen sekans analizi sonucu *Anoxybacillus* türleri ile benzerlik gösterir. DNA-DNA hibridizasyonu, fizyolojik ve biyokimyasal testler sonucu yeni bir tür olan *Anoxybacillus amylolyticus* olarak adlandırılmıştır (**Poli ve ark., 2006**).

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Hu ve ark., (2007), Cd^{+2} ye oldukça yüksek direnç gösteren HQ1 bakterisini, bir çinko madeninden izole etmişlerdir. İzolat, 16S rRNA gen analizleri, morfolojik ve fizyolojik testler sonucu *Bacillus cereus* olarak tanımlamış ve karakterize etmişlerdir. Bakteri için Cd^{+2} 'nin minimum inhibisyon konsantrasyonunu 0,012 mol/l olarak tespit etmişlerdir. HQ1 *Bacillus cereus* izolatu tarafından Cd^{+2} 'nin biyosorpsiyonu için izotermeler geliştirmişlerdir. Sonuçlar *Bacillus cereus*'un Cd^{+2} 'nin biyosorpsiyonunda yüksek potansiyele sahip olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar, izolatın fizyolojik özelliklerinin Cd^{+2} ile kontamine alanların biyoremediasyonunda uygulanmasının mümkün olduğunu göstermişlerdir

Kim ve ark., (2007), *Bacillus* ssp. varyete CPB4 bakterisini Kore'de ağır metal bulaşmış topraktan izole etmişler ve daha sonra karakterizasyonunu çalışmışlardır. CPB4 varyetesinin ağır metalleri (Pb>, Cd>, Cu>, Ni>, Co>,Mn>, Cr> Zn) hem tek hem de ağır metal karışımı içeren solüsyonlardan yüksek kapasitede aldığını göstermişlerdir. CPB4 varyetesinin optimum ağır metal alma koşullarını; kültür sıcaklığı 20-40 °C'de, pH: 5,0-7,0 ve ön kültür zamanı 24 saat olarak tespit etmişlerdir. Transmisyon elektron mikroskopunda (TEM) ağır metal komplekslerinin hücre duvarı ve hücre membranında çok fazla olduğunu göstermişlerdir. Buna ilaveten ağır metal iyonlarının % 90'ından daha fazlasını hücre duvarı ve hücre membranı fraksiyonlarında biriktirdiğini tespit etmişlerdir. Hücreleri alkali solüsyonlar ile ön işleme maruz bıraktıklarında, ağır metal alınımının dikkate değer bir şekilde düştüğünü tespit etmişlerdir.

Bagot ve ark., (2006), ağır metal ile kontamine olmuş topraktan 4 bakteri ve bir mantar izole etmişler. Bu mikroorganizmaların yüksek Cd derişimlerinde gelişebildiklerini ortaya koymuşlardır. Sentetik ve toprak ekstraktı ortamında pH ve Cd konsantrasyonlarına bağlı olan büyüme kapasitelerini tespit etmişlerdir. Büyüme oranlarını ve biyosorbe edilen Cd oranını kıyaslayarak biyo-iyileştirmede kullanılacak en etkili mikroorganizmanın tespitini yapmışlardır.

Deng ve ark., (2006), metalotiyonein ve bir Cd taşıma sistemini salgılayan, genetik olarak değiştirilmiş *E.coli* (M4 olarak adlandırılan) tarafından Cd biyoakümülyasyonunu çalışmışlardır. M4 gelişiminin Cd varlığına dirençli olduğunu göstermişlerdir. Orijinal bakteri hücresi tarafından Cd alım kapasitesi M4'ün alım kapasitesi ile karşılaştırıldığında M4'ün bir kattan daha fazla Cd alınımı gösterdiğini tespit etmişlerdir. M4'ün pH: 4,0-8,0 gibi geniş bir aralıkta Cd'un etkin bir şekilde bağladığını bulmuşlardır. Ni ve Mn varlığında Cd alınımının etkilenmediğini ve Cu, Pb ve Zn varlığında ise ciddi bir ters etki oluşturduğunu tespit etmişlerdir. EDTA'nın etkin bir şekilde Cd biyoakümülyasyonunu azalttığını, sitratın etkisinin nispeten daha az olduğunu tespit etmişlerdir.

Romero ve ark., (2006), bifenilleri etkin bir şekilde yıkabilen *T.helicus*'un bir soyunu, yüksek bakır seviyelerinde geliştirmişlerdir ve Co, Pb ve Cd'un varlığında geliştirdiklerinde eş tolerans meydana getirdiklerini göstermişlerdir. Cu adaptasyonunu, fizyolojik mekanizmaların bir sonucu olarak bulmuşlar ve diğer ağır metallerin yanısıra bakıra olan bu direncin biyokimyasal işlevleri aktive ettiğini saptamışlardır. Aynı zamanda misellerin bakır'a adaptasyonunu sporlara aktarmışlar ve atasal hücrelerden 2 kat daha fazla bakırı uzaklaştırdığını göstermişlerdir. Bu metallerin bir arada buldukları kontamine çevrelerden izole edilen mikroorganizma topluluklarının, genellikle birden fazla çeşit iyona direnç gösterdikleri dirençten daha fazla direnç gösterdiklerini bulmuşlardır. Bu sonuçları *T. helicus*'un detoksifikasyon ve ağır metallere adaptasyon yetenekleri şeklinde vurgulamışlardır. Bu bilgilerin, çevresel biyoteknolojiler için oldukça önemli olduğunu ve böylesi tolerans ve birlikte toleransın doğal çevrelerde gerekli olduğunu göstermişlerdir. Böylece basit bir biyoremediasyon stratejisi ile bu tarz kirlenmiş bölgelerin detoksifiye edilmesini önermişlerdir.

Zaidi ve ark., (2006), Ni tolerant *Bacillus subtilis* SJ-101'i 16s rDNA homolojisi ve filogenetik analizler baz alınarak karakterize etmişlerdir. Bu soyun, metal toleran Rhizobacteria içeren kombinasyonunda Ni fitoremediasyonu işleminde Hindistan hardal bitkisindeki Ni akümülyasyonunu kolaylaştırdığını tespit etmişlerdir. Elde edilen bilgiler (1750 mg/kg^{-1}) NiCl_2 'e maruz bırakılan bitkilerin SJ-101 miktarı arttırıldığında topraktan % 0,147 oranında Ni akümülyasyonu gerçekleştirdiğini,

inokülasyon yapılmayan toprakta geliştirilen bitkilerin kuru biyokütlesinin ise % 0,094 oranında akümülyasyon gerçekleştirdiğini tespit etmişlerdir. Saksı kültür deneyleri, Ni içermeyen kontrol toprağında izole edilen SJ-101'in bitkinin doğal gelişimi üzerine önemli etkisinin olduğu tespit etmişlerdir. 250-1750 mg/kg aralığında Ni konsantrasyonu uygulanmış topraklarda Ni fitotoksitesine karşı SJ-101 soyunun koruyucu etkisinin olduğunu tespit etmişleridir.

Piotrowska-Seget ve ark., (2005), kültüre alabildikleri bakteri toplulukları arasında metali tolere edebilen bakteri popülasyonlarının çok olduğunu, işlenebilir verimli toprağın değişik katmanlarında ve daha önce gümüş madenciliği yapılarak bozulan verimsiz toprağın katmanlarında belirlemişlerdir. Buna ilaveten plazmid içeren izolatların metal tolerans özelliklerinin yanı sıra belirli ağır metallere karşı toleransı kodlayan plazmid ve total hücre yağ asidinin profillerinin ortaya konmasıyla tanımlanan bakteri izolatlarını tespit etmişlerdir. Kumlu, kil ve balçıklı topraklar arasında bakteri sayılarında farklılık görmüşlerdir. Bu durumu balçıklı topraktaki yüksek metal konsantrasyonlarının etkisiyle ilişkilendirmişlerdir. Her iki toprakta da bakteri izolatlarının büyük bir kısmının Gram negatif olduğunu ve verimsiz toprakta *Variovorax paradoxus*'un baskın olduğunu görmüşlerdir. MIC değerleri, plazmid ihtiva eden bazı izolatların test edilen metallere tolerans gösterdiğini belirlemişlerdir. Kumlu, killi topraktan izole edilen *Methylobacterium mesopilicum* ve *Flavobacterium*, balçıklı topraktan izole edilen *Pseudomonas gladioli* ve verimsiz topraktan izole edilen *Variovorax paradoxus*'un sırasıyla Zn, Cu, Cd ve Ag'e karşı yüksek toleransa sahip olduklarını rapor etmişlerdir.

Yılmaz, (2003), ağır metallere dirençli olan *Bacillus* sp. varyete EB1'i Türkiye'nin güneydoğu bölgesinden ağır metal kontamine olmuş topraktan izole etmiştir. 16s RNA sekans analizi sonucu bu mikroorganizmanın *B.circulans* ile ilişkili olduğunu göstermiş ve bu bakterinin minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MIC) belirlemiştir. *Bacillus* EB1'in metaller için yüksek MIC ve antibiyotikler için ise geniş bir spektrum değerleri gösterdiğini bulmuştur. Katı besiyerinde bakteriler üzerine metal toksisitesi sırasıyla Cd=Co>Cu>Ni>Zn>Mn olarak bulunmuştur. Sıvı kültürlerde, yüksek metal konsantrasyonlarının bakteri gelişimi üzerine direnç durumlarını belirlemiştir.

Bakterinin bu metallere karşı katı besiyerinde sıvı besiyerine göre daha dirençli olduğunu saptamıştır. *Bacillus circulans* varyete EB1'in metal biyosorpsiyonu Mn için % 90, Zn için % 68, Cu için % 65, Ni % 45 ve Co için % 40 uzaklaştırma yeteneği gösterdiğini bulmuştur. Aktif gelişim döngüsü esnasında sırasıyla özel biyosorpsiyon kapasitesini 25, 22, 20, 13 ve 12 mg/l olarak tespit etmiştir.

Yılmaz ve Ensari, (2005), ağır metal dirençli *Bacillus circulans* EB1'in Cd varlığında geliştiğinde bu metale karşı yüksek tolerans ile birlikte yüksek Cd biyosorpsiyon kapasitesi de gösterdiğini tespit etmişlerdir. *B. circulans* EB1 hücreleri 28,1 mg/l Cd varlığında geliştirilirse 8. saatte kuru biyokütle başına 5,8 mg Cd'un spesifik bir biyosorpsiyon kapasitesi ile Cd'u ortamdan uzaklaştırma yeteneği gösterdiğini belirtmişlerdir. Eğer uygulama öncesi hücreler düşük Cd konsantrasyonuna sahip bir ortamda ön gelişim uygulanırsa alımın 6,7 mg Cd /kuru biyokütle'ye yükseldiğini tespit etmişlerdir. Maksimum Cd alımının gelişimin logaritmik fazında olduğunu tespit etmişlerdir. Aynı zamanda, EB1'in hem yaş hem de kuru biyokütlenin Cd biyosorpsiyonunu çalışmışlardır. Yaş ve kuru biyokütlenin, Cd biyosorpsiyon kapasitelerini sırasıyla kuru ağırlık başına 9,8 ve 26,5 mg olarak bulmuşlardır. Hem yaş hem de kuru hücreler tarafından maksimum Cd uzaklaştırılması çalışmalarını pH 7,0'de gerçekleştirmişlerdir.

Srinath ve ark., (2002), Cr⁺⁶ biyoakümülyasyonu yapabilen türleri bir atık suyu arıtma fabrikasında arıtılmış tabakhane atık sularından izole etmişlerdir. Arıtılmış atık sulardaki Cr⁺⁶ konsantrasyonunun 0,96 mg/l olduğunu tespit etmişlerdir. Biyoakümülyasyonun yanı sıra yaşayan ve ölü hücrelerin biyosorpsiyon kapasitelerini de analiz etmişlerdir. *Bacillus circulans* ve *Bacillus megaterium* olarak tanımlanan türlerin, 50 mg/l Cr⁺⁶ başlangıç konsantrasyonu olduğu durumda 24 saat içinde kalıntıdaki kuru ağırlığa göre sırasıyla 34,5 ve 32,0 mg Cr/g kuru ağırlık değerlerinde Cr⁺⁶ biyoakümülyasyonu yapabildiğini tespit etmişlerdir. Batch çalışmaları sırasında, seçici ağır metal akümülyasyonu yapabilen türlerin, son kalıntıdaki metal konsantrasyonun yanı sıra başlangıç metal konsantrasyonunu da hesaba katarak deneyleri tasarlamışlardır. Çalışılan her iki tür için de Cr⁺⁶ biyosorpsiyonunu göstermişlerdir. Canlı ve ölü *Bacillus circulans* hücrelerinin kuru ağırlığa göre sırasıyla; 23,8 ve 39,9 mg Cr/g hücre

oranlarında biyosorplama yaparken, canlı ve ölü *Bacillus megaterium* hücrelerinin kuru ağırlığa göre sırasıyla; 15,7 ve 30,7 mg Cr/g hücre oranlarında biyosorplama yaptığını gözlemlemişlerdir. Ölü hücrelerin, canlı hücrelere göre daha fazla biyosorpsiyon yaptığını belirlemişlerdir.

Costa ve Duta, (2001), *Bacillus* cinsinden bazı mikroorganizmaların Cd, Zn, Cu ve Pb iyonlarının alınımıyla ilgili çalışmalar yapmışlardır. Maksimum Cu biyoakümülyasyonlarını *B. sphaericus* için 56 mol/g biyokütle, *B. cereus* ve *B. subtilis* için 59 mol/g biyokütle ve *Bacillus sp.* için 64 mol/g biyokütle olarak bulmuşlardır. Maksimum Zn biyoakümülyasyonlarını *B. sphaericus* için 4,3 mol/g biyokütle, *B. cereus* için 4,6 mol/g biyokütle ve *Bacillus sp.* için 4,8 mol/g biyokütle, *B. subtilis* için ise 5 mol/g biyokütle olarak bulmuşlardır. Maksimum Cd biyoakümülyasyonlarını *B. cereus* için 8 mol/g biyokütle, *B. subtilis* için 9,5 mol/g biyokütle, *Bacillus sp.* için 10,8 mol/g biyokütle ve *B. sphaericus* için 11,8 mol/g biyokütle olarak tespit etmişlerdir. Maksimum Pb biyoakümülyasyonlarını *B. sphaericus* için 0,7 mol/g biyokütle, *B. cereus* için 1,1 mol/g biyokütle ve *Bacillus sp.* için 1,4 mol/g biyokütle, *B. subtilis* için 1,8 mol/g biyokütle olarak bulmuşlardır. Test edilen farklı *Bacillus* soylarının ayrı alım kapasiteleri gösterdiğini ve en iyi sonuçların *B. subtilis* ve *B. cereus* ile yapılan çalışmalarda elde edildiğini belirtmişlerdir.

Fernandez-Leborans ve Herrero, (2000), bir protozoa topluluğunda Cd ve Pb davranışları, bu ağır metallerin biyoakümülyasyonu ve toksisitesi hakkında yeni bilgiler elde etmek için çalışmışlardır. Bu amaç için farklı konsantrasyonlardaki kirleticiler ile mikroorganizmaları çalışmışlardır (Metalsiz, 500 µg/l Cd ve Pb ile 1000 µg/l Cd ve Pb). Protozoaların 7,03-207 µg Pb/g kuru ağırlık ve 0,05-332,75 µg Cd/g kuru ağırlık olarak biyoakümülye ettiklerini bulmuşlardır. Bu durumdaki akümülyasyon kapasitesininin 161,45 µg Pb/kuru ağırlık ve 310,75 µg Cd/g kuru ağırlık kadar bakterilerinkinden daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Her iki metalin eklenmesinin protozoa yoğunluğunda kayda değer bir azalmaya neden olduğunu tespit etmişlerdir.

Hassen ve ark., (1998a), kirletilmiş çevrelerde sıklıkla bulunan ağır metallerin, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus thuringiensis* tarafından biyosorpsiyonunu çalışmışlardır. Bu metallerin, bakteri gelişimi, kuru hücre miktarı, amonyum asimilasyonu, pigment üretimi ve protein sentezi üzerine etkilerini çalışmışlardır. MIC değerinden daha düşük metal konsantrasyonlarının kısmı olarak bakteriyel gelişimi kısıtladığını ve uygulanan metal konsantrasyonunda kısmi bir inhibisyona neden olduğunu görmüşlerdir. Bakteriyel biyokütlenin üretimi; ağır metal konsantrasyonuna, ürettiği ortama ve çalışılan bakteriyel ırka göre değişkenlik gösterdiğini belirtmişlerdir. *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus thuringiensis* tarafından metal biyosorpsiyonunun değişkenlik gösterdiğini bulmuşlardır. Bu bakteriler tarafından en iyi adsorbe edilen elementlerin Hg ve Cu olduğunu belirtmişlerdir. *Pseudomonas aeruginosa* tarafından Cr (% 0,07–45,9) biyosorpsiyonu ve *Bacillus thuringiensis* tarafından Cu (% 18,7–33,8) biyosorpsiyonunu sitratın belirgin bir şekilde arttırdığını tespit etmişlerdir. Metalik katyonların protein sentezi üzerine değişik etkiler ortaya çıkardığını bulmuşlardır. Zn'nin *P. aeruginosa*'da protein sentezini uyardığını ve Cd'nin *B. thuringiensis*'de belirgin bir şekilde protein sentezini inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. MIC değerinin altındaki konsantrasyonlarda Hg ve Cu'nun, *P. aeruginosa*'nın pigment sentezini daima inhibe ettiğini belirtmişlerdir.

Hassen ve ark., (1998b), doğal olarak kirletilmiş farklı çevrelerden bakteri izole etmişlerdir. Metal dirençli bakterileri seçmişler ve her bir izolat için ağır metallerin minimum inhibisyon konsantrasyonunu (MIC) değerlerini belirlemişlerdir. Ek olarak, en önemli metalik konsantrasyonların (Cu, Zn, Cr, Cd, Co, Hg) mobilitesini katı veya sıvı ortamda iki toksisite testinden elde edilen sonuçlarla karşılaştırarak belirlemişlerdir. Katı ortamdaki toksisite testlerinin sonuçlarını, sıvı ortamdakiler ile uyumlu olarak bulmuşlar ancak, katı ortamdaki minimum inhibisyon konsantrasyonlarını sıvı ortamdakinden daha yüksek olduğunu görmüşlerdir. Katı ve sıvı ortamda tolere edilen metal konsantrasyonlarının oranları, metallerin adsorpsiyonu ve kompleksiyon kapasiteleri üzerine bilgi sağladığını belirtmişlerdir. Civa ve daha düşük bir derece ile bakırın iyi birer adsorpsiyon ve kompleksiyon kapasitesine sahip olduğunu bulmuşlardır. Cu ve Cr'un en iyi tolere edilen metaller olduğunu tespit etmişlerdir.

Civanın ise Co ve Cd'dan sonra tüm bakteriler için en toksik bileşik olduğunu tespit etmişlerdir.

Gupta ve Keegan, (1997), kümes hayvanı dışkısında bulunan mikroorganizmalar tarafından sulu çözeltilerden (Pb) kurşunun ayrıştırılmasını çalışmışlardır. Pb çözeltisi, radyoaktif kaynaklı olmayan ya da gama-kaynaklı olan atıkların sulu çözeltilerden (yaşayan organizmalarla) biyoakümüülasyonunu ve (ölü organizmalarla) biyosorpsiyonunu çalışmışlardır. Hem radyoaktif kaynaklı olmayan hem de gama-kaynaklı atıklardan önemli ölçülerde Pb'un uzaklaştırıldığını ifade etmişlerdir. 14 gün sonra radyoaktif kaynaklı olmayan atıklar tarafından biyoakümüülasyon boyunca ve gama-kaynaklı atıkların biyosorpsiyon boyunca uzaklaştırılan Pb miktarını sırasıyla; % 44 ve % 30 civarında olduğunu tespit etmişlerdir. Pb uzaklaştırılmasında 14. ve 60. gün arasında artışın olmadığını belirtmişlerdir.

Green-Ruiz ve ark., (2008), *Bacillus jeotgali* varyete U3 bakterisi tarafından Cd ve Zn metal iyonlarının biyosorpsiyonu üzerine batch deneylerinde pH, tuzluluk ve sıcaklığın etkilerini çalışmışlardır. Metal sorpsiyonunun, pH ya da sıcaklık arttırıldığında veya tuzluluk azaltıldığında yükseldiğini tespit etmişlerdir. Cd biyosorpsiyonu için Langmuir izotermi ve Zn biyosorpsiyonu için Freunlich izoterm modellerinin daha uygun olduğunu bulmuşlardır. Benzer biyokütlelerle yapılan çalışmalara kıyasla *Bacillus jeotgali* varyete U3'ün Cd ve Zn metal iyonlarının geri kazanımları için iyi bir biyosorbent olarak değerlendirilebileceğini göstermişlerdir.

Ansari ve Malik, (2007), 20 yıldan fazla endüstriyel atık sularla sulanan tarım topraklarının ağır metal içeriğini incelediklerinde Fe, Cr, Cu, Zn, Ni ve Cd'un çok yüksek düzeylerde olduğunu tespit etmişlerdir. Bu topraklardan izole edilmiş 40 bakterinin 17 tanesinin *Enterobacteriaceae* ve 10 tanesinin *Pseudomonas* olduğunu bulmuşlardır. Maksimum MIC değerlerini Cd için 200 µg/ml, Zn ve Cu için 400 µg/ml, Ni için 800 µg/ml ve Pb için 1600 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. *E. coli* WS11'nin Ni ve Cd biyosorpsiyonlarını hem tek başına hem de iki metal içeren sistemlerde çalışmışlardır. Tek metal içeren solüsyon içerisinde iki saatlik inkübasyon süresinden

sonra 50-400 µg/ml'lik konsantrasyonlarda Ni biyosorpsiyonları 6,96'dan 55,31 µg/g hücre ve Cd için 4,96'dan 45,37 µg/g hücreye yükseldiğini tespit etmişlerdir. İnkübasyon süresindeki artışın metal biyosorpsiyonu üzerinde herhangi bir önemli etkiye sahip olmadığını tespit etmişlerdir.

Çabuk ve ark., (2007) endüstriyel olarak alkol üretiminde aktif olarak kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin Cu^{+2} iyonu giderim yetenekleri ve besiyerindeki Cu dirençliliklerini araştırmışlardır. pH, başlangıç Cu^{+2} iyon konsantrasyonu, ve süre gibi biyosorpsiyon parametreleri için optimizasyon çalışmaları yapmışlardır. En yüksek Cu^{+2} biyosorpsiyon kapasitesine (58,8 mg/g) pH 5,0 değerinde, 5 dakika gibi kısa bir sürede ve 200 mg/l başlangıç Cu^{+2} iyon konsantrasyon değerinde ulaşmışlardır. Ayrıca hem katı hem de sıvı besiyerinde *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin Cu^{+2} iyonlarına karşı toleransı incelenerek biyosorpsiyon özelliği ile ilişkilendirmeye çalışmışlardır.

Elmacı ve ark., (2007), ölü alg hücrelerinden *Chara* sp. ve *Cladophora* sp. kullanılarak gerçekleştirilen biyosorpsiyon ile sulu çözeltilerden Cu, Cr, Ni ve Pb'nin uzaklaştırılmaları üzerine bu araştırmayı gerçekleştirmişlerdir. Cu^{+2} , Cr^{+3} , Ni^{+2} , Pb^{+2} , nin sulu çözeltilerinden biyosorpsiyonu için, optimum pH değerlerini *Cladophora* sp. için; sırasıyla 6,0, 7,0, 7,0 ve 3,0, *Chara* sp. için; 5,0, 3,0, 5,0 ve 4,0 olarak tespit etmişlerdir. *Chara* sp.'nin maksimum adsorpsiyon kapasitesi Cr^{+3} için 10,54 mg/g kuru ağırlık, Pb^{+2} için 61,72 mg/g kuru ağırlık ve *Cladophora* sp.'de ise Cr^{+3} için 6,59 mg/g kuru ağırlık ve Pb^{+2} için 23,25 mg/g kuru ağırlık olarak bulmuşlardır. Diğer bir taraftan *Cladophora* sp.'de Cu^{+2} ve Ni^{+2} biyosorpsiyon kapasitesini sırasıyla, 14,28 mg/g kuru ağırlık ve 16,75 mg/g kuru ağırlık olarak tespit etmişlerdir. Bu değerler *Chara* sp.'den daha yüksektir. *Chara* sp.'de ise Cu^{+2} 6,506 mg/g kuru ağırlık, Ni^{+2} için ise 11,71 mg/g kuru ağırlık olarak bulmuşlardır.

Öztürk (2007), *Bacillus thuringiensis* varyete *thuringiensis*'in kuru vejetatif hücre ve spor-kristal karışımı üzerine sulu solüsyonlardan toksik metal nikel'in biyosorpsiyonunu pH, başlangıç metal konsantrasyonu ve sıcaklık değişkenleri altında tespit etmiştir. *Bacillus thuringiensis*'in Ni^{+2} iyonlarının adsorpsiyon davranışını hem

Langmuir hem de Freundlich izotermi ile ifade etmiştir. Metal ile adsorpsiyon işleminin her iki izoterme uygunluk sağladığını ifade etmiştir. 250 mg/l nikel konsantrasyonunda, *Bacillus thuringiensis*'in spor-kristal karışımının nikel iyon alınımını % 15,7 olarak bulmuştur. Halbuki vejetatif hücrenin metal alınımını % 10 olarak bulmuştur. İyon alım için en iyi sıcaklığın 35 °C olduğunu rapor etmiştir.

Burnet ve ark., (2006), termofil *Anoxybacillus flavithermus*'da kadmiyum adsorpsiyonunu belirlemek için batch adsorpsiyon deneylerini yapmışlardır. Yüzey kompleksasyon modellerini (SCM) spesifik adsorpsiyon modellerini belirlemek için kurmuşlardır. Adsorpsiyon reaksiyonlarını ve stokiometreleri, spektroskopik teknikleri kullanarak sınırlamışlardır (XANES, EXAFS ve ATR-FTIR). Sonuçların *A. flavithermus*'un Cd adsorpsiyon davranışının diğer mezofilik bakterilerinkine benzer olduğunu göstermişlerdir. Yüksek bakteri-Cd oranlarında Cd adsorpsiyonu bir deprotonize edilmiş hücre duvarı karboksil fonksiyonel gruplu 1:1 kompleksinin oluşumu ile gerçekleştiğini tespit etmişlerdir. Düşük bakteri-Cd oranlarında, ikinci bir adsorpsiyon mekanizması olan Cd-fosforil, CdOH-karboksil, ya da CdOH-fosforil yüzey komplekslerinin oluşumunu tespit etmişlerdir (pH>7,0). X-ray adsorpsiyon spektroskopik incelemeleri sonucunda 1:1 Cd-karboksil yüzey kompleks oluşumunu doğruladığını, fakat bu deneyde kullanılan bakteri-Cd oranından dolayı diğer kompleksasyon mekanizması ya da mekanizmalarının spektroskopik bilgiler ile çözümleyememişlerdir.

Parvathi ve ark., (2006) maya *Saccharomyces cerevisiae* ve mantar *Aspergillus niger* biyokütlelerini kullanarak sulu çözeltilerden mangan biyosorpsiyonu çalışmışlardır. Mangan biyosorpsiyonu denge zamanını *Aspergillus niger* ve *Saccharomyces cerevisiae* için sırasıyla 60 ve 20 dakika, alımın ise 19,34 ve 18,95 mg/g olduğunu bulmuşlardır. Biyosorpsiyon kapasitesinin; pH, biyokütle ve mangan konsantrasyonunun artmasıyla beraber arttığını belirlemişlerdir.

Hetzer ve ark., (2006), termofilik bakteriler tarafından metal iyon adsorpsiyonunu incelemek için yüzey kompleksasyon modellerini (SCMs) rapor etmişlerdir. Başlangıç kadmiyum iyon toksite testlerinde *Geobacillus* cinsleri, CdCl₂'ye

(olduğunca yüksek 400'den 3,200 μM 'ye kadar) en yüksek tolerans gösterdiklerini bulmuşlardır. Termofilik ve Gram pozitif bakteriler olan *Geobacillus stearothermophilus* ve *G. thermocatenulatus* türlerinin hücre duvarı içindeki ve üzerindeki fonksiyonel gruplar tarafından Cd^{2+} kompleksasyonunu karakterize etmek amacıyla daha ileri düzeyde elektroforetik mobilite, potentiometrik titrasyonu ve Cd^{2+} adsorpsiyonu deneyleri için seçmişlerdir. Farklı tek alan SCM'leri, hem bir dizi pH değerleriyle ilgili çalışılan *Geobacillus* sp. ırkları hem de metal/bakteri konsantrasyon oranlarıyla ilgili kadmiyum iyon adsorpsiyonunun kapsamını tanımlamışlardır. Sonuçları, mezofilik bakteriler için önceki raporlarla kıyaslandığında burada araştırılan her iki termofilik varyeteler için kadmiyum biyosorbisyonuna farklı bir fonksiyonel grup türünün dahil edilebileceğini rapor etmişlerdir.

Ianis ve ark., (2006), canlı *Penicillium cyclopium* hücreleri üzerine Cu'nın biyosorbisyonunu çalışmışlardır. Ağır metal alınımını hızlı, yüksek ve solüsyondaki bakır iyon konsantrasyonlarına ve biyokütle konsantrasyonuna güçlü bir şekilde bağlı olduğunu bulmuşlardır. *P. cyclopium* tarafından alınan toplam Cu iyonlarının büyük bir çoğunluğu ilk 5 dakika içerisinde hücre yüzeyinde biriktirildiğini bulmuşlardır (% 75). Geriye kalan % 25'lik kısmın sonraki 50 dakika içerisinde hücreye bağlandığını tespit etmişlerdir. Optimum pH'yı 4,5 olarak bulmuşlardır. *P. cyclopium* tarafından bakır biyosorbisyonunun, hücre yüzeyinde bulunan fonksiyonel gruplar ile metal iyonları arasındaki fiziko-kimyasal etkileşimlerin yanısıra gruplar arasındaki elektrostatik çekimin de bu işlemden önemli bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Al-Garni, (2005), hem kapsülsüz (*Citrobacter freundii*) hem de kapsüllü (*Klebsiella pneumoniae*) Gram Pozitif bakterilerin kurşun biyosorbisyonunu karakterize etmiştir. Solüsyonun pH'sı, başlangıç metal konsantrasyonu, kuru toz haline getirilmiş bakteri miktarı ve etkileşim zamanının kurşun biyosorbisyonunu etkilediğini belirtmiştir. Test edilen iki bakterinin optimum biyosorbisyon parametreleri; pH: 4,0, başlangıç metal konsantrasyonu 481,2 mg/l, 100 dakika ve 2 g kuru hücre/l olarak bulunmuştur. Buna ilaveten her iki organizmanın kurutulmuş toz hücreleri, biyosorbisyon etkinliklerinde herhangi bir kayıp olmaksızın oda sıcaklığında uzun bir zaman boyunca (125 gün) güvenli bir şekilde saklanabildiğini tespit etmiştir. Kapsül

varlığının bakterilerin adsorbsiyon etkinliklerini artırdığını ortaya çıkardığını rapor etmiştir.

Elmacı ve ark., (2005), yaygın olarak kullanılan üç alg türünün (*Chara* sp., *Cladophora* sp. ve *Chlorella* sp.) sentetik olarak hazırlanan bir hidroliz boyar maddenin Remazol Turkish Blue-G ve Zn, Cd, Co ağır metallerinin biyosorpsiyonu için kullanmışlardır. Kesikli olarak yürütülen denemelerde, değişik boyar madde (40-100 mg/l) ve ağır metal konsantrasyonu (20-60 mg/l) ve değişen pH aralığında (2,0-8,0) alg türlerinin biyosorpsiyon karakteristiklerini araştırmışlardır. En iyi giderimin sağlandığı optimum pH *Cladophora* sp. ile yapılan çalışmada Cd, Zn ve Co için sırasıyla; 6,0; 5,0 ve 5,0; *Chara* sp. ile yapılan çalışmada 6,0; 5,0 ve 6,0; *Chlorella* sp. ile yürütülen çalışmada 5,0, 6,0 ve 5,0 olarak belirlemişlerdir. Ağır metal çalışmasında en iyi giderimin *Cladophora* sp. ile elde edildiğini tespit etmişlerdir. Boyar madde gideriminde üç alg türü için optimum pH'ı 2,0 olarak bulmuşlardır. Boyar madde ile yapılan çalışmada en iyi giderim veriminin ise *Chlorella* sp. ile elde edildiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak seçilen üç alg türünün hem renk hem de ağır metal gideriminde etkili olduğunu rapor etmişlerdir.

Şahin ve Öztürk, (2005), Cr⁺⁶ iyonlarının biyosorpsiyonu için *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* kuru vejetatif hücre ve spor-kristal karışımı üzerine sulu solüsyonlarda batch metodu kullanarak; pH, metal iyon konsantrasyonu ve sıcaklık fonksiyonlarını test etmişlerdir. Optimum adsorpsiyon pH değeri Cr⁺⁶ iyonları için pH: 2,0 olarak bulmuşlardır. Optimal koşullarda başlangıç metal iyon konsantrasyonunun artışıyla metal iyon alınımının arttığını göstermişlerdir. *Bacillus thuringiensis*'in spor-kristal karışımının Cr⁺⁶ iyon alınımını 250 mg/l'de % 24,1 olarak bulmuşlardır. Bununla beraber, *Bacillus thuringiensis*'in vejetatif hücresinin metal alınımını % 18 olarak tespit etmişlerdir. En iyi biyosorpsiyon sıcaklığını 25 °C olarak bulmuşlardır. Cr⁺⁶ iyonları ve biyosorbent arasındaki etkileşim hakkında daha fazla bilgi edinmek için Scathard plot analizleri kullanmışlardır.

Tawfik ve ark., (2005), ^{60}Co gama kaynağı bulunan soğutucudan izole edilen *Bacillus pantothenicus* ve *Bacillus megaterium*'un uranyum absorpsiyon kapasitelerini çalışmışlardır. *Pseudomonas putida* ve *Pseudomonas chlororaphis* referans türler olarak kullanılmıştır. Uranyum alınımı ile alakalı lokal türlerin referans türlerden daha uygun olduğunu bulmuşlardır. *Bacillus megaterium* ve *Pseudomonas chlororaphis* tarafından maksimum uranyum alınımını 20 $\mu\text{g U/ml}$ ve *B. pantothenicus*'un maksimum uranyum alınımını 30 $\mu\text{g U/ml}$ olduğunu bulmuşlardır. Transmisyon elektron mikroskobu çalışmasında uranyumun çalışılan izolatların hücre yüzeyine absorbe olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca biyokütle konsantrasyonu artışının uzaklaştırılan total uranyum miktarını arttırdığını tespit etmişlerdir. Ölü hücrelerin uranyum alınımının canlı hücrelerle kıyaslandığında aynı ya da daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. *B. pantothenicus*, *P.putida* ve *P. chlororaphis*'te maksimum alımın pH: 4,0'te olduğu halbuki *M. megaterium* için pH: 6,0 olduğunu bulmuşlardır. *B. pantothenicus* hariç çalışılan tüm türlerde uranyum alınımına sıcaklık etkisinin önemli olduğunu bulmuşlardır. Metabolik inhibitörlerin alımı etkilemediklerini tespit etmişlerdir.

Nakajima ve Tsuruta, (2004), onsekiz bakteri türünü, toryum ve uranyum adsorblanma yeteneklerini belirlemek amacıyla incelemişlerdir. Toryum için *Artrobacter nicotinae* ve *Micrococcus luteus*, uranyum için ise *Artrobacter nicotinae*'nin yüksek adsorpsiyon kapasitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Hem toryum hem de uranyum adsorpsiyonunun *Micrococcus luteus* hücreleri tarafından hızlı bir şekilde gerçekleştiğini, adsorpsiyonun solüsyon pH'sından etkilendiğini tespit etmişlerdir. Toryum'un bu yarışmalı adsorpsiyonda uranyumdan daha hızlı bir adsorpsiyon ve daha yavaş bir desorpsiyon oranı gösterdiğini belirtmişlerdir.

Özdemir ve ark., (2003), aktif çamurdan izole edilen *Ochobactrum anthropi*'de krom, kadmiyum ve bakır adsorpsiyonunu çalışmışlardır. Öncelikle pH etkisi, metal konsantrasyonu ve etkileşim zamanının etkilerini belirlemişlerdir. Optimum adsorpsiyon pH değerlerini; krom, kadmiyum ve bakır için sırasıyla; 2,0, 8,0 ve 3,0 bulmuşlardır. Ayrıca kuru biyokütle için metal alımında başlangıç metal konsantrasyonunun etkisini de incelemişlerdir.

Salehizadeh ve Shojaosadati, (2003), *Bacillus firmus* tarafından üretilen polisakkarit ile Pb, Cu ve Zn iyonlarının adsorbsiyonunu çalışmışlar. Metal iyonlarının adsorbsiyonunun özellikle solüsyonun başlangıç pH'sından, başlangıç metal iyonundan, polisakkarit konsantrasyonundan ve solüsyondaki diğer iyonların varlığından etkilendiğini tespit etmişlerdir. Optimum pH'da Pb, Cu ve Zn iyonlarının alınımını sırasıyla; % 98,3, % 74,9 ve % 61,8 olarak bulmuşlardır. Metal iyonlarının uzaklaştırılmasının nötral pH'da düştüğünü ve genellikle başlangıç adsorbsiyon oranının hızlı ve 10 dakika sonra dengeye ulaştığını tespit etmişlerdir.

El Bayaomy, (2002), altı farklı ağır metalin (Cu, Ni, Cd, Cr, Pb ve Zn) sülfat redükleyici bakteriler üzerine (SRB) biyosorpsiyonunu çalışmıştır. Her bir metali ayrı ayrı ekleyerek farklı SRB biyokütellerinin biyosorpsiyonunu test etmiştir. Çalkalamalı ve statik koşullarda çalışmıştır. Pb hariç diğer beş metal karışımının uzaklaştırma oranlarını sırasıyla; Cr>Cu,Zn,Cd>Ni olarak tespit etmiştir.

Kaewchai ve Prasertsan, (2002), hem polimer üreten üç termotolerant bakteri *Bacillus subtilis* WD 90, *Bacillus subtilis* SM 29 ve *Enterobacter agglomerans* SM 38'i hem de onların biyoflokulantlarının Ni ve Cd ağır metalleri için adsorpsiyon kapasitelerini incelemişlerdir. pH ve ağır metal konsantrasyonunun etkilerini araştırmışlardır. *E. agglomerans* SM 38'in kuru hücreleri tarafından Ni ve Cd adsorbsiyonu için optimum pH'ı sırasıyla 7,0 (% 25,5 uzaklaştırma) ve 8,0 (% 32 uzaklaştırma) olarak tespit etmişleridir. *Bacillus subtilis* WD 90 ve *Bacillus subtilis* SM 29 için optimum pH: 8,0'de Ni uzaklaştırılması sırasıyla; % 27 ve % 25 olarak ve Cd uzaklaştırılması sırasıyla; % 28 ve % 28,5 olarak bulunmuştur. *E. agglomerans* SM 39'un kuru ve yaş hücreleri tarafından ağır metal adsorbsiyonu çalışmasında, nikel ve kadmiyumun başlangıç konsantrasyonunun sırasıyla 30 ve 60 ppm'e yükseltilmesi ile biyosorpsiyon seviyesinin biraz arttığını tespit etmişlerdir.

Nourbakhsh ve ark., (2002), *Bacillus sp.*'de Cr⁺⁶, Pb⁺² ve Cu⁺² iyonlarının batch yöntemine göre biyosorpsiyonunu araştırmışlardır. Cr⁺⁶, Pb⁺² ve Cu⁺² iyonlarının farklı konsantrasyonlarını barındıran çoklu metal çözeltilerinde 27 °C'de ve sıklıkla endüstriyel atık sularda görülen pH: 4,0-7,0 değerlerinde adsorpsiyon çalışmışlardır.

Metallerin mikroorganizmaya ko-adsorpsiyonu, kombinasyonu ve konsantrasyonu kısmi yarışmalı adsorpsiyonu etkilediğini bulmuşlardır. Sonuç olarak, metal iyonlarının karışımında sadece bir çeşit metal iyonunun biyosorpsiyonu krom ve bakır biyosorpsiyonu ile karşılaştırıldığında azalırken kurşun biyosorpsiyonunun oldukça yüksek olduğunu tespit etmişlerdir.

Rho ve Kim, (2002), dört *Streptomyces*'in ağır metal adsorpsiyonlarını birbirleri ile karşılaştırmışlardır. Test edilen soylar arasında *Streptomyces viridochromogenesen*'in etkin metal bağlama aktivitesi gösterdiğini tespit etmişlerdir. Tekli metal ortamlarında adsorpsiyon potansiyelini sırası ile Zn>Cu>Pb>Cd olarak tespit etmişlerdir. Halbuki bu adsorpsiyon sırasını karışık metal reaksiyonlarında değiştiğini tespit etmişlerdir. Metal adsorpsiyon reaksiyonlarının oldukça hızlı, pH'ya bağımlı ve kültür yaşından bağımsız olduğunu tespit etmişler ve bu durumu ağır metal iyonları ile hücre duvarı komponentleri arasındaki fizikokimyasal reaksiyonları ile olabileceğini düşünmüşlerdir. Metal tolerant soyların en zayıf adsorbe edici aktivite gösterdiğini ve bu durumu metal biyosorpsiyonunun metal toleransı tabanlı olmadığına işaret ettiğini vurgulamışlardır.

Clausen, (2000), Cu, Cr ve As ile kontamine olmuş altı farklı bölgeden kromlanmış bakır-arsenat uygulanmış odundan 28 bakteri izole etmiştir. İzolatların, 8 farklı toprak bakterisi cinsinden 13 türünü içerdiğini belirlemiştir. Bu izolatlardan *Acinetobacter calcoaceticus* FN02, *Aureobacterium esteroaromaticum* VV03 ve *Klebsiella oxytoca* CC08'in kromun % 98'inin uzaklaştırabildiğini tespit etmiştir. *Bacillus licheniformis* CC01'in önişlem uygulanmış odundan % 93 oranla en yüksek bakırı uzaklaştırdığını bulmuştur. *Bacillus licheniformis* CC01 ve *Acinetobacter calcoaceticus* FN 02'nin sırasıyla % 44 ve % 48 oranında arseniği uzaklaştırdığını tespit etmiştir.

Leung ve ark., (2000), hem metal yönünden kirli endüstriyel atıklar hem de belediye atık suyunu işleyen aktive edilmiş sulu çamurdan alınan metale karşı dirençli ve dirençli olmayan toplam 19 bakteri izole etmiş ve tanımlamışlardır. İzolatların hem Gram pozitif (*Micrococcus*) hem de Gram negatif (*Pseudomonas*) bakterileri içerdiğini

görmüşlerdir. Beş farklı ağır metal için (Cu, Ni, Zn, Pb ve Cr) bu izolatların biyosorpsiyon kapasitesinin optimum pH: 5,0 ve başlangıç metal konsantrasyonunun 100 mg/l olduğunu belirlemişlerdir. *Pseudomanas pseudoalcaligenes* ve *Micrococcus luteus*'un belirli miktarda Cu ve Pb'yi uzaklaştırabilme özelliğine sahip olduğunu görmüşlerdir. Her iki tür için metal uzaklaştırılmasıyla ilgili pH'nın 2,0'den 6,0'ya kadar artışıyla metal biyosorpsiyonun arttığını göstermişlerdir. Araştırmacılar ayrıca *Pseudomanas pseudoalcaligenes*'in biyosorpsiyonuyla ilgili iyon rekabetini de çalışmışlardır. Sülfirik asit (0,05 M)'in, test edilen 11 madde içerisinde en etkili desorbisyon aracı olduğunu tespit etmişlerdir.

Sağ ve Kutsal, (2000), *Zoogloea ramigera* ve *Rhizopus arrhizus*'un Fe^{+3} , Cr^{+4} , Pb^{+2} , Cu^{+2} ve Ni^{+2} iyonlarının sıcaklık ve başlangıç metal konsantrasyonunun biyosorpsiyonu üzerine etkilerini çalışmışlardır.

Taniguchi ve ark., (2000), Zn madenlerindeki topraklardan izole edilen Zn dirençli *Brevibacterium* sp. varyete HZM-1'in yüksek Zn absorbe kapasitesi gösterdiğini bulmuşlardır. Langmiur izoterm kinetikleri ile HZM-1 hücrelerinin maksimum metal bağlama kapasitesinin 0,64 mmol/g kuru hücre olduğunu göstermişlerdir. Buna ilaveten HZM-1 hücrelerinin doğal çevreden Zn uzaklaştırmak için mükemmel bir biyosorbent olduğunu göstermişlerdir. Hücrelerin minimum 15 mM $ZnCl_2$ varlığında gelişebildiğini ve böylece Zn ile kontamine olmuş su sistemlerine *in situ* olarak uygulanabilir olduklarını göstermişlerdir.

Yan ve Viraraghavan, (2000), farklı kimyasallarla ön işlem uygulanmış *Mucor rouxii*'ye Pb^{+2} , Cd^{+2} , Ni^{+2} , ve Zn^{+2} biyosorpsiyonunu çalışmışlardır. NaOH, Na_2CO_3 ve $NaHCO_3$ gibi alkali kimyasallar ve deterjanlarla ön işlem uygulanmış *Mucor rouxii* biyokütlesi ile canlı *Mucor rouxii* karşılaştırıldığında biyosorpsiyon kapasitesini geliştirdiği ya da mevcut kapasiteyi muhafaza ettiğini tespit etmişlerdir.

Kotrba ve ark., (1999), Gly-His-His-Pro-His-Gly (HP olarak adlandırılan) ve Gly-Sis-Gly-Sis-Pro-Sis-Gly-Sis-Gly (CP) sekanslarının metal bağlayıcı peptidleri, LamB proteinlerine aktarmışlar ve *E. coli*'de ifade edildiğini göstermişlerdir. Peptidlerin

Cd^{+2} HP ve Cd^{+} -CP'ye stokiometrilere sırasıyla 1:1 ve 3:1 olarak tespit etmişlerdir. Hibrit LamB proteinlerini *E. coli*'nin dış membranında uygun bir şekilde paketlenmiş olduğunu tespit etmişlerdir. Yeni eklenmiş metal bağlayıcı peptidler taşıyan *E. coli*'nin izole edilen hücre kalıntıları Cd^{+2} bağlama kapasitesinde 1-8 kata kadar bir artış gösterdiğini rapor etmişlerdir. Bu peptidler, Cd^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} 'nin *E. coli*'de biyoakümülyasyonunu gerçekleştirmişlerdir. CP'nin yüzeyde gösterdiği gelişme ortamında *E. coli*'nin Cd^{+2} bağlama yeteneğinin 4 kat artış gösterdiğini bulmuşlardır. HP peptidlerinin Zn akümülyasyonunda bir artışa yol açmadığını tespit etmişlerdir.

Seki ve ark., (1998), sucul ortamlardan toksik ağır metallerin uzaklaştırılması için mor, sülfürsüz bakteri *Rhodobacter sphaeroides* ve hidrojen bakterisi *Alcaligenes eutrophus* H16'in biyosorpsiyonunu çalışmışlardır. *R. sphaeroides* ve *A. eutrophus* H16 buharla steril edilerek inaktif hale getirmişler ve Cd^{+2} ve Pb^{+2} iyonlarının biyosorpsiyon karakteristiğini çalışmışlardır. Metal bağlanma bilgilerinin tanımlanmasında, Plette ve ark.'nın önerdiği metal bağlama modelinin basitleştirilmiş versiyonunu kullanmışlardır. Tüm bakteri hücreleri yapılarına iki değerlikli metal iyonlarının biyosorpsiyonu iki farklı asidik bölge olan karboksilik ve fosfotik tipi bölgelerin tekli bağlanmasından dolayı olduğunu tespit etmişlerdir. *A. eutrophus*'un metal bağlanma bölgesinin *R. sphaeroides*'den 2,4 kat daha fazla olduğunu tespit etmişlerdir.

Sağ ve Kutsal (1995), ağır metal uzaklaştırılması için optimum koşulları belirlemek amacıyla *Zoogloea ramigera* bakterisi üzerinde adsorpsiyon pH'sı ve sıcaklığının etkilerini çalışmışlardır. Pb^{+2} , Cu^{+2} ve Ni^{+2} iyonları için optimum başlangıç pH: 4,0-4,5 iken, Fe^{+2} iyonları için pH 2,0'de daha yüksek biyosorpsiyon kapasitesi gösterdiğini bulmuşlardır. Biyokütlenin başlangıç biosorpsiyon hızları ve adsorpsiyon kapasiteleri Pb^{+2} ve Fe^{+2} iyonları için 25-45 °C aralığında sıcaklığın artmasıyla artarken, Ni^{+2} ve Cu^{+2} iyonları için maksimum biosorpsiyon hızlarının 25 °C'de olduğunu tespit etmişlerdir.

Mullen ve ark., (1989), Ag^{+1} , Cd^{+2} , Cu^{+2} ve La^{+3} iyonlarının sudan uzaklaştırılması için batch denge metodu kullanılarak dört bakterinin biyosorpsiyon yeteneğini denemişler. 0,001-1 mM konsantrasyon aralığında Cd ve Cu sorpsiyonunu

Freundlich izotermeleriyle tanımlamışlardır. Hem Cd hem de Cu için 1 mM konsantrasyonda *P. aeruginosa* ve *B. cereus*'un metal uzaklaştırılması için sırasıyla en fazla ve en az etkili olduğunu tespit etmişlerdir. Freundlich K sabitinin *E. coli*'de Cd'nin ve *B. subtilis*'de ise Cu'nun uzaklaştırılmasında en etkili olduğunu göstermişlerdir. Cd⁺², Cu⁺² ve La⁺³ iyonları 1 mM'lık çözeltilerden sırasıyla % 12, 29 ve 27'lik verimle uzaklaştırılırken, Ag⁺¹ iyonlarının bakteri sorpsiyonuyla 1 mM'lık çözeltilerden % 89'luk verimle uzaklaştırıldığını bulmuşlardır. Elektron mikroskobu çalışmalarında, La⁺³ iyonlarının hücre yüzeyine iğne şeklinde kristalin halinde çökelek oluşturarak biriktiğini göstermişlerdir. Ag⁺¹ iyonları hücre yüzeyinde ve nadiren de stoplazmada ayrı kolloidal kümeler halinde çöktüğünü tespit etmişlerdir.

Iyer ve ark., (2005), Güney Hindistan sahillerinde izole edilen deniz bakterisi *Enterobacter cloacae* tarafından üretilen ekzopolisakkaritin ağır metal bağlama özelliklerini çalışmışlardır. Ekzopolisakkarit 100 mg/l'lik ağır metal konsantrasyonunda Cd için % 65 Cu için % 20 ve Co için % 8'lik mükemmel bir bağlama özelliği gösterdiklerini tespit etmişlerdir. Bununla birlikte Hg ile bağlanmadığını da bulmuşlardır.

Loaec ve ark., (1997), *Alteromonas macleodii* subs. *fijiensis*'den elde edilen EPS (Ekzopolisakkarit) tarafından sulu çözeltilerde tekli ve ikili karışımlarda Pb, Cd ve Zn'nin biyosorpsiyonunu tespit etmişlerdir.

Huang ve ark., (2003), MerP proteinlerinin Hg⁺²'yi bağlamak üzere iki sistein grubu içeren oldukça korunmuş bölgelere sahip olduğunu ve MerP proteininin bu iki sisteini bitişik olarak bulunduran Gram pozitif bakteri *Bacillus cereus* (RC607)'un mer operonundan köken aldığını belirtmişlerdir. Buna karşın Gram negatif bakteri *Pseudomonas* sp-K-62 ise bu sistemleri birbirinden ayrı bulundurduğunu ifade etmişlerdir. *E.coli* BL21'de MerP genleri klonlandığını ve ifade edildiğini belirtmişlerdir. Meydana gelen rekombinant soyların Hg⁺² direncinde 6 ila 8 kat artış ve Hg⁺² adsorpsiyon kapasitesinde % 10'luk bir artış gösterdiğini tespit etmişlerdir. Gram pozitif MerP taşıyan soylarda ifade edilen MerP'nin sırasıyla Cu⁺², Cd⁺² ve Pb⁺² için adsorpsiyon kapasitesinde % 42, 84 ve 33 oranında artırdığını bulmuşlardır. MerP

içermeyen hücrelerle Gram negatif MerP taşıyan soyları kıyasladıklarında Cu^{+2} , Cd^{+2} ve Pb^{+2} adsorpsiyonunda sırasıyla % 47, 55 ve 12 oranında artış gösterdiğini bulmuşlardır. *Bacillus* MerP'ten köken almış peptidler için bağlama kapasitesi Cu, Cd ve Pb için sırasıyla 0,72, 0,45 ve 0,36 mol/mol peptit olarak bulmuşlardır. *Pseudomonas* MerP metal bağlama motifi içeren peptid için bağlama kapasitesi Cu, Cd ve Pb için sırasıyla 0,51, 0,45 ve 0,31 mol/mol peptit olarak tespit etmişlerdir. Bu sonuçla birbirine yapışık sisteini ihtiva eden MerP'lerin metal bağlamada ayrı sistein taşıyıcılara oranla daha etkili olduğunu göstermişlerdir.

Doğru ve ark., (2007), yeni bir biyosorbent olarak iz metal belirlemede Amberlit XAD-4 üzerine *Bacillus subtilis* hücrelerini immobilize etmişlerdir. pH, adsorbent miktarı, elüentin tipi ve hacmi, solüsyonun akış hızı ve metal iyonlarının tutunumu üzerine metallerin bozucu etkisi gibi çeşitli parametreleri çalışmışlardır. Cu ve Cd'nin kantitatif sorpsiyon pH değerlerini 7,0 ve 7,5 olarak bulmuşlardır. Bu bağlı olan metalleri 1 M HCl ile desorbe etmişler ve geri kazanımı % 96-100 olarak tespit etmişlerdir. Reçinenin sorpsiyon kapasitesini Cu ve Cd için sırasıyla; 0,0297 ve 0,035 mmol g^{-1} olarak bulmuşlardır. Aynı zamanda bazı elektrolitlerin tolerans limitlerini de çalışmışlardır. Bunlara ilaveten, doğal nehir ve kuyu su sistemlerindeki sulu solüsyonlarda Cu ve Cd'un seviyelerini belirlemişlerdir.

Wuyep ve ark., (2007), atık sulardan 2 örnek toplamışlar ve atık sulardaki metallerin ilk konsantrasyonları ve diğer elementleri X-ray floresans spektroskopi kullanarak belirlemişlerdir. Kalsiyum aljinat üzerine immobilize edilmiş beyaz çürükçül fungus *Polyporus squamosus*'u 500 ml'lik atık su örneklerine uygulamışlardır. Biyosorpsiyon araştırmalarını hareketli biyoreaktörde gerçekleştirmişlerdir. Elde edilen sonuçlar, boş kalsiyum aljinat yataklarına oranla immobilize edilmiş canlı misel *P. squamosus* tarafından uzaklaştırılan ağır metallerin miktarında önemli bir artış gözlemlemişlerdir. Immobilize edilmiş *Polyporus squamosus*'un biyosorpsiyonu üzerine pH'nın önemli bir rol oynadığını ve pH: 4,0-6,0 aralığında metal iyonlarının maksimum adsorpsiyona sahip olduğunu bulmuşlardır.

Baytak ve Türker, (2005), Amberlit XAD-4 üzerine immobilize edilmiş *Agrobacterium tumefaciens*'i Fe^{+3} , Co^{+2} , Mn^{+2} ve Cr^{+3} metallerinin prekonsantrasyonunu çalışmışlardır. pH, adsorbent miktarı, elüent tipi ve hacmi, örnek solüsyonun akış hızı ve örnek solüsyonun hacmi ve metal iyonlarının kazanımı üzerinde matriksin bozucu etkisini araştırmışlardır. Yukarıda bahsedilen metal iyonlarının sorpsiyonu için optimum pH'ları sırasıyla 6,0, 8,0, 8,0 ve 6,0 olarak tespit etmişlerdir. Co^{+2} ve Mn^{+2} için adsorbent yükleme kapasitesini sırayla 29 ve 22 $\mu\text{mol/g}$ olarak bulmuşlardır. Optimum koşullar altında Fe^{+3} , Co^{+2} , Mn^{+2} ve Cr^{+3} , un geri kazanımlarını % 95'lik güven seviyesinde sırasıyla % 99 \pm 3, % 99 \pm 2, % 98 \pm 3 ve % 98 \pm 3 olarak bulmuşlardır.

Özdemir ve ark., (2005), aktif çamur bakterisi *Chryseomonas luteola* TEM05 tarafından üretilen ekstrasellüler polisakkarit, kalsiyum aljinat ve sodyum aljinat üzerinden ve immobilize edilmiş *C. luteola* TEM35'de sulu çözeltilerden bakır ve nikel adsorpsiyonunu çalışmışlardır. Sonra çoklu metal iyonları içeren bu iyonlarla birlikte hazırlanmış ve bu karışımların kısmi yarışmalı adsorpsiyonlarını araştırmışlardır. Jel yatağındaki metal adsorpsiyonu için 25 °C'de ve pH 6,0'da çalışmışlardır. Langmuir izotermelerinde maksimum adsorpsiyon kapasitesi kalsiyum aljinat, kalsiyum aljinat + EPS, kalsiyum aljinat + *C. luteola* TEM35 ve kalsiyum aljinat + EPS + *C. luteola* TEM35 bakır için sırasıyla 1,505, 1,989, 1,976 ve 1,937 mmol/g kuru hücre ve Ni için sırasıyla 0,996, 1,224, 1,078 ve 1,219 olduğunu tespit etmişlerdir.

Baytak ve Türker, (2004), alaşımlardaki Mn'nin belirlenmesi için Amberlite XAD-4 üzerine immobilize edilmiş *Saccharomyces carlsbergensis*'i prekonsantrasyon yöntemi kullanarak tespit etmeye çalışmışlardır. Optimum pH, adsorbent miktarı, mikroorganizma miktarı ve örnek solüsyonun elüent tipi ve hacmi manganın geri kazanımı için tespit etmişlerdir. Bu sonuçları, mikroorganizma kullanılmayarak elde edilen sonuçlarla karşılaştırmışlardır. Optimum şartlar altında mikroorganizma ile yapılan çalışmada geri kazanımı % 98 \pm 3 ve mikroorganizmasız % 68 \pm 2 olarak bulmuşlardır. Mangan için bu değerlerin güven seviyesini % 95 olarak belirtmişlerdir. Manganın belirlenme limitini mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız prekonsantrasyon çalışmasında sırasıyla 60 ng/ml ve 197 ng/ml olarak tespit etmişlerdir.

Lebeau ve ark., (2002), izole edilen bakteri ZAN-044 (% 99,5 oranında *Bacillus simplex*'e benzerlik gösteren), actinomycetes R27 ve bir basidiomycetes olan *Fomitopsis pinicola*'nın tarımsal toprağa inokülasyonundan sonra Cd biyosorpsiyonunu test etmişlerdir. Aljinat yataklarında tutuklanmış ya da serbest değişik mikrobiyal hücrelerde Cd biyosorpsiyonunu karşılaştırılmış ve değişik Cd konsantrasyonları (1 ve 10 mg/L) ile değişik pH (5,0, 6,0 ve 7,0) aralıklarında sıvı ortamda ve toprak ekstraktında inkübe etmişlerdir. Ortamdaki Cd konsantrasyonunun mikroorganizmalar tarafından biyosorbe edilen Cd yüzdesi üzerine önemli bir etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir. Fakat kültür ortamının (tutuklu ya da serbest) herhangi bir yan etki oluşturmadığını görmüşlerdir. *F. pinicola* ve actinomycetes R-27'de ortamdaki kadmiyum konsantrasyonu artırıldığında dahi serbest hücreler tarafından biyosorbe edilen kadmiyum yüzdesinin azalmadığını bulmuşlardır. Diğer taraftan düşük bir Cd konsantrasyonunda (1mg/l) bakteri ZAN-044 tarafından biyosorbe edilen Cd'un yüzdesi pH: 7,0'de maksimum olduğunu tespit etmişlerdir. Buna karşın bu bakterinin 10 mg/L de gelişmediğini ve Cd akümüülasyonu gerçekleştirmediğini göstermişlerdir.

Yalçınkaya ve ark., (2002), kalsiyum aljinat yatakları üzerine tutuklanan *Pleurotus sapidus* bazidiosporlarının sulu çözeltilerden Cd^{+2} ve Hg^{+2} iyonlarının uzaklaştırılmasını çalışmışlardır. Cd^{+2} ve Hg^{+2} iyonlarının aljinat yatakları üzerine biyosorpsiyonunu hem immobilize hem de ısı ile inaktive edilmiş *P. sapidus* miselleri 30-500 mg/l konsantrasyon aralıklarındaki sulu çözeltilerde çalışmışlardır. Cd^{+2} ve Hg^{+2} iyonlarının konsantrasyonlarının artmasıyla beraber biyosorpsiyon oranının da arttığını tespit etmişlerdir. *P. sapidus*'un immobilize edilmiş hem canlı hem de ısı ile inaktive edilmiş miselleri için maksimum biyosorpsiyon kapasitelerini Cd^{+2} için; 96,57mg/g (0,86mmol/g) ve 127,12 mg/g (1,13mmol/g) ve Hg^{+2} için ise 207,89 mg/g (1,04mmol/g) ve 287,43 mg/g (1,43mmol/g) olarak bulmuşlardır. Biyosorpsiyon dengesinin yaklaşık 1 saatte kurulduğunu ve Langmiur izotermi ile iyi bir şekilde tanımlandığını belirtmişlerdir. 15-45 °C arasındaki sıcaklık değişimlerinin biyosorpsiyon kapasitesini değiştirmedeğini tespit etmişlerdir. Aynı zamanda pH'nın etkisini çalışmışlar ve hem canlı hem de ısı ile inaktive edilmiş immobilize fungal miseller tarafından maksimum biyosorpsiyon aralığının pH: 3,0-7,0 aralığında olduğunu bulmuşlardır.

Bağ ve ark., (1999), *Aspergillus niger*'in sepiolit üzerine tutuklanmasıyla gerçekleştirilen prekonsantrasyondan sonra alevli atomik adsorpsiyon spektrofotometresi ile jeolojik örneklerdeki Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd'un belirlenmesi için bir metod geliştirmişlerdir. Prekonsantrasyon çalışmaları için, kolon adsorpsiyon metodunu kullanmışlardır. pH, adsorbent miktarı, elusyon solüsyonu, akış hızı ve bozucu iyonların analitidleri geri kazanımı üzerine etkilerini incelemişlerdir. *A. niger*'in sepiolit üzerine tutuklanması ile gerçekleştirilen Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd'un geri kazanımlarını % 95'lik güven seviyesiyle sırasıyla % 98,03 ±0,2, % 98±0,5, % 98± 0,4, % 96,4 ±0,8, % 94±0,6 olarak bulmuşlardır. Adsorbentin kapasitesini Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd için sırasıyla 0,093, 0,078, 0,067, 0,085 ve 0,102 mmol/g olarak bulmuşlardır.

3. MATERYAL METOD

3.1. Biyolojik Materyal

Çalışmamızda Nicolaus B. ve arkadaşları tarafından izole edilen ve tanımlanan termofilik karakterlerdeki *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*, *Bacillus thermantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* bakterileri kullanılmıştır.

3.2. Kimyasal Maddeler

CdCl₂, CoCl₂.6H₂O, ve MnCl₂.4H₂O Sigma'dan, Lizozim, XAD-4, Tris-HCl, CuCl₂.2H₂O, NiCl₂.6H₂O ve ZnSO₄ Merck'den, H₂SO₄, HNO₃ ve HCl Riedel-de Hael'den, temin edilmiştir.

3.3. Kullanılan Besiyerleri

3.3.1. Besiyeri Maddeleri

Yeast Extract, NaCl, Nişasta ve Agar Merck'den, Pepton Difco'dan temin edilmiştir.

3.3.2. Sıvı Besiyeri

Bakteriler için uygun sıvı besiyeri bileşenleri aşağıdaki gibidir;

Geobacillus toebii sub. sp. *decanicus* için; Yeast extract 4g/l, Pepton 8g/l, ve NaCl 2g/l tartılıp çeşme suyu ile 1 litreye tamamlanıp, 0.1M H₂SO₄ ile pH: 7'ye ayarlanıp 250 ml' lik erlenmayerlere 100 ml besiyeri eklenip otoklavlandı (Opt. Sıcaklık 67 °C, Opt. pH:7,0).

Bacillus thermantarcticus için; Yeast extract 6g/l ve NaCl 3g/l tartılıp çeşme suyu ile 1 litreye tamamlanıp, 0.1M H₂SO₄ ile pH: 6,0'a ayarlanıp 250 ml' lik erlenmayerlere 100 ml besiyeri eklenip otoklavlandı (Opt. Sıcaklık 60 °C, Opt. pH: 6,0).

Anoxybacillus amylolyticus için; Yeast extract 6g/l, NaCl 6g/l ve nişasta 2g/l tartılıp çeşme suyu ile 1 litreye tamamlanıp, 0.1M H₂SO₄ ile pH: 5,6'ya ayarlanıp 250 ml' lik erlenmayerlere 100 ml besiyeri eklenip otoklavlandı (Opt. Sıcaklık 61 °C, Opt. pH: 5,6).

Geobacillus thermoleovorans sub. sp. stromboliensis için; Yeast extract 6g/l, NaCl 4g/l tartılıp çeşme suyu ile 1 litreye tamamlanıp 0.1M H₂SO₄ ile pH: 6,0'a ayarlanıp 250 ml' lik erlenmayerlere 100 ml besiyeri eklenip otoklavlandı (Opt. Sıcaklık 70 °C, Opt. pH: 6,0).

3.3.3. Katı Besiyeri

Yukarıdaki şekilde hazırlanan sıvı besiyerlerine 18g/l agar eklenerek hazırlandı.

3.4. Bakteri Üretimi

Geobacillus toebii sub. sp. decanicus için; yukarıdaki şekilde hazırlanan sıvı besiyerlerine gecelik kültürden 10 ml eklenerek çalkalayıcıda 120 rpm'de 67 °C 'de 24 saat inkübe edildi.

Bacillus thermantarcticus için; Yukarıdaki şekilde hazırlanan sıvı besiyerlerine gecelik kültürden 10 ml eklenerek çalkalayıcıda 120 rpm'de 60 °C 'de 24 saat inkübe edildi.

Anoxybacillus amylolyticus için; yukarıdaki şekilde hazırlanan sıvı besiyerlerine gecelik kültürden 10 ml eklenerek çalkalayıcıda 120 rpm'de 61 °C 'de 24 saat inkübe edildi.

Geobacillus thermoleovorans sub. sp. *stromboliensis* için; yukarıdaki şekilde hazırlanan sıvı besiyerlerine gecelik kültürden 10 ml eklenerek çalkalayıcıda 120 rpm'de 70 °C 'de 24 saat inkübe edildi.

3.5. Kullanılan Aletler

İnkübatör (Sanyo)

Steril Kabin (Telstar AV-100)

Spektrofotometre (Varian Cary-50)

Çalkalayıcı (Julaba SW12)

Soğutmalı Santrifüj (Sigma Christ 2K15)

Vorteks (Stuart)

Magnetik Karıştırıcı (Stuart)

Etüv (Heraus)

Dijital Göstergeli Hassas Terazî (GEG, AVEY, 0,0001)

Otoklav (HICLAVE HV-50L)

pH metre (Metler Toledo MP220)

Sterilizatör (Heraus)

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (ATI-UNICAM 929)

ICP-OES (OPTİMA 2100 DV)

Kül Fırını (Heraus)

Ultrasantrifüj (Beckman L8-70M)

3.6. Metal Çözeltilerin Hazırlanması

$CdCl_2$ (100 mM), $CoCl_2.6H_2O$ (500 mM), $CuCl_2.2H_2O$ (500 mM), $MnCl_2.4H_2O$ (1000 mM) , $NiCl_2.6H_2O$ (500 mM) ve $ZnSO_4$ (1000 mM) stok çözeltileri metal ağırlıkları baz alınarak 121 °C 15' steril edilerek hazırlandı.

$CdCl_2$, $CoCl_2.6H_2O$, $CuCl_2.2H_2O$, $MnCl_2.4H_2O$, $NiCl_2.6H_2O$ ve $ZnSO_4$ (1000 mg/L) stok çözeltileri metal ağırlıkları baz alınarak 121 °C 15' steril edilerek hazırlandı (Hassen ve ark. 1998).

3.7. Kullanılan Metal Konsantrasyonları

Minimum inhibisyon konsantrasyonlarının (MIC) belirlenmesinde kullanılan tüm metal konsantrasyonları (mM) aşağıdaki gibidir:

CdCl₂ için; 0,0082, 0,0164, 0,041, 0,0492, 0,0656, 0,082, 0,0984, 0,114, 0,123, 0,131, 0,164, 0,205, 0,246, 0,287, 0,328, 0,369, 0,41, 0,451, 0,492, 0,574, 0,656, 0,738, 0,82, 1,23, 1,31, 1,64, 3,28

CoCl₂.6H₂O için; 0,102, 0,123, 0,164, 0,205, 0,246, 0,287, 0,307, 0,328, 0,41, 0,512, 0,615, 0,717, 0,82, 0,922, 1,025, 1,127, 1,23, 1,435, 1,64, 1,845, 2,05, 2,46, 2,87, 3,075, 3,28, 3,69, 4,1, 5,125, 6,15, 10,25, 20,5, 24,6, 28,7, 30,75, 32,8, 36,9, 41, 82, 102,5

CuCl₂.2H₂O için; 0,068, 1,37, 0,164, 0,191, 0,205, 2,192, 0,274, 0,342, 0,411, 0,479, 0,548, 0,616, 0,685, 0,753, 0,822, 0,959, 1,096, 1,233, 1,37, 1,644, 1,918, 2,055, 2,192, 2,466, 2,74, 3,425, 4,11, 5,48

MnCl₂.4H₂O için; 0,367, 0,458, 0,55, 0,642, 0,734, 0,825, 0,917, 1,101, 1,468, 1,835, 2,202, 2,569, 2,752, 2,936, 3,303, 3,67, 4,587, 5,505, 7,34, 9,175, 11,01, 14,68, 18,35, 22,02, 25,69, 29,36, 33,03, 36,7, 40,37, 44,04, 73,4, 146,8, 183,5, 293,6, 367

NiCl₂.6H₂O için; 0,020, 0,040, 0,101, 0,162, 0,20, 0,244, 0,284, 0,305, 0,325, 0,407, 0,508, 0,610, 0,712, 0,814, 0,915, 1,01, 1,119, 1,221, 1,424, 1,628, 1,831, 2, 2,44, 2,84, 3,05, 3,25, 3,66, 4,07, 5,08, 10,1, 12,21, 16,28, 20, 24,42, 28,4, 30,5, 32,5, 36,6, 40,7, 81,4, 101, 162,8, 200

ZnSO₄ için; 0,05, 0,08, 0,1, 0,12, 0,14, 0,15, 0,16, 0,2, 0,25, 0,3, 0,4, 0,45, 0,5, 0,55, 0,6, 0,7, 0,8, 0,9, 1, 1,2, 1,4, 1,5, 1,6, 2, 2,5, 3, 4, 5, 10, 12, 14, 15, 16, 18, 20, 40

3.8. Seçilen Bakterilerin Minimum İnhibe Edici Konsantrasyonlarının (MIC) Belirlenmesi

Üremeyi inhibe etmek için gerekli en düşük metal konsantrasyonu minimal inhibisyon konsantrasyonu olarak tanımlanır (Hassen ve ark, 1998; Yılmaz, 2002; Spain A., 2003; Teitzel ve ark., 2003; Hu ve ark., 2007). Metallerin bakteriler üzerine olan minimum inhibisyon konsantrasyonlarını (MIC) tespit etmek için farklı konsantrasyonlarda metal içeren katı besiyerleri hazırlandı. Sonra uygun sıvı besiyerinde üretilmiş bakterilerden değişik konsantrasyonlarda metal içeren katı besiyerlerine ekim yapıldı. 72 saat inkübasyon süresinden sonra, bakterilerin koloni oluşturmadığı en düşük metal konsantrasyonu o metalin minimum inhibe edici konsantrasyonu (MIC) olarak tespit edildi (Hu ve ark., 2007).

3.9. Metal (Cd, Co, Cu, Mn, Zn ve Ni) Konsantrasyonunun Bakteri Üremesi Üzerine Olan Etkisinin İncelenmesi

Bakteriler sıvı besiyerinde belli bir ön inkübasyondan sonra farklı konsantrasyonlarda metal tuzlarını içeren besiyerine aktarılarak uygun inkübasyon koşullarında 24. saate kadar üretildiler. 0. saatten 24. saate kadar her 4 saatte bir örnek alınıp 540 nm’de absorbans değerleri ölçüldü. Zamana karşı OD değerleri kullanılarak büyüme eğrileri oluşturuldu.

3.10. Metal Akümülyasyonun Tespit Edilmesi

Bakteriler farklı metal (Cd, Co, Cu, Mn, Zn ve Ni) konsantrasyonu içeren sıvı besiyerinde uygun sıcaklık koşullarında inkübe edildi. Belli zaman dilimlerinde (4. saatten 24. saate kadar her bir 4 saatte bir) kültürden 10 ml örnek alındı. Sonra 15 dakika 7,000 rpm’de santrifüj edildi. Üst sıvı alındı ve Atomik Absorbsiyon Spektrofotometre’sinde (AAS) ölçüm alındı. Pelet tartılarak yaş ağırlık tespit edildi. Pelet % 0,9’luk NaCl ile 1 kez yıkandı. 7,000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Pelet 80 °C de bir gece kurumaya bırakıldı. Kuru ağırlık tespit edildi. Daha sonra 600 °C de 4 saat kül fırınında kavrulduktan sonra 0,5 ml konsantre nitrik asit (14,4M) ilave edilerek

30 dakika bekletildi. Sonra hacim saf su ile 5 ml'ye tamamlandı ve yaklaşık 1 saat ısıtılarak metalle çözünürleştirildi. Son hacim saf su ile 3 ml'ye tamamlanarak ICP-OES'de ölçüm alındı (Yılmaz, 2002).

3.11. Kurutulmuş Ölü Bakteri Hücreleri Tarafından Metal Biyosorpsiyonunun Tespit Edilmesi

3.11.1. Kurutulmuş Ölü Bakteri Hücrelerinin Biyosorpsiyon İçin Hazırlanması

Bakteri hücreleri (*Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*, *Bacillus thermantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub. sp. *stromboliensis*) uygun besiyerinde ve belli bir inkübasyon süresinde üretildi (24 saat). Daha sonra 7,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra pelet % 0,9 luk NaCl çözeltisi (121 °C'de 15 dakika otoklavlanmış) ile yıkandı ve tekrar santrifüj edildi. Bu işlem iki kez tekrar edildi. Daha sonra pelet 80 °C'de bir gece bekletilip kurutulduktan sonra havanda toz haline getirildi. Toz haline getirilmiş bakteri hücreleri 121 °C'de 20 dakika otoklavlandı. Bu işlemden sonra toz haline getirilmiş bakteri hücreleri (bakteri hücrelerinin çoğalıp çoğalmadığını tayin etmek amacıyla) sıvı besiyerlerine ekim yapıldı. Üremenin olmadığı (bakterilerin tamamen öldüğü) durum pozitif sonuç olarak kabul edildi.

3.11.2. Metal Biyosorpsiyon Çalışmaları

Biyosorpsiyon çalışmaları 20 ml metal çözeltisi (50 mg/l) içeren 100 ml'lik erlenmayerlerde 60 dakika süresince 120 rpm'de çalkalamalı su banyosunda yürütüldü (Biyokütle miktarı 50 mg). İnkübasyon sonrası hücreler 10,000 rpm' de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttaki kalan metal miktarı Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülerek biyosorpsiyon seviyesi belirlendi (Al-Garni, 2005; Şahin ve Öztürk, 2005). Bakteri hücrelerinin metal biyosorpsiyonu (mg metal/g kuru hücre) aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$Q = V (C_i - C_f) / 1000 M$$

Q = Spesifik Metal Alımı (mg metal/g biyosorbent)

V = Metal Çözeltisinin Hacmi (ml)

C_i = Çözeltideki Başlangıç Metal Konsantrasyonu (mg/l)

C_f = Çözeltideki Son Metal Konsantrasyonu (mg/l)

M = Biyokütle Miktarı (g)

(Parvathi ve ark., 2007; Wuyep ve ark., 2007 ; Al-Garni, 2005; Yan ve Viraraghavan., 2000; Ginisty ve ark., 1998).

3.11.2.1. pH'nın Bakteri Hücrelerinin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Farklı pH değerlerinin kurutulmuş ölü bakteri hücrelerinin metal biyosorpsiyonu üzerine etkisinin incelenmesi için, 0.1M HNO₃ ve 0.1M NaOH ile farklı pH'lara (2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0, 8,0 ve 10) ayarlanmış 20 ml metal çözeltisi (50 mg/l) içeren 100 ml'lik erlenmayerlere 50 mg biyokütle eklenerek her bakterinin optimum üreme sıcaklığında 60 dakika 120 rpm'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücreler 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttaki kalan metal miktarı Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülerek biyosorpsiyon seviyesi belirlendi. Bakteri hücreleri tarafından metal biyosorpsiyonu (mg metal/g kuru hücre) 3.11.2.'de belirtilen formüle göre hesaplandı.

3.11.2.2. Sıcaklığın Bakteri Hücrelerinin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Kurutulmuş ölü bakteri hücreleri tarafından metal biyosorpsiyonu üzerine farklı sıcaklık değerlerinin etkisinin incelenmesi için, 20 ml metal çözeltisi (50 mg/l) içeren 100 ml'lik erlenmayerlere 50 mg biyokütle eklendi ve daha önce belirlenen optimum pH'da farklı sıcaklıklarda (30, 40, 50, 60, 70 ve 80 °C) 60 dakika 120 rpm'de çalkalamalı su banyosunda çalışma yürütüldü. İnkübasyon sonrası hücreler 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttaki kalan metal miktarı Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülerek biyosorpsiyon seviyesi belirlendi.

Bakteri hücreleri tarafından metal biyosorpsiyonu (mg metal / g kuru hücre) 3.11.2.'de belirtilen formüle göre hesaplandı.

3.11.2.3. Başlangıç Metal Konsantrasyonunun Bakteri Hücrelerinin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Başlangıç metal konsantrasyonlarının (10, 25, 50, 100, 200 ve 300 mg/l) kurutulmuş ölü bakteri hücrelerinin biyosorpsiyonu üzerine etkisinin incelenmesi için, 20 ml metal çözeltisi içeren 100 ml'lik erlenmayerlere 50 mg biyokütle eklendi ve daha önce belirlenen optimum pH ve sıcaklıklarda 60 dakika 120 rpm'de çalkalamalı su banyosunda çalışma yürütüldü. İnkübasyon sonrası hücreler 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttaki kalan metal miktarı Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülerek biyosorpsiyon seviyesi belirlendi. Bakteri hücreleri tarafından metal biyosorpsiyonu (mg metal/g kuru hücre) 3.11.2.'de belirtilen formüle göre hesaplandı.

3.11.2.4. Biyokütle Miktarının Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Kurutulmuş ölü biyokütle miktarının metal biyosorpsiyonuna etkisinin incelenmesi için, 20 ml metal çözeltisi (50 mg/l) ve 5, 10, 25, 50, 100 ve 200 mg kurutulmuş ölü biyokütle 100 ml'lik erlenmayerlerde daha önce belirlenen optimum pH ve sıcaklıklarda 60 dakika 120 rpm'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücreler 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttaki kalan metal miktarı Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülerek biyosorpsiyon seviyesi belirlendi. Bakteri hücreleri tarafından metal biyosorpsiyonu (mg metal/g kuru hücre) 3.11.2.'de belirtilen formüle göre hesaplandı.

3.11.2.5. İnkübasyon Süresinin Bakteri Hücrelerinin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

İnkübasyon sürelerinin kurutulmuş ölü bakteri hücrelerinin metal biyosorpsiyonu üzerine etkisinin incelenmesi için kurutulmuş hücreler, 20 ml metal çözeltisi (50 mg/l) içeren 100 ml'lik erlenmayerlerde daha önce belirlenen optimum pH ve sıcaklıklarda 15, 30, 45, 60, 90, 120 ve 240 dakika 120 rpm'de çalkalamalı su banyosunda inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücreler 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttaki kalan metal miktarı Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülerek biyosorpsiyon seviyesi belirlendi. Bakteri hücreleri tarafından metal biyosorpsiyonu (mg metal / g kuru hücre) 3.11.2.'de belirtilen formüle göre hesaplandı.

3.11.2.6. Farklı Bakteri Türlerinin Çalkalamalı ve Statik Koşullarda Kadmiyum Metal Biyosorpsiyonunun Karşılaştırılması

Çalkalamalı ve statik koşullarda farklı bakteri türlerinin Cd^{+2} biyosorpsiyonlarının karşılaştırılması için, 20 ml metal çözeltisi 50 mg/l içeren 100 ml'lik erlenmayerlerde daha önce belirlenen optimum pH ve sıcaklıklarda statik ve 120 rpm'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası hücreler 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttaki kalan metal miktarı Atomik Absorbsiyon Spektrofotometresi (AAS) ile ölçülerek biyosorpsiyon seviyesi belirlendi. Bakteri hücreleri tarafından metal biyosorpsiyonu (mg metal/g kuru hücre) 3.11.2.'de belirtilen formüle göre hesaplandı.

3.12. Amberlit XAD-4 Üzerine Tutuklanmış (İmmobilize Edilmiş) Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Ağır Metal Biyosorpsiyon Çalışmaları

3.12.1. Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in XAD-4 Üzerine Tutuklanması (İmmobilize Edilmesi)

Ticari olarak kullanılabilir Amberlit XAD-4 sırasıyla metanol, su, 1 mol l⁻¹ HCl ve su ile yıkanarak organik ve inorganik kontaminantların uzaklaştırılmasıyla hazırlandı. Daha sonra 150 mg kurutulmuş ve ölü toz haline getirilmiş *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* 1 g Amberlit XAD-4 ile karıştırıldı. Karışıma 5 ml saf su eklendi ve magnetik karıştırıcıda karışım homojen bir pasta haline gelinceye kadar karıştırıldı. Daha sonra karışım 105 °C'de 1 saat etüvde kurutuldu. Bu karışım ve ısıtma işlemi, *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ve Amberlit XAD-4 arasındaki etkileşimin maksimum olması için birkaç kez tekrarlandı (**Doğru ve ark. 2007**).

3.12.1.1. Kolonun Hazırlanması

Hücre tutuklanmış 0,25 mg Amberlit XAD-4 üzerine 3 ml saf su eklenerek bir karıştırıcıda homojen bir hale gelinceye kadar karıştırıldı. Kolon, kullanmadan önce sırasıyla 1 M HCl ve saf su ile iyice yıkandı. Daha sonra karışım 1,0 cm x 10,0 cm boyutundaki polietilen kolona yavaş yavaş eklendi (**Doğru ve ark. 2007**).

3.12.2. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nin Prekonsantrasyonu

250 ml, 50 ppb Cd (pH:4,0), 20 ppb Cu (pH:4,0), 20 ppb Ni (pH:5,0), 50 ppb Mn (pH:5,0) ve 20 ppb Zn (pH:4,0) metal çözeltileri, 1ml dak⁻¹ akış hızında tek tek kolondan geçirildikten sonra 15 ml 1M HCl ile yıkandı ve 1'er ml'lik hacimlerle tüplere

toplandı. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile ölçüm yapılarak prekonsantrasyon faktörleri belirlendi (Doğru ve ark. 2007).

3.12.3. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Doğal Atık Sularda Bulunan Bazı Metallerin (Cd, Cu ve Ni) Prekonsantrasyonu

Maden Bakır İşletmesinin, atık sularının akıtıldığı Maden Çay'ından alınan su numunesinde Cd, Cu ve Ni elementlerinin seviyesinin belirlenmesi için prekonsantrasyon işleminden önce Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'sinde ölçüm yapıldı ve bu elementlerin seviyeleri tespit edilemedi. Bu yüzden, 500 ml'lik su numunesi 1ml dak⁻¹ akış hızında kolondan geçirilerek prekonsantre edildikten sonra 15 ml 1M HCl ile yıkandı ve 1'er ml'lik hacimlerle tüplere toplandıktan sonra su örneğinde bulunan Cd, Cu ve Ni elementlerinin seviyeleri Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile ölçüm yapılarak belirlendi.

3.12.4. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Cd Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

5, 10 ve 20 mg/l'lik konsantrasyonlarda hazırlanan 100'er ml'lik Cd çözeltileri (pH:4,0) 1ml dak⁻¹ akış hızında tek tek kolondan geçirildikten sonra 15 ml 1M HCl ile yıkandı ve 1'er ml'lik hacimlerle tüplere toplandı. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'sinde ölçüm yapılarak Cd tutma kapasitesi Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile ölçüm yapılarak belirlendi (Doğru ve ark. 2007).

3.13. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı ve Kurutulmuş Ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu

3.13.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu

Geobacillus toebii sub.sp. *decanicus* 250 ml'lik erlanmayerlerde 100 ml uygun besiyerinde (1 kontrol ve 1,83, 4,575 ve 7,32 mg/l Cd konsantrasyonunda) 120 rpm'de 12 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası hücreler 10.000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Hücreler iki kez saf su ile yıkanarak tekrar santrifüj edildi. Santrifüjden sonra hücreler tartılarak yaş ağırlıkları tespit edildi. Daha sonra hücreler 10 ml (50 mM Tris-HCl pH: 8,0, 100 mM NaCl ve 1 mg/ml lizozim) lizozim tamponunda 1,5 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra hücreler 1'er dakikalık aralıklarla 10 dakika sonikatörde sonifiye edildi. Lizat 4 °C'de 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı 4 °C'de 30,000 rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Pelet tartılarak yaş ağırlık tespit edildi. Daha sonra pelet üzerine 1 ml derişik HNO₃ ilave edilerek 30 dakika bekletildi. Sonra 15 dakika ısıtılarak asit uçuruldu. Son hacim saf su ile 1 ml'ye tamamlanarak ICP-OES'de ölçüm alındı (Hsieh ve ark., 2007).

3.13.2. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Kurutulmuş Ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu

Yukarıda 3.11.1.'deki gibi hazırlanan 0.1g kurutulmuş ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* 0.1M HCl ile pH: 6'ya ayarlanmış 100 ml'lik metal çözeltisi 250 ml'lik erlanmayerler içerisinde 1 kontrol ve 1,83, 4,575 ve 7,32 mg/l Cd konsantrasyonunda 120 rpm'de 12 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra hücreler 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Hücreler iki kez saf su ile yıkanarak tekrar santrifüj edildi. Daha sonra hücreler 10 ml (50 mM Tris-HCl pH: 8.0, 100 mM NaCl ve 1 mg/ml lizozim) lizozim tamponunda 1.5 saat inkübasyona bırakıldı. İnkübasyondan sonra hücreler 1'er dakikalık aralıklarla 10 dakika sonikatörde sonifiye edildi. Lizat 4 °C'de 10,000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı 4 °C'de 30,000

rpm'de 30 dakika santrifüj edildi. Pelet tartılarak yaş ağırlık tespit edildi. Daha sonra pelet üzerine 1 ml derişik HNO₃ ilave edilerek 30 dakika bekletildi. Sonra 15 dakika ısıtılarak asit uçuruldu. Son hacim saf su ile 1 ml'ye tamamlanarak ICP-OES'de ölçüm alındı (**Hsieh ve ark., 2007**).

4. BULGULAR

4.1. Seçilen Bakteri Varyetelerinin Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC) Değerleri

Tablo 4.1’de 72 saatlik inkübasyon süresi sonrasında elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) deneyi sonuçları görülmektedir.

Tablo 4.1. Bakteri Varyeteleri için Minimum İnhibisyon Konsantrasyonları (MIC) Değerleri

Bakteriler	Metaller (mM)					
	Cd	Co	Cu	Mn	Ni	Zn
<i>B. thermoantarcticus</i>	0,41	4,1	2,05	22,02	2,035	1,575
<i>A. amylolyticus</i>	0,574	1,435	0,616	22,02	0,915	0,945
<i>G. thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i>	0,049	0,512	1,37	11,01	2,035	0,21
<i>G. toebii</i> sub.sp. <i>decanicus</i>	0,278	1,025	1,918	11,01	3,633	1,47

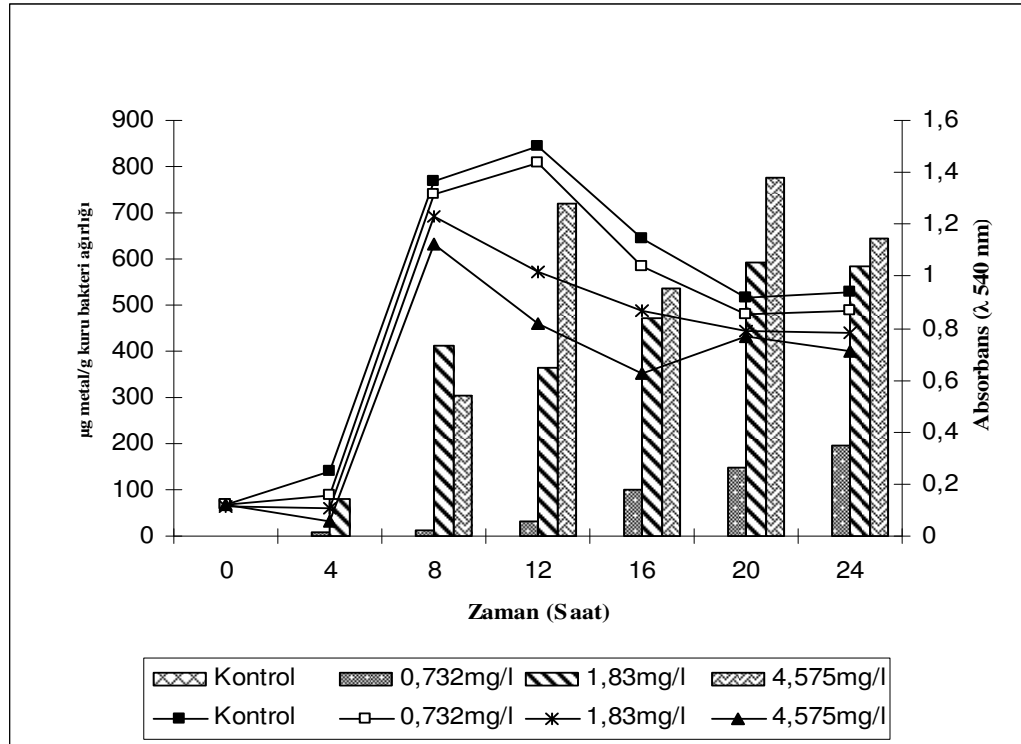
Bu sonuçlara göre; *Bacillus thermoantarcticus* için Cd, Co, Cu, Mn, Ni ve Zn MIC değerleri sırasıyla; 0,41, 4,1, 2,05, 22,02, 2,035 ve 1,575 mM, *Anoxybacillus amylolyticus* için 0,574, 1,435, 0,616, 22,02, 0,915 ve 0,945 mM, *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* için 0,049, 0,512, 1,37, 11,01, 2,035 ve 0,21 mM ve *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* için 0,278, 1,025, 1,918, 11,01, 3,633 ve 1,47 mM olarak bulundu.

4.2. Farklı Metal (Cd, Cu, Co, Mn, Ni ve Zn) Konsantrasyonlarının Seçilen Bakteri Varyetelerinde Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

4.2.1. Farklı Metal (Cd, Cu, Co, Mn) Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

4.2.1.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.1.1. farklı Cd konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



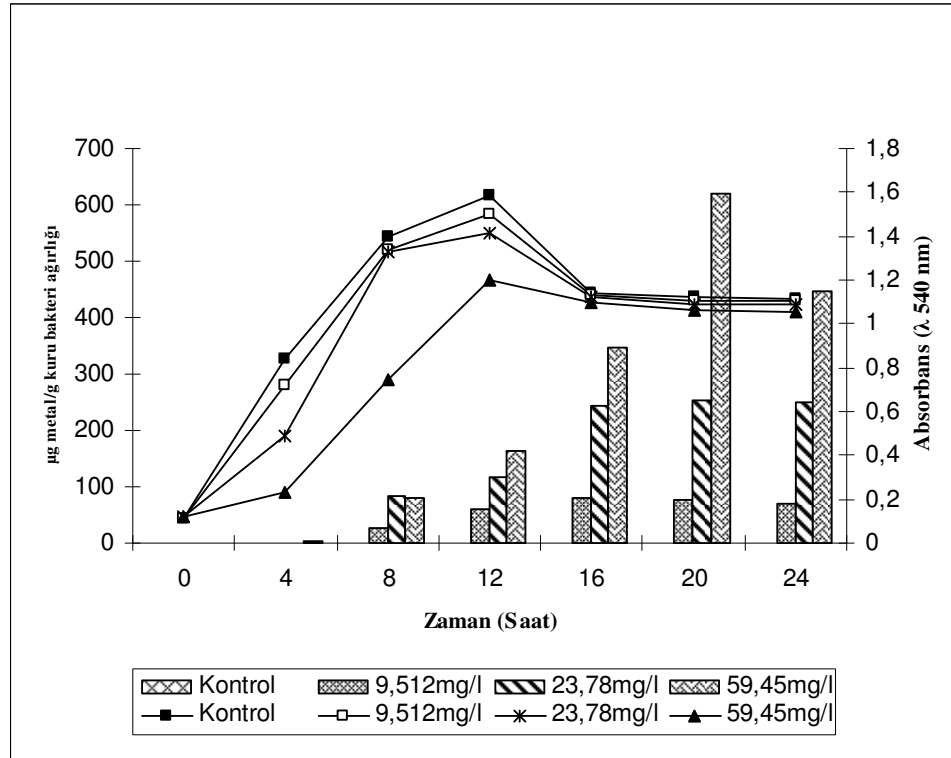
Şekil 4.2.1.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; 0,732 mg/l Cd varlığında üremenin pek fazla etkilenmediği tespit edildi. 1,83 mg/l Cd varlığında ilk 8 saatte üremenin etkilenmediği, 8. saatten

sonra üremenin kısmen etkilendiği ve 20. saate kadar üremede azalma eğilimi saptandı. 4,575 mg/l Cd varlığında 8. saate kadar üremenin kısmen etkilendiği, 8.-16. saatler arasında üremenin oldukça etkilendiği, 20.-24. saatlerde üremenin yine kısmen etkilendiği ve 12. saatte kontrole kıyasla üremede % 46 oranında bir inhibisyon gözlemlendi. Farklı Cd konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un biyoakümüülasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 0,732 mg/l Cd varlığında biyoakümüülasyonun 4.-24. saate kadar bir artış gösterdiği tespit edildi. 1,83 mg/l Cd varlığında biyoakümüülasyonun 4. saatten 20. saate kadar artış eğiliminde olduğu ve 20.-24. saatler arasında bir farklılığın olmadığı tespit edildi. 4,575 mg/l Cd varlığında farklı zamanlarda farklı artış oranlarına sahip olduğu tespit edildi. Cd için en yüksek biyoakümüülasyon kapasitesi, 4,575 mg/l Cd varlığında 774,8 µg metal/kuru bakteri ağırlığı (20. saat) olarak tespit edildi.

4.2.1.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.1.2. Farklı Co konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



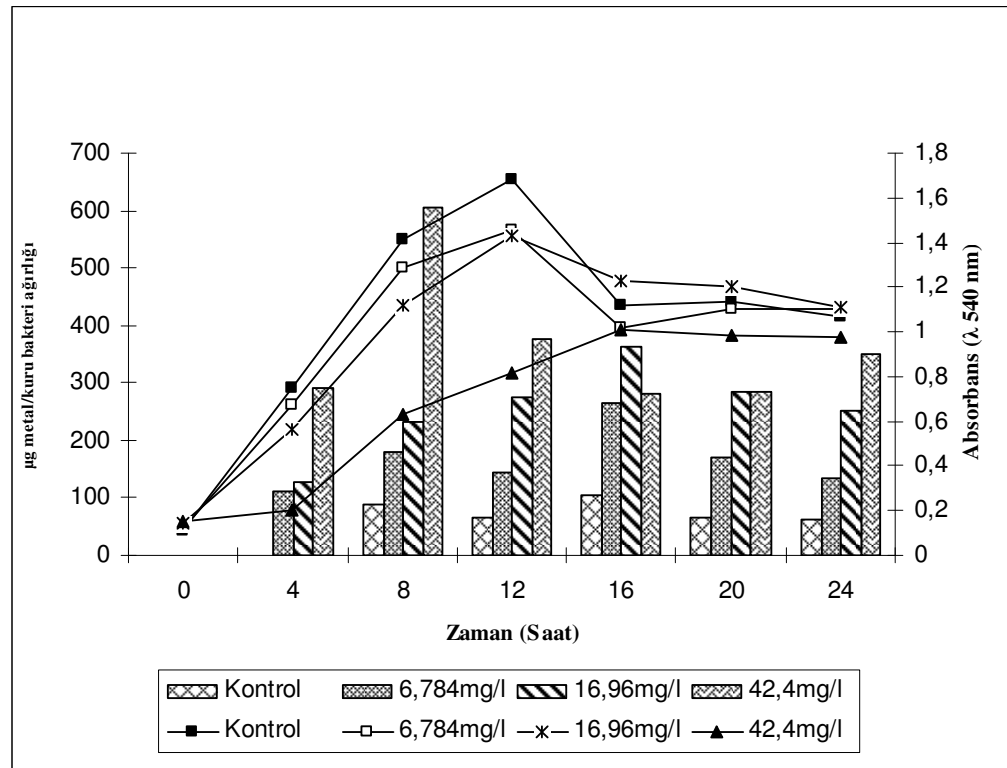
Şekil 4.2.1.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının *Bacillus thermantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu verilere göre; 9,512 mg/l Co varlığında üremenin önemli derecede etkilenmediği, ancak 23,78 ve 59,45 mg/l Co varlığında üremenin ilk saatlerden itibaren kontrole kıyasla önemli ölçüde etkilendiği, 8. saatte 59,45 mg/l Co varlığında kontrole kıyasla üremede % 46 oranında bir inhibisyonu görüldüğünü ve 16.-24. saatlerde üremenin etkilenmediği saptandı. Farklı Co konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 9,512 ve 23,78 mg/l Co varlığında 4. saatten 16. saate kadar bir artış gösterdiği ve 20.-24. saatlerde biyoakümülyasyon değerinin fazla değişmediği saptandı. 59,45 mg/l Co

varlığında 20. saate kadar bir daha anlamlı bir artış gösterdiği ve en yüksek biyoakümülyasyon değeri 20. saate (620,1 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) olduğu tespit edildi.

4.2.1.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.1.3. farklı Cu konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un üremesi ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



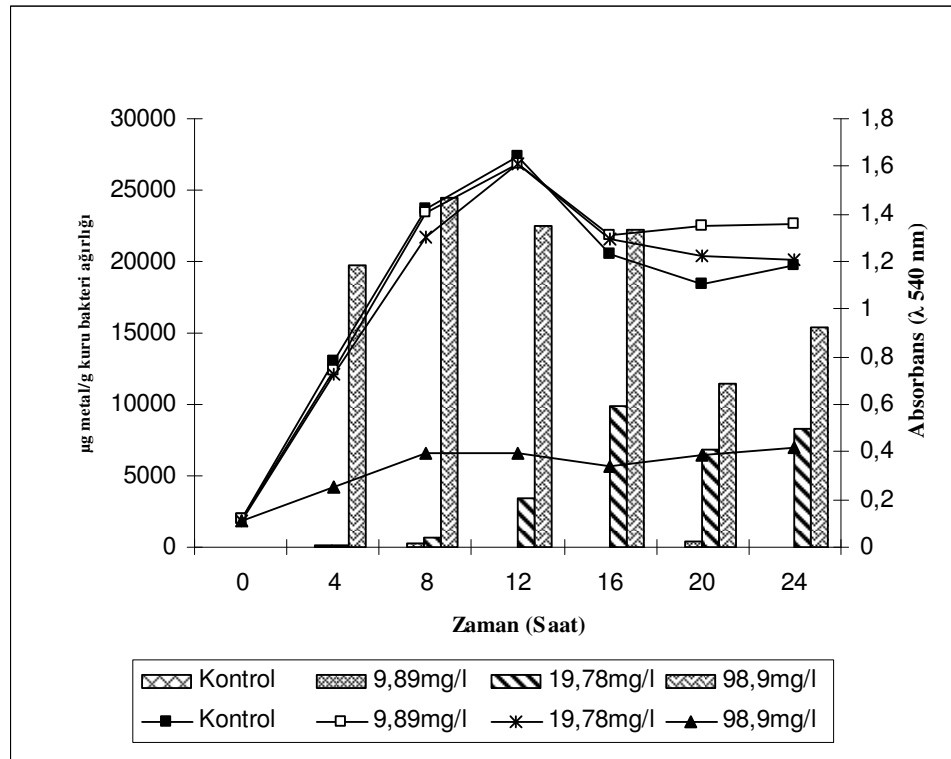
Şekil 4.2.1.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; farklı Cu konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus* üremesi üzerine olan etkisine bakacak olursak; 6,784 ve 16,96 mg/l Cu varlığında üremenin ilk 16 saat kısmen etkilendiği ve 16. saatten itibaren üremenin kontrole benzer bir düzeyde olduğu bulundu. 42,4 mg/l Cu varlığında ise ilk saatlerden itibaren

üremenin oldukça fazla etkilendiği ve 12. saatte üremenin % 52 oranında inhibe olduğunu saptandı. Farklı Cu konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 6,784 ve 16,96 mg/l Cu varlığında 16. saate kadar bir artış eğiliminde olduğu ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 16. saatte olduğu (6,784 ve 16,96 mg/l için sırasıyla; 263,4 ve 363,6 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) ve 42,4 mg/l Cu varlığında en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 8. saatte olduğu (604,05 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) tespit edildi.

4.2.1.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.1.4. farklı Mn konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



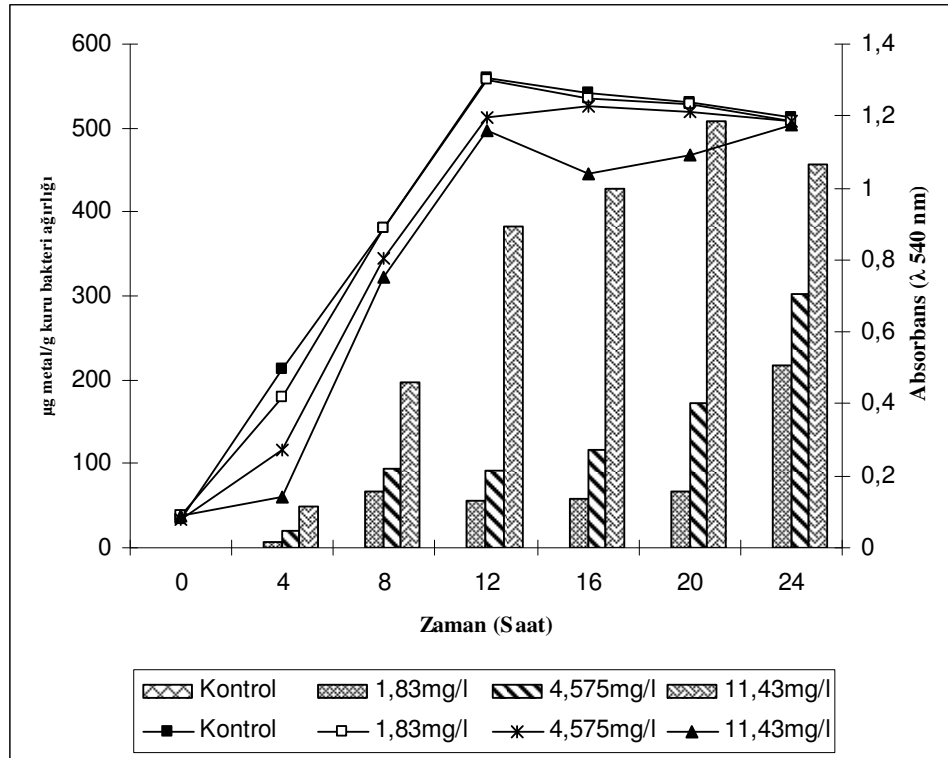
Şekil 4.2.1.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu verilere göre; 9,89 ve 19,78 mg/l Mn varlığında üremenin etkilenmediği ve 16.-24. saatlerde üremenin kontrole kıyasla kısmen arttığı gözlemlendi. 98,9 mg/l Mn varlığında üremenin oldukça fazla etkilendiği ve 12. saatte üremenin % 75 oranında inhibe edildiği saptandı. Farklı Mn konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 9,89 mg/l Mn varlığında akümülyasyon değerinin diğer iki konsantrasyon değerine nazaran düşük olduğu tespit edildi. 19,78 ve 98,9 mg/l Mn varlığında en yüksek biyoakümülyasyon değerinin sırasıyla; 16. (9896,87 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) ve 8. (24503,07 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) saat olduğu bulundu.

4.2.2. Farklı Metal (Cd, Cu, Co, Mn) Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

4.2.2.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.1. farklı Cd konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un üremesi ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



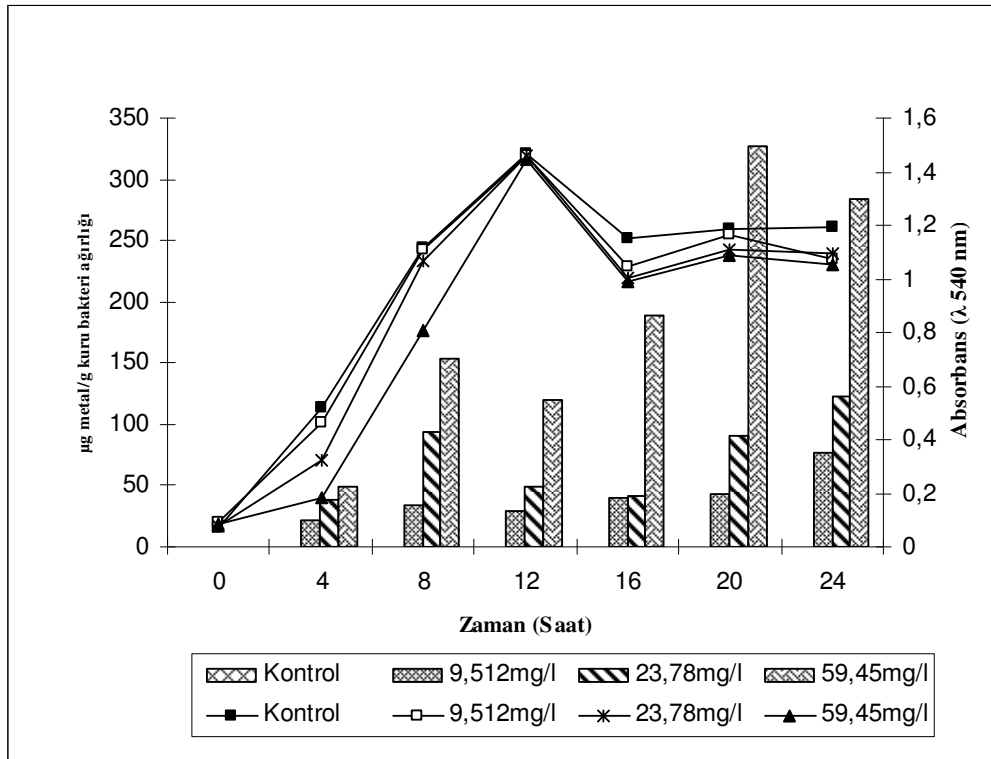
Şekil 4.2.2.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; 1,83 mg/l Cd varlığında üremenin etkilenmediği, 4,575 mg/l Cd varlığında üremenin kısmen etkilendiği tespit edildi. 11,43 mg/l Cd varlığında ise üremenin daha bariz oranlarda inhibisyona uğradığı ve 16. saatte üremenin % 16 oranında inhibe olduğunu tespit ettik. Farklı Cd konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakacak olursak; 1,83

ve 4,575 mg/l Cd varlığında biyoakümülyasyonun 4. saatten 24. saate kadar bir artış eğiliminde olduğu tespit edildi. 11,43 mg/l Cd varlığında ise biyoakümülyasyonun 4.-20. saate kadar bir artış gösterdiği ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 20. saat (507,39 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) olduğu tespit edildi.

4.2.2.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amyolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.2. farklı Co konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amyolyticus*'un üremesi ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



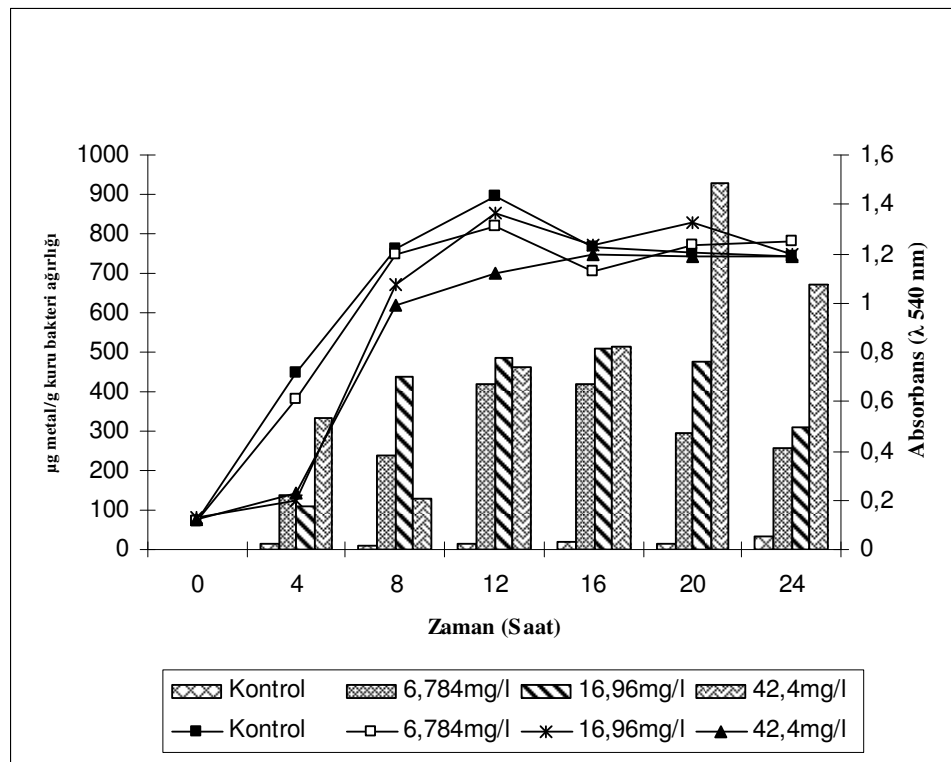
Şekil 4.2.2.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amyolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Genel olarak bakacak olursak; 12. saate kadar 59,45 mg/l'lik Co konsantrasyonundaki kısmi etki hariç üremenin inhibe edilmediği gözlemlendi. Farklı Co konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amyolyticus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine

olan etkisine bakıldığı zaman; 9,512 mg/l Co varlığında biyoakümülyasyonun 4.-24. saate kadar artış eğiliminde olduğu saptandı. 23,78 ve 59,45 mg/l Co varlığında biyoakümülyasyonun tüm saatlerde genelde artış eğiliminde olduğu ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin sırasıyla; 23,78 mg/l Co varlığında 24. (122,65 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) ve 59,45 mg/l Co varlığında 20. (327,3 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) saatlerde olduğu tespit edildi.

4.2.2.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.3. farklı Cu konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.

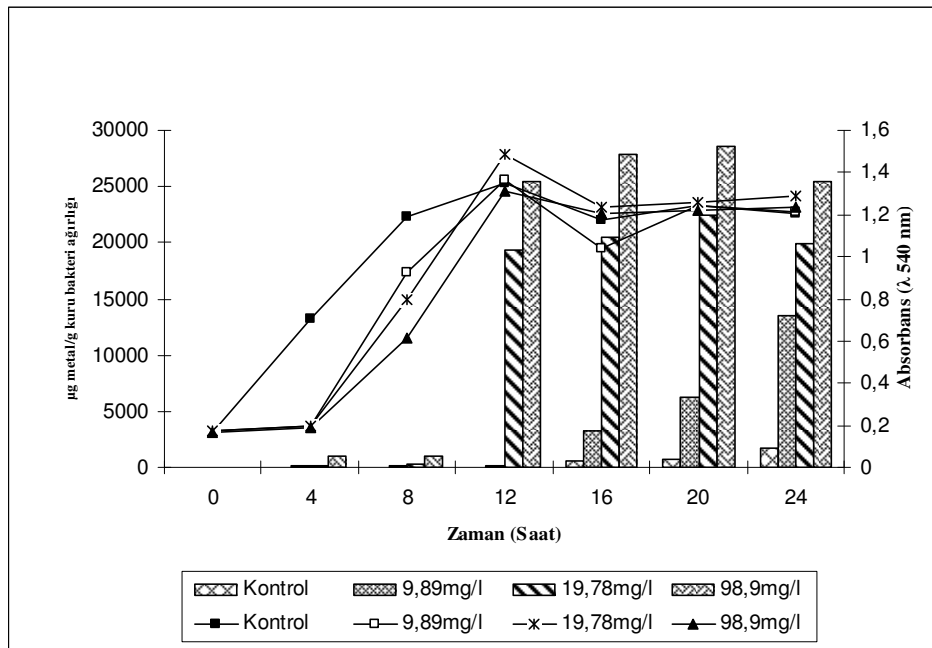


Şekil 4.2.2.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonu göstermektedir).

Bu verilere göre; 6,784 mg/l Cu varlığında üremenin pek etkilenmediği, 16,96 mg/l Cu varlığında üremenin ilk 8. saate kadar oldukça etkilendiği ve 4. saatte üremenin kontrole nazaran % 72 oranında inhibe olduğunu, ancak 12.-24. saatlerde bu metal konsantrasyonunda üremenin kontrole yakın bir değerde olduğu saptandı. 42,4 mg/l Cu varlığında üremenin ilk 12 saat kontrole kıyasla oldukça fazla inhibe edildiği, 16.- 24. saatlerde üremenin kontrole yakın değerde olduğu gözlemlendi. Farklı Cu konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini inceleyecek olursak; 6,784, 16,96 ve 42,4 mg/l Cu varlığında en yüksek biyoakümülyasyon değerinin sırasıyla; 417,73 (16. saat), 509,42 (16. saat) ve 929,68 (20. saat) µg metal/kuru bakteri ağırlığı olduğu tespit edildi.

4.2.2.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.4. farklı Mn konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine göstermektedir.



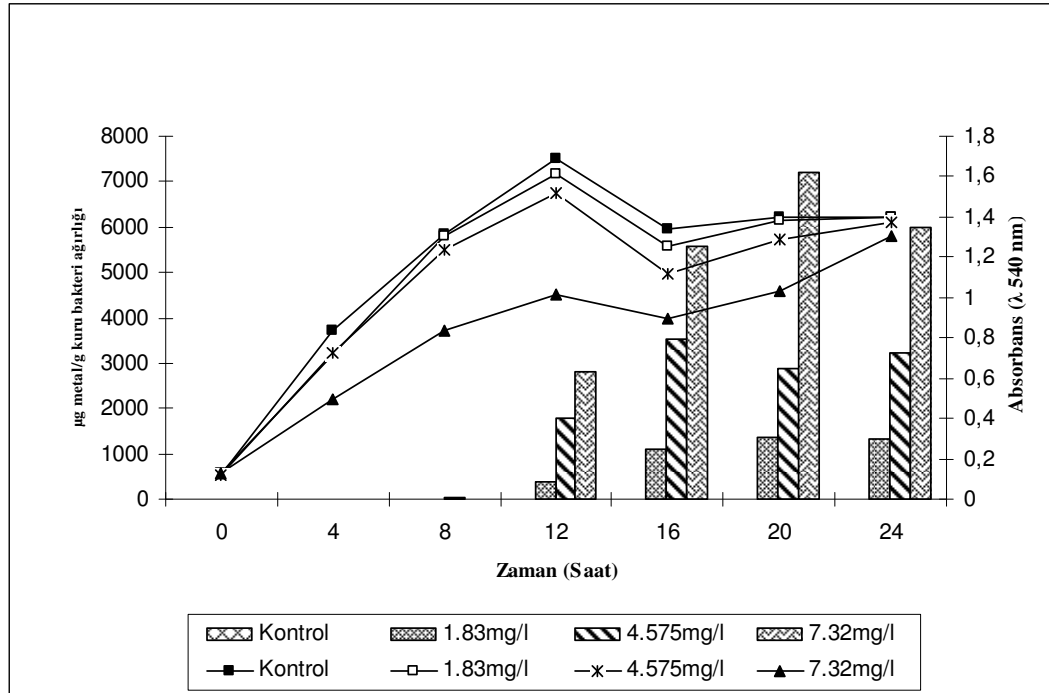
Şekil 4.2.2.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; 9,89, 19,78 ve 98,9 mg/l Mn varlığında üremenin ilk 8 saatte kontrole kıyasla önemli derecede etkilendiği tespit edildi. 12.-24. saatlerde ise pek etkilenmediği ve 19,78 mg/l Mn varlığında üremenin 12.-24. saatlerde kontrole göre çok az arttığı saptandı. Farklı Mn konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; akümülyasyonun ilk 8 saatte tüm Mn konsantrasyonunda çok az olduğu, fakat 12.-20. saatler arasında 19,78 ve 98,9 mg/l Mn varlığında büyük bir oranda artış olduğu saptandı. 8. saatte 19,78 ve 98,9 mg/l Mn varlığında biyoakümülyasyon değeri sırasıyla; 241,16 ve 1045,06 µg metal/kuru bakteri ağırlığı iken bu değerin 20. saatte sırasıyla; 22456,1 ve 28566 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olduğu tespit edildi. 9,89 mg/l Mn varlığında ise akümülyasyonun 12.-24. saatleri arasında artan bir eğilim gösterdiğini ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 13542,47 µg metal/kuru bakteri ağırlığı (24. saat) olduğunu buldu.

4.2.3. Farklı Metal (Cd,Cu,Mn,Ni,Zn) Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

4.2.3.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.1. farklı Cd konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



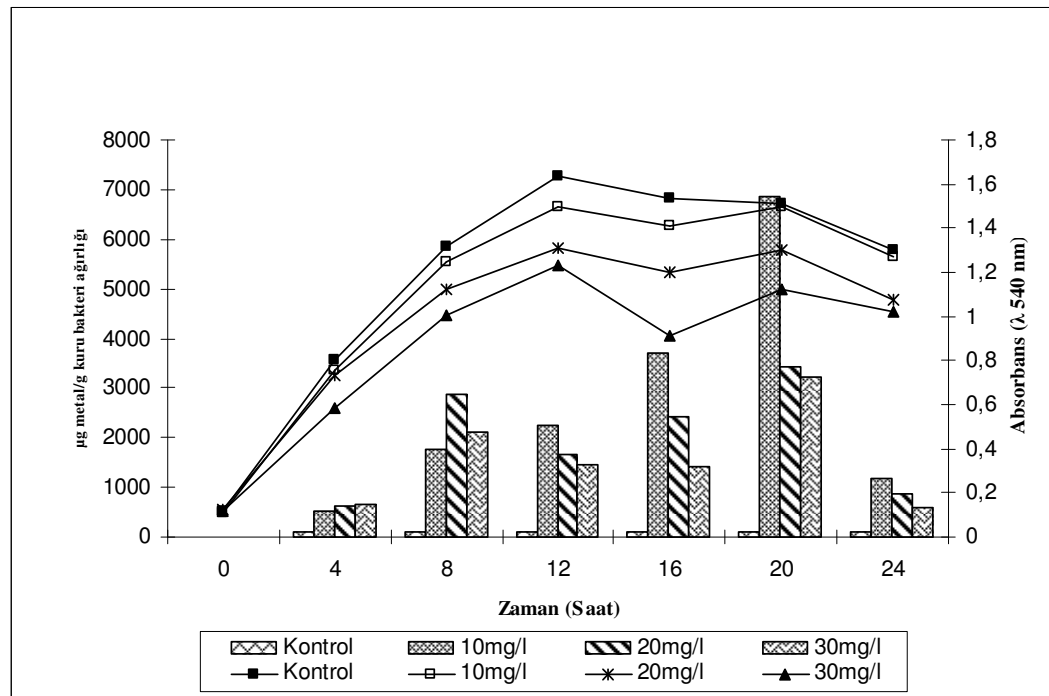
Şekil 4.2.3.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540\text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu verilere göre; 1,83 mg/l Cd varlığında üremenin etkilenmediği tespit edildi. 4,575 mg/l Cd varlığında üremenin ilk 8 saat etkilenmediği, 12.-20. saatlerde kısmen etkilendiği ve 24. saatte etkilenmediği gözlemlendi. 7,32 mg/l Cd varlığında üremenin ilk 20 saat önemli ölçüde etkilendiği, 12. saatte üremenin % 39,8 oranında inhibe olduğunu ve 24. saatte üremenin pek etkilenmediği saptandı. Farklı Cd konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan

etkisine bakıldığı zaman; ilk 8 saatte biyoakümülyasyonun tüm Cd konsantrasyonlarında gerçekleşmediği, 12.-24. saatler arasında 1,83 mg/l Cd varlığında bir artış gösterdiği, 4,575 mg/l Cd varlığında en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 16. saatte elde edildiği (3533 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) ve 7,32 mg/l Cd varlığında ise en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 20. saatte elde edildiği (7196,2 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) tespit edildi.

4.2.3.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.2. farklı Cu konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



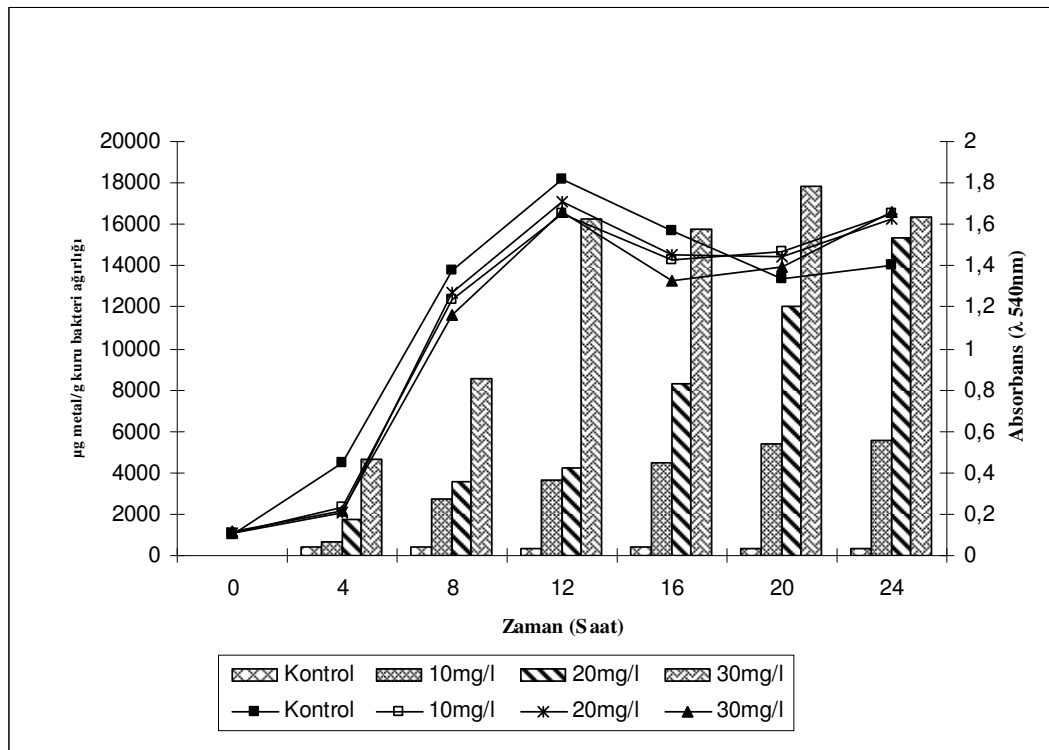
Şekil 4.2.3.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; 10 mg/l Cu varlığında üremenin genelde pek etkilenmediği gözlemlendi. 20 mg/l Cu varlığında üremenin ilk 8 saatten itibaren belirli oranlarda inhibe

edildiği (örneğin 16. saatte % 19,96) saptandı. 30 mg/l Cu varlığında üremenin ilk 8 saatten itibaren yüksek oranlarda etkilendiği (örneğin 16. saatte % 41) saptandı. Farklı Cu konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 10, 20 ve 30 mg/l Cu varlığında en yüksek biyoakümülyasyon değerinin sırasıyla; 6862,1, 3430,4 ve 3237,3 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 20. saatte olduğu tespit edildi.

4.2.3.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.3. farklı Mn konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



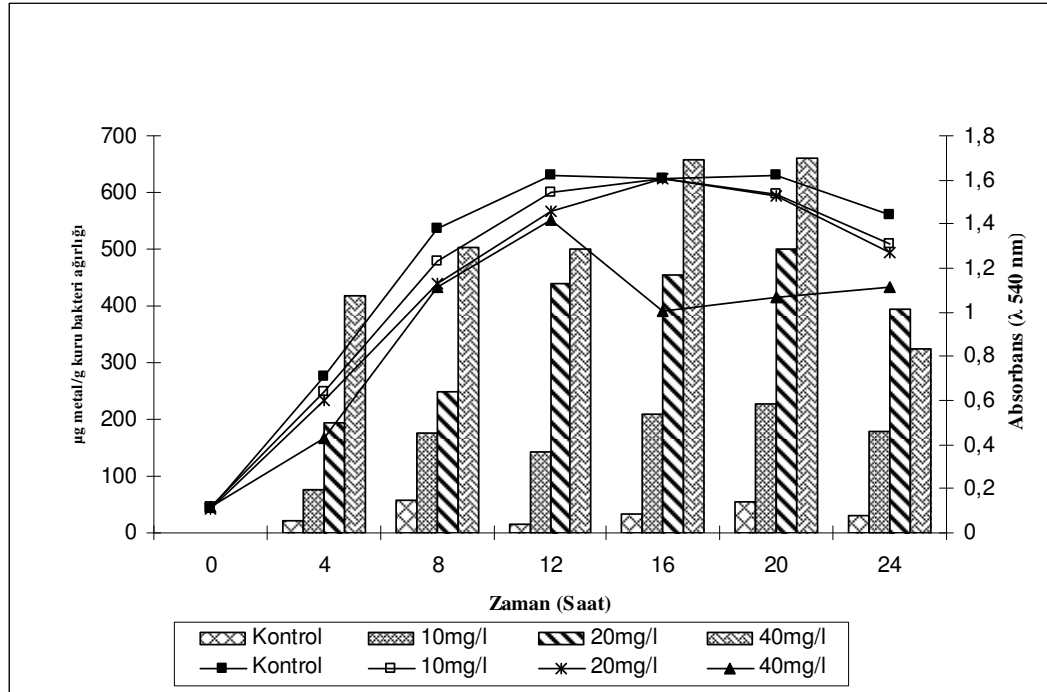
Şekil 4.2.3.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540\text{nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonu göstermektedir).

Bu verilere göre 10, 20 ve 30 mg/l Mn varlığında üremenin ilk 16 saate kadar kısmen inhibe edildiği ve 20.-24. saatlerde kontrole göre üremenin daha fazla olduğu

gözlendi. Farklı Mn konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 10 ve 20 mg/l Mn varlığında 4.-24. saatlerde artış gösterdiği ve 30mg/l Mn varlığında ise en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 17812,5 μ g metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 20. saatte elde edildiği tespit edildi.

4.2.3.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.4 farklı Ni konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



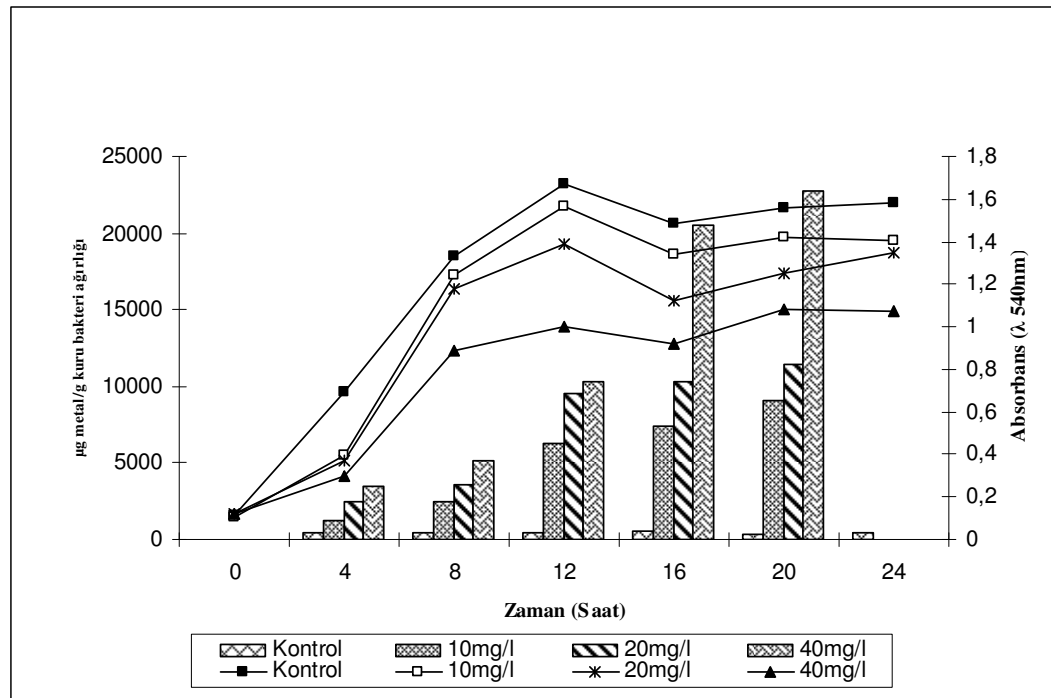
Şekil 4.2.3.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540\text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; 10 ve 20 mg/l Ni varlığında üremenin kısmen etkilendiği saptandı. 40 mg/l Ni varlığında üremenin ilk 12 saat kısmen etkilendiği ve 12.-24.saatlerde oldukça fazla etkilendiği gözlemlendi. Örneğin 16. saatte 40 mg/l Ni varlığında

üremenin % 37 oranında inhibe olduğu tespit edildi. Farklı Ni konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 10 mg/l Ni varlığında biyoakümülyasyonun 4.-20. saatlerde artma eğiliminde olduğu, 20 ve 40 mg/l Ni varlığında 4.-20. saatlerde artış gösterdiği, 10, 20 ve 40 mg/l Ni varlığında en yüksek biyoakümülyasyon değerinin sırasıyla; 226,8 498,7 ve 660,3 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 20. saatte elde edildiği ve her üç Ni konsantrasyonunda 24. saatte biyoakümülyasyonun azaldığı gözlandı.

4.2.3.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.5. farklı Zn konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus* üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



Şekil 4.2.3.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540\text{nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

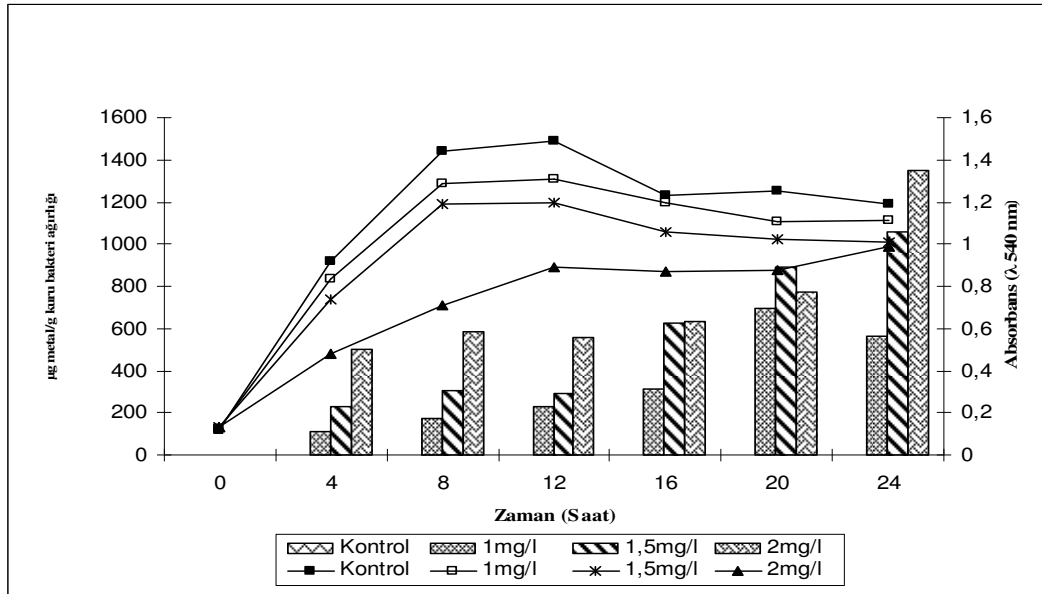
Bu verilere göre; 10 mg/l Zn varlığında üremenin kısmen etkilendiği tespit edildi. 20 mg/l Zn varlığında üremenin önemli oranda inhibe edildiği, 40 mg/l Zn

varlığında ise üremenin oldukça fazla etkilendiği (örneğin 16. saate % 38 oranında üreme inhibisyonu) tespit edildi. Farklı Zn konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakacak olursak; 10, 20 ve 40 mg/l Zn konsantrasyonlarında 4.-24. saatlerde artış gösterdiği ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin sırasıyla; 11684, 13254 ve 36496 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 24. saatte elde edildiği bulundu.

4.2.4. Farklı Metal (Cd, Cu, Mn, Ni ve Zn) Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

4.2.4.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.1. farklı Cd konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.

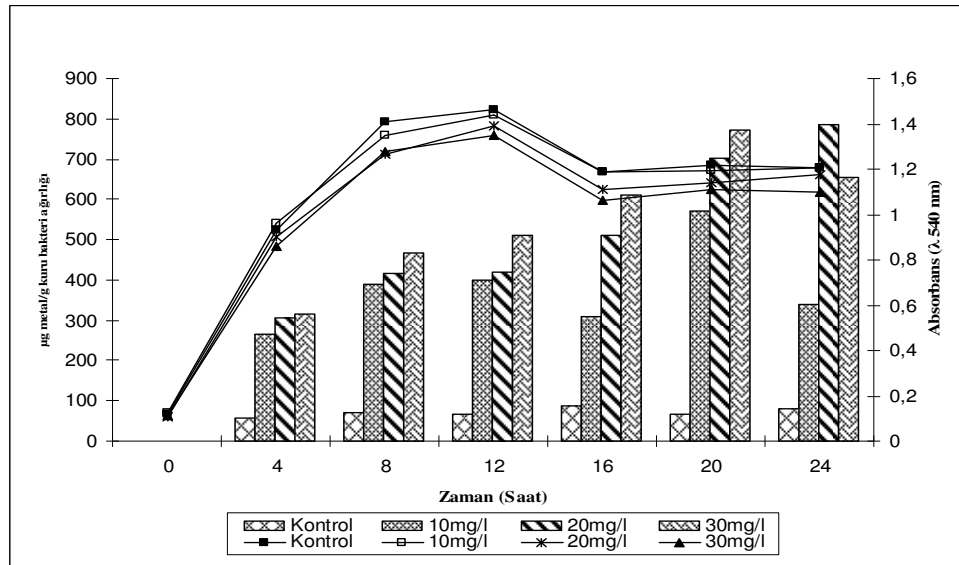


Şekil 4.2.4.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir).

Bu verilere göre; 1 ve 1,5 mg/l Cd varlığında üremenin kısmen etkilendiği tespit edildi. 2 mg/l Cd varlığında üremenin ilk saatlerden itibaren kontrole kıyasla büyük oranlarda inhibe edildiği saptandı. 2 mg/l Cd varlığında üremenin 12. saatte % 40 oranında inhibe edildiği belirlendi. Farklı Cd konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakacak olursak; 1 mg/l Cd varlığında biyoakümülyasyonun 4.-20. saatlerde arttığı ve 24. saatte azaldığını ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 693,8 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 20. saatte elde edildiğini tespit ettik. 1,5 ve 2 mg/l Cd varlığında biyoakümülyasyonun 4.-20. saatlerde artma eğilimi gösterdiği ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 2 mg/l Cd varlığında 24. saatte (1350,7 µg metal/kuru bakteri ağırlığı) olduğu tespit edildi.

4.2.4.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.2. farklı Cu konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.

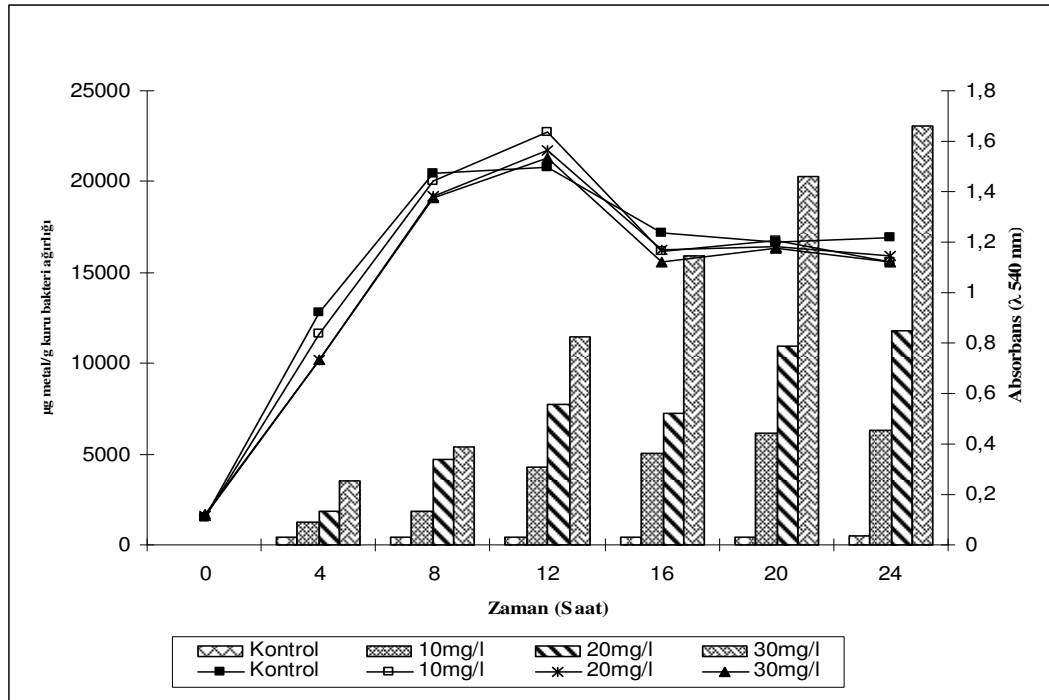


Şekil 4.2.4.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540 \text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir.).

Bu sonuçlara göre; 10, 20 ve 30 mg/l Cu varlığında üremenin pek etkilenmediği tespit edildi. Farklı Cu konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 10 mg/l Cu varlığında en yüksek biyoakümülyasyon değerini 571 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 20. saatte elde edildiğini, 20 mg/l Cu varlığında biyoakümülyasyonun 4.-24. saatlerde artış gösterdiği ve 30 mg/l Cu varlığında biyoakümülyasyonun 4.-20. saatlerde artış gösterdiğini ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 771,8 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 20. saatte elde edildiğini saptandı.

4.2.4.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.3. farklı Mn konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.

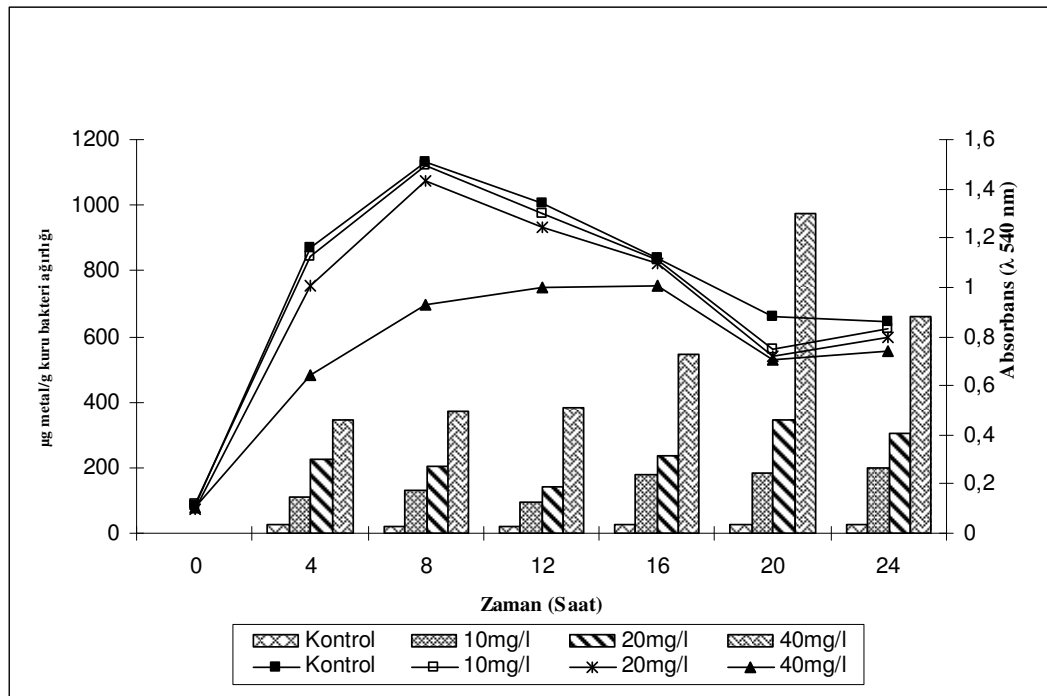


Şekil 4.2.4.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540\text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir.).

Bu verilere göre; 10, 20 ve 30 mg/l Mn varlığında üremenin tüm zaman aralıklarında pek etkilenmediği saptandı. Farklı Mn konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; tüm Mn konsantrasyonlarında biyoakümülyasyonun 4.-24. saatlerde artış gösterdiği ve en yüksek biyoakümülyasyon değerinin 10, 20 ve 30 mg/l Mn varlığında sırasıyla; 6285,7, 11764,7 ve 23076,9 µg metal/kuru bakteri ağırlığı 24. saatte elde edildiği tespit edildi.

4.2.4.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.4. farklı Ni konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisi görülmektedir.

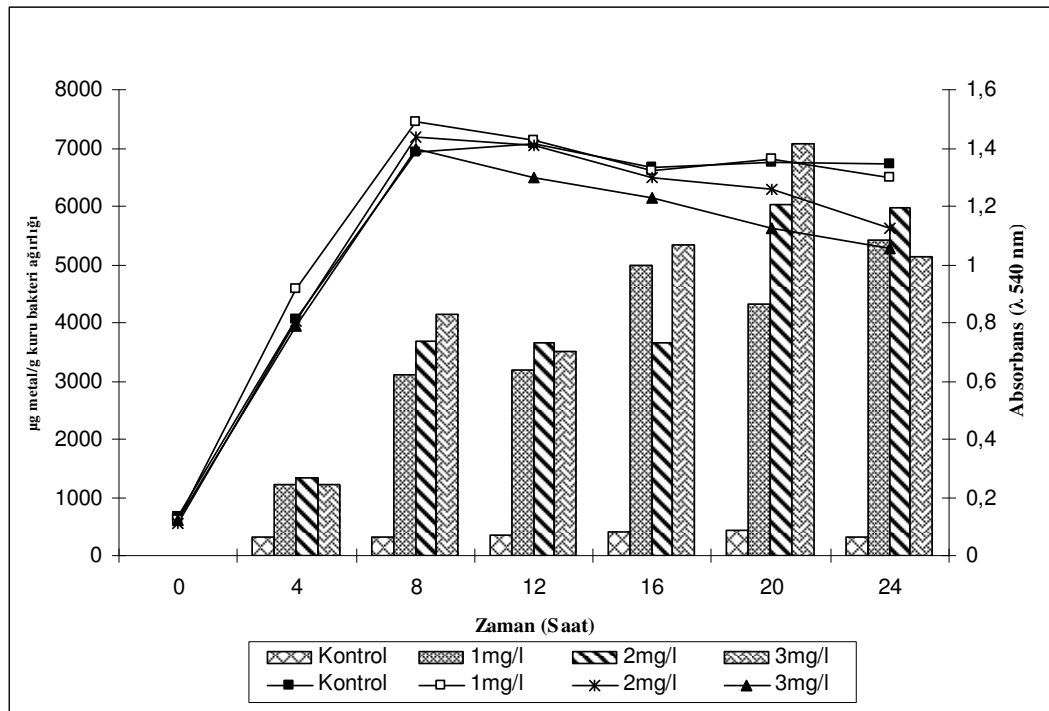


Şekil 4.2.4.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üremesi ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540\text{nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir.).

Bu sonuçlara göre; 10 ve 20 mg/l Ni varlığında üremenin pek etkilenmediği tespit edildi. 40 mg/l Ni varlığında ilk 12 saat üremenin oldukça etkilendiği, 16.-24. saatlerde ise üremenin kısmen etkilendiği bulundu. Farklı Ni konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakacak olursak; 10, 20 ve 40 mg/l Ni varlığında en yüksek biyoakümülyasyonu değerinin sırasıyla; 199,6, 345,9 ve 977,2 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 24., 20. ve 20. saatlerde elde edildiği saptandı.

4.2.4.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.5. farklı Zn konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in üreme ve biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisini göstermektedir.



Şekil 4.2.4.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim bakteri üremesini ($\lambda_{540\text{ nm}}$), sütunlar ise metal akümülyasyonunu göstermektedir.).

Bu verilere göre; 1 mg/l Zn varlığında ilk 8 saat üremenin kontrole göre kısmen artış gösterdiği ve 12.-24. saatlerde üremenin etkilenmediği tespit edildi. 2 mg/l Zn varlığında üremenin ilk 16 saat etkilenmediği, 20.-24. saat ise kısmen etkilendiği tespit edildi. 3 mg/l Zn varlığında üremenin ilk 8 saat etkilenmediği 12.- 24. saatlerde ise üremenin fazla oranda inhibe edildiği tespit edildi (24. saatte % 21,76 oranında). Farklı Zn konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in biyoakümülyasyon yeteneği üzerine olan etkisine bakıldığı zaman; 1, 2 ve 3 mg/l Zn varlığında en yüksek biyoakümülyasyonu değerinin sırasıyla; 5412, 6024 ve 7076 µg metal/kuru bakteri ağırlığı olarak 24., 20. ve 20. saatlerde elde edildiğini saptandı.

4.3. Termofilik Bakterilerde Metal Biyosorpsiyonu

4.3.1. pH'nın *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Farklı pH değerlerinin (2,0-10,0) *Bacillus thermoantarcticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Tablo 4.3.1.'de görülmektedir.

Tablo 4.3.1. pH'nın *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Metal	pH	Başlangıç Metal Konsantrasyonları (mg/l)	Artakalan Metal Konsantrasyonu (mg/l)	Uzaklaştırılan Metal Konsantrasyonu (%)	mg metal/g kuru ağırlık
Cd	2	56 ±0,70	50,5 ±1,41	9,82 ±1,39	2,2 ±0,28
	3	53 ±0,35	16 ±0,70	69,81 ±1,13	14,8 ±0,14
	4	49,5 ±1,41	7,25 ±0,42	85,4 ±0,50	16,9 ±0,39
	5	48 ±0,35	7,02 ±0,38	85,36 ±0,91	16,49 ±0,43
	6	47 ±1,06	7 ±0,21	85,09 ±0,78	16,4 ±0,45
	8	46 ±1,06	7,5 ±0,35	83,68 ±0,96	15,4 ±0,56
	10	45 ±0,07	8,55 ±0,56	81 ±1,14	14,58 ±0,05
Cu	2	45 ±0,35	48,5 ±0,35	0,51 ±0,00	0,1 ±0,00
	3	47,37 ±0,53	29,25 ±0,35	38,25 ±0,05	7,25 ±0,07
	4	46,55 ±0,28	25 ±0,17	46,29 ±0,05	8,62 ±0,04
	5	45,93 ±0,26	25,68 ±0,26	44,07 ±0,89	8,1 ±0,21
	6	45,92 ±0,81	26,25 ±0,35	42,82 ±1,78	7,87 ±0,46
	8	45,25 ±0,00	26,75 ±0,70	40,87 ±1,56	7,4 ±0,28
	10	44,5 ±1,06	27,37 ±0,53	38,45 ±2,65	6,85 ±0,63
Co	2	55,75 ±0,35	51,56 ±0,61	7,51 ±0,52	1,67 ±0,10
	3	51,82 ±0,95	39,87 ±0,53	23,05 ±0,39	8,28 ±4,75
	4	51,06 ±0,26	30,06 ±0,26	41,12 ±0,21	8,4 ±0
	5	50,13 ±0,01	28,25 ±0,35	43,65 ±0,67	8,75 ±0,13
	6	49,93 ±0,08	28,93 ±0,08	42,05 ±0,28	8,4 ±0,07
	8	48,67 ±0,45	29,55 ±0,42	39,28 ±1,44	7,65 ±0,35
	10	46,81 ±0,97	30,62 ±0,88	34,58 ±0,52	6,47 ±0,03
Mn	2	54,62 ±0,53	51,62 ±0,17	5,48 ±1,24	1,2 ±0,28
	3	53,87 ±0,53	35,75 ±0,35	33,64 ±0	7,25 ±0,07
	4	51,25 ±0,70	22,25 ±0,35	56,57 ±1,28	11,6 ±0,42
	5	49,62 ±0,53	20,5 ±0,70	58,69 ±0,98	11,65 ±0,07
	6	48,56 ±0,79	16,75 ±1,06	65,51 ±1,61	12,72 ±0,10
	8	46,37 ±0,53	17,5 ±0,70	62,26 ±1,09	11,55 ±0,07
	10	44,12 ±0,53	20,68 ±0,26	53,10 ±1,16	9,37 ±0,31

Tablo 4.3.1'e; göre optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Co ve Mn için sırasıyla; 4,0, 4,0, 5,0 ve 6,0 olduğu belirlendi. Bu pH değerlerinde Cd, Cu, Co ve Mn için uzaklaştırılan metal yüzde değerleri ve gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı (3.11.2.'deki formülden yararlanarak) sırasıyla; % 85,4 ve 16,9; % 46,29 ve 8,62; % 43,65 ve 8,75; % 65,51 ve 12,72 olarak saptandı.

4.3.2. Sıcaklığın *Bacillus thermantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.2.'de farklı sıcaklık değerlerinin (30-80 °C) *Bacillus thermantarcticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

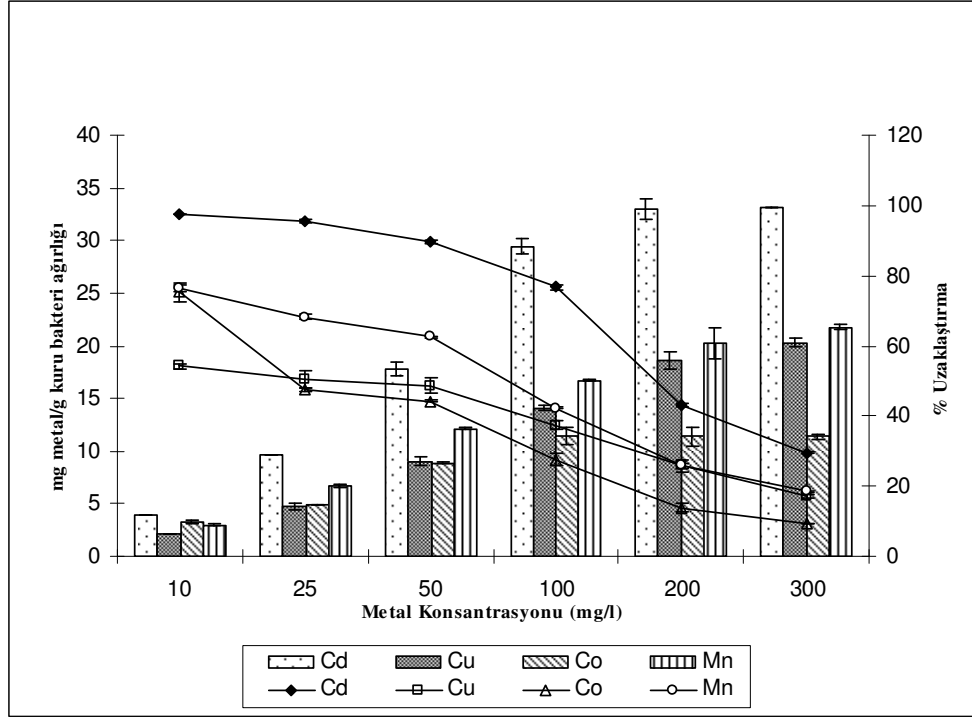
Tablo 4.3.2. Sıcaklığın *Bacillus thermantarcticus*' un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine etkisi

Sıcaklık (°C)	Metal							
	Cd		Cu		Co		Mn	
	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık
30	88,50 ±0,14	17,52 ±0,53	50,59 ±1,97	9,42 ±0,31	31,93 ±0,32	6,40 ±0,06	52,23 ±1,68	10,15 ±0,49
40	89,03 ±0,09	17,63 ±0,52	51,98 ±0,59	9,68 ±0,16	32,68 ±0,67	6,55 ±0,13	58,92 ±1,94	11,45 ±0,56
50	90,24 ±0,20	17,87 ±0,55	51,66 ±1,22	9,62 ±0,16	33,92 ±0,37	6,80 ±0,07	61,12 ±0,27	11,87 ±0,24
60	90,65 ±0,19	17,95 ±0,55	53,32 ±0,36	9,94 ±0,14	45,14 ±1,43	9,05 ±0,28	65,63 ±0,71	12,75 ±0,07
70	90,09 ±0,42	17,84 ±0,59	47,63 ±1,57	8,87 ±0,24	41,40 ±0,37	8,30 ±0,07	57,59 ±1,78	11,18 ±0,16
80	89,43 ±0,23	17,71 ±0,55	44,67 ±1,09	8,32 ±0,25	30,68 ±0,68	6,15 ±0,13	54,23 ±0,09	10,53 ±0,19

Bu sonuçlara göre; Cd, Cu, Co ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değerinin bakterinin optimum üreme sıcaklığı olan 60 °C olarak bulundu.

4.3.3. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.1.'de farklı ağır metal (Cd, Cu, Co ve Mn) konsantrasyonlarının (10-300 mg/l) *Bacillus thermoantarcticus*' un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

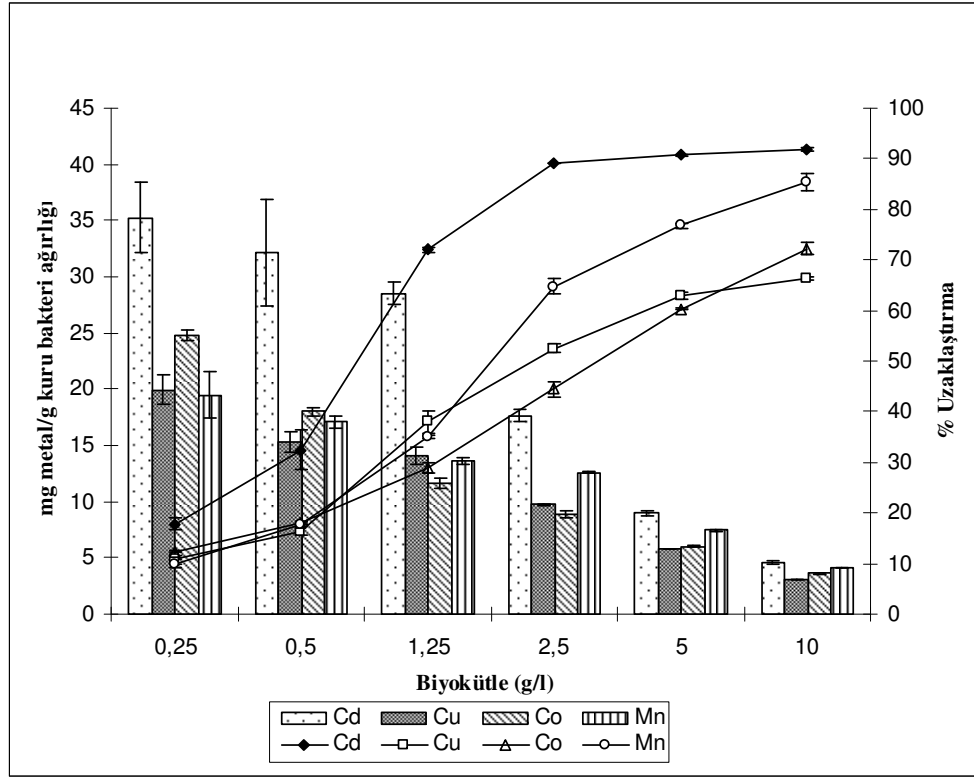


Şekil 4.3.1. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir).

Şekilden anlaşılacağı üzere artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı artarken, yüzde uzaklaştırma değerinin azaldığı saptandı. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Cd miktarı 3,87'den 33,16 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 97,26'dan % 29,6'ya azaldığı belirlendi.

4.3.4. Biyokütle Miktarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Bacillus thermoantarcticus'un biyokütle (0,25-10 g/l) değişimine bağlı metal biyosorpsiyonu değişimi Şekil 4.3.2.'de görülmektedir.

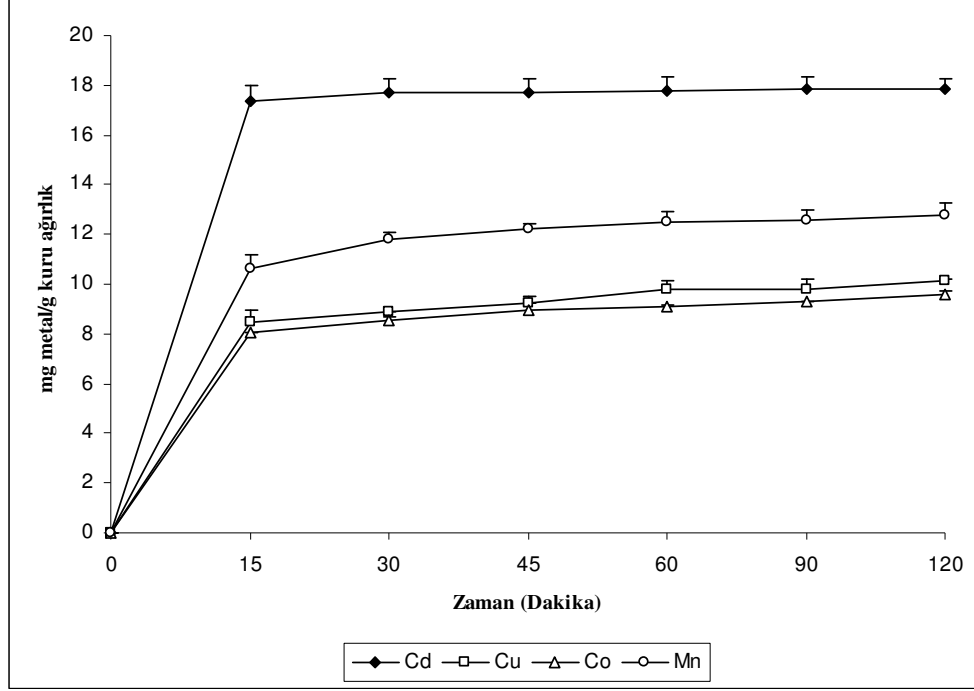


Şekil 4.3.2. Biyokütle Miktarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir).

Şekilden anlaşılacağı üzere artan biyokütle miktarına bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı azalırken, uzaklaştırılan metal yüzdesinde artış görüldüğü tespit edildi.

4.3.5. İnkübasyon Süresinin *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.3.'de farklı inkübasyon sürelerinin (15-120 dakika) *Bacillus thermoantarcticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.



Şekil 4.3.3. İnkübasyon Süresinin *Bacillus thermantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekilden anlaşılacağı üzere, artan zamana bağlı olarak g kuru bakteri başına düşen mg metal miktarında 15. dakikadan sonra pek fazla bir artışın gerçekleşmediği saptandı.

4.3.6. pH'nın *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.3.'de farklı pH değerlerinin (2.0-10.0) *Anoxybacillus amylolyticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

Tablo 4.3.3. pH'nın *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyon Üzerine Etkisi

Metal	pH	Başlangıç Metal Konsantrasyonları (mg/l)	Artakalan Metal Konsantrasyonu (mg/l)	Uzaklaştırılan Metal Konsantrasyonu (%)	mg metal/g kuru ağırlık
Cd	2	56 ± 0,7	51,75 ± 1,06	7,58 ± 0,72	1,7 ± 0,14
	3	53 ± 0,35	38,2 ± 3,18	27,84 ± 5,52	5,9 ± 1,13
	4	49,5 ± 1,41	17 ± 0,35	65,65 ± 0,26	13 ± 0,42
	5	48 ± 0,35	12,43 ± 0,08	74,08 ± 0,37	14,22 ± 0,17
	6	47 ± 1,06	16,75 ± 0,42	64,36 ± 0,09	12,1 ± 0,25
	8	46 ± 1,06	16,5 ± 0,07	64,11 ± 0,67	11,8 ± 0,39
	10	45 ± 0,7	18,5 ± 0,49	58,89 ± 0,45	10,6 ± 0,08
Cu	2	48,75 ± 0,35	48,31 ± 0,08	0,89 ± 0,53	0,17 ± 0,1
	3	47,37 ± 0,53	36,75 ± 0	22,41 ± 0,86	4,25 ± 0,21
	4	46,55 ± 0,28	28 ± 0	39,84 ± 0,36	7,42 ± 0,11
	5	45,93 ± 0,26	28,25 ± 0,35	38,49 ± 1,12	7,07 ± 0,24
	6	45,92 ± 0,81	29,18 ± 0,44	36,43 ± 0,16	6,69 ± 0,14
	8	45,25 ± 0	29,5 ± 0,53	34,8 ± 1,17	6,3 ± 0,21
	10	44,5 ± 1,06	30,12 ± 0,53	32,29 ± 0,41	5,75 ± 0,21
Co	2	55,75 ± 0,35	53,25 ± 1,41	4,48 ± 1,92	1 ± 0,42
	3	51,82 ± 0,94	45,81 ± 0,44	11,57 ± 2,48	2,4 ± 0,55
	4	51,06 ± 0,26	36,62 ± 0,53	28,26 ± 1,4	5,77 ± 0,31
	5	50,13 ± 0,01	32,5 ± 0,7	35,17 ± 1,38	7,05 ± 0,27
	6	49,93 ± 0,08	35 ± 0,7	29,91 ± 1,54	5,97 ± 0,31
	8	48,67 ± 0,45	35,87 ± 0,17	26,29 ± 1,06	5,12 ± 0,25
	10	46,81 ± 0,97	36,25 ± 0,17	22,53 ± 1,98	4,22 ± 0,45
Mn	2	54,62 ± 0,53	54,12 ± 0,17	0,91 ± 0,63	0,2 ± 0,14
	3	53,87 ± 0,53	44,5 ± 0,7	17,4 ± 0,49	3,75 ± 0,07
	4	51,25 ± 0,7	35,25 ± 0,35	31,21 ± 0,26	6,4 ± 0,14
	5	49,62 ± 0,53	33,25 ± 1,06	32,98 ± 2,85	6,55 ± 0,63
	6	48,56 ± 0,79	30,75 ± 0,35	36,67 ± 0,31	7,12 ± 0,17
	8	46,37 ± 0,53	33,5 ± 0,7	27,74 ± 2,35	5,15 ± 0,49
	10	44,12 ± 0,53	35,75 ± 1,06	18,95 ± 3,37	3,35 ± 0,63

Bu sonuçlara göre; optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Co ve Mn için sırasıyla; 5,0, 4,0, 5,0 ve 6,0 olduğu bulundu. Bu pH değerlerinde Cd, Cu, Co ve Mn için uzaklaştırılan metal yüzde değerleri ve gram kuru bakteri başına düşen mg metal

miktarı (3.11.2.'deki formülden yararlanarak) sırasıyla; % 74,08 ve 14,22; % 39,84 ve 7,42; % 35,17 ve 7,05; % 36,67 ve 7,12 olarak bulundu.

4.3.7. Sıcaklığın *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Sıcaklığın (30-80 °C) *Anoxybacillus amylolyticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Tablo 4.3.4.'de görülmektedir.

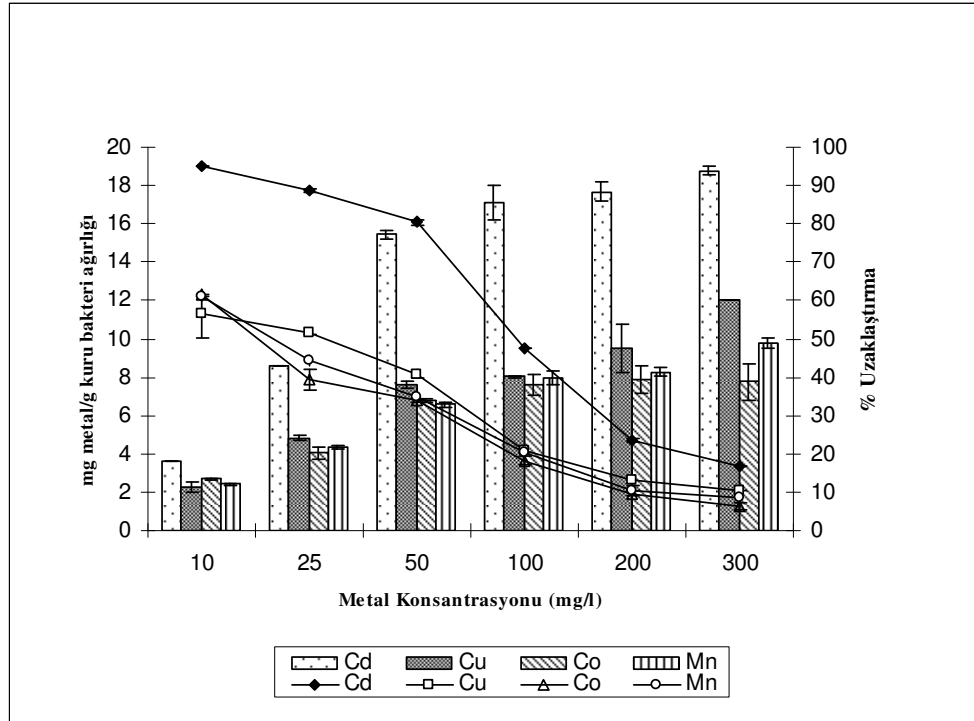
Tablo 4.3.4. Sıcaklığın *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Sıcaklık (°C)	Metal							
	Cd		Cu		Co		Mn	
	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık
30	74,08 ±0,37	14,22 ±0,17	38,77 ±1,15	7,25 ±0,21	27,04 ±1,59	5,42 ±0,31	27,40 ±0,45	5,32 ±0,17
40	75 ±0,18	14,4 ±0,07	40,92 ±2,67	7,62 ±0,45	29,39 ±0,53	5,89 ±0,10	30,86 ±2,77	6 ±0,63
50	75,72 ±0,25	14,54 ±0,15	44,41 ±1,56	8,47 ±0,52	31,06 ±0,86	6,23 ±0,16	33,57 ±1,81	6,52 ±0,45
60	78,06 ±0,23	14,99 ±0,15	43,98 ±2,46	8,19 ±0,41	33,67 ±0,26	6,75 ±0,04	35,12 ±0,33	6,82 ±0,17
70	74,32 ±0,32	14,27 ±0,04	39,31 ±1,90	7,32 ±0,31	28,89 ±0,53	5,79 ±0,10	27,92 ±0,27	5,42 ±0,03
80	73,61 ±0,30	14,13 ±0,16	38,24 ±1,90	7,12 ±0,31	27,09 ±1,15	5,43 ±0,23	25,73 ±1,03	5 ±0,28

Bu verilere göre; Cd, Cu, Co ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değeri bakterinin optimum üreme sıcaklığı olan 60 °C olduğu belirlendi. Bu sıcaklıkta Cd, Cu, Co ve Mn için yüzde uzaklaştırma ve metal biyosorpsiyonu (mg metal/g kuru ağırlık) sırasıyla; % 78,06 ve 14,99; % 43,98 ve 8,19; % 33,67 ve 6,75 ve % 35,12 ve 6,82 olarak tespit edildi.

4.3.8. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Ağır metal (Cd, Cu, Co ve Mn) konsantrasyonunun (10-300 mg/l) *Anoxybacillus amylolyticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Şekil 4.3.4.'de görülmektedir.

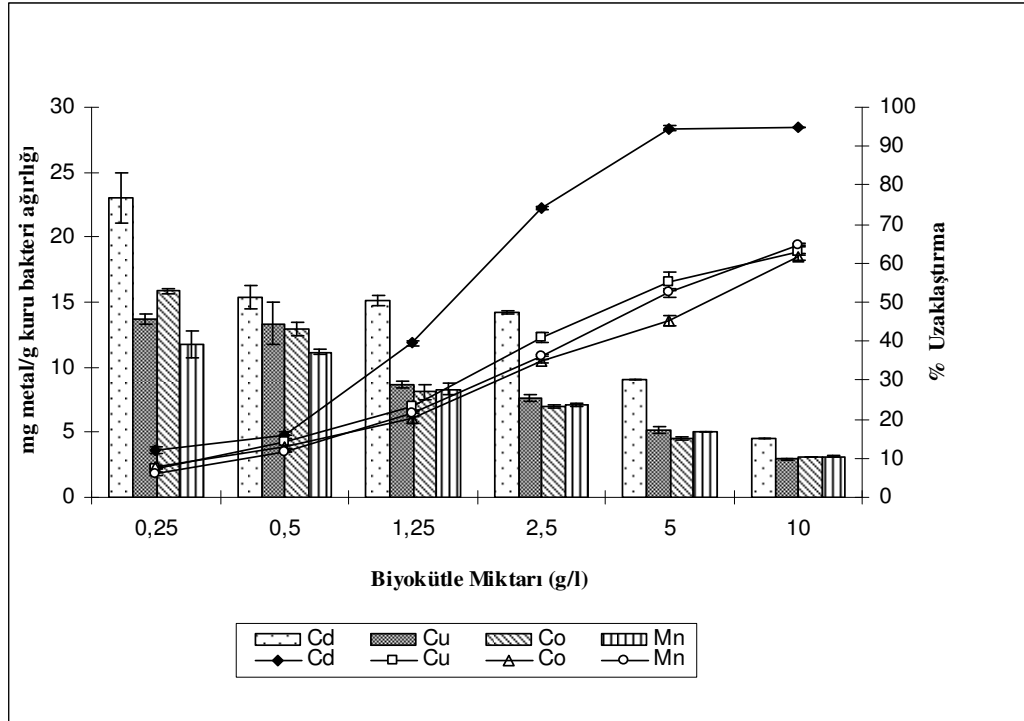


Şekil 4.3.4. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir).

Şekilden anlaşılacağı üzere artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı artarken, yüzde uzaklaştırma değerinin azaldığı bulundu.

4.3.9. Biyokütle Miktarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.5.'de *Anoxybacillus amylolyticus*'un farklı biyokütle miktarlarının (0,25-10 g/l) metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

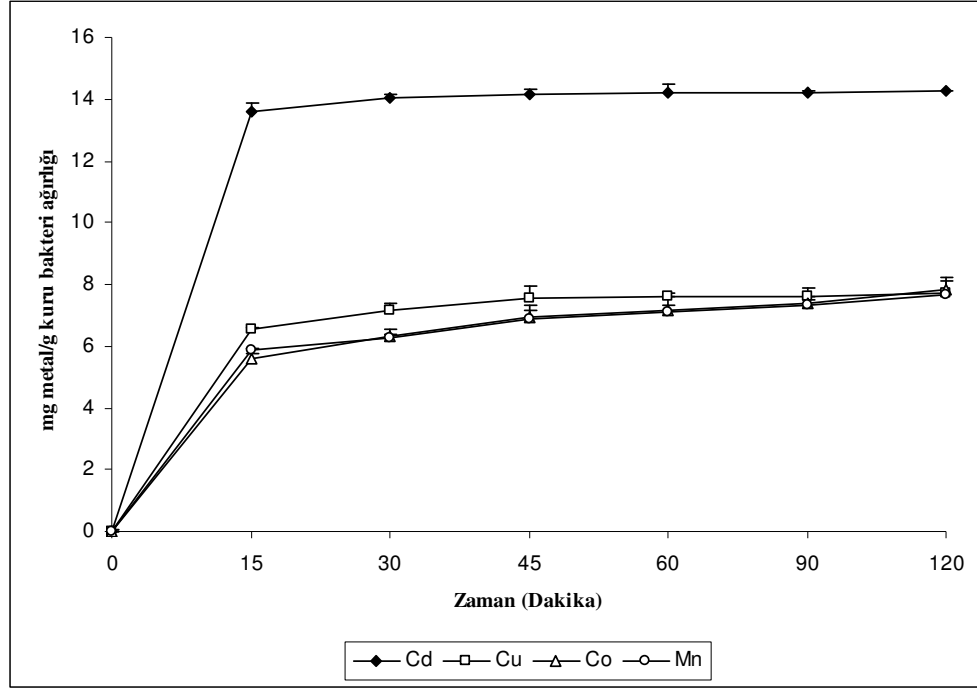


Şekil 4.3.5. Biyokütle Miktarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir.).

Şekilden anlaşılacağı üzere artan biyokütle miktarına bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı azalırken, uzaklaştırılan metal yüzdesinde artış görüldüğü saptandı.

4.3.10. İnkübasyon Süresinin *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

İnkübasyon süresinin (15-120 dakika) *Anoxybacillus amylolyticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Şekil 4.3.6.'da görülmektedir.



Şekil 4.3.6. İnkübasyon Süresinin *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Bu sonuçlara göre; artan zamana bağlı olarak g bakteri başına düşen mg metal miktarında 15. dakikadan sonra dikkate değer bir artışın olmadığı bulundu.

4.3.11. pH'nın *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

pH'nın (2,0-10,0) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Tablo 4.3.5.'de görülmektedir.

Tablo 4.3.5. pH'nın *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Metal	pH	Başlangıç Metal Konsantrasyonları (mg/l)	Artakalan Metal Konsantrasyonu (mg/l)	Uzaklaştırılan Metal Konsantrasyonu (%)	mg metal/g kuru ağırlık
Cd	2	56 ±0,70	52 ±0,35	7,13 ±0,54	1,6 ±0,14
	3	53 ±0,35	28,75 ±1,06	45,75 ±1,63	9,7 ±0,28
	4	49,5 ±1,41	10 ±0,21	79,78 ±1,00	15,8 ±0,65
	5	48 ±0,35	9,3 ±0,28	80,62 ±0,44	15,48 ±0,02
	6	47 ±1,06	7,4 ±0,07	84,24 ±0,50	15,84 ±0,45
	8	46 ±1,06	8,75 ±0,42	80,98 ±0,48	14,9 ±0,25
	10	45 ±0,70	8,77 ±0,17	80,49 ±0,69	14,48 ±0,33
Cu	2	48,75 ±0,35	48 ±0,17	1,53 ±1,07	0,3 ±0,21
	3	47,37 ±0,53	35 ±1,06	26,12 ±1,40	4,95 ±0,21
	4	46,55 ±0,28	26,12 ±0,17	43,87 ±0,03	8,17 ±0,04
	5	45,93 ±0,26	26,57 ±0,10	42,14 ±0,56	7,74 ±0,14
	6	45,92 ±0,81	27,25 ±0,35	40,64 ±1,81	7,47 ±0,46
	8	45,25 ±0	27,5 ±1,06	39,22 ±2,34	7,1 ±0,42
	10	44,5 ±1,06	30 ±0,70	32,58 ±0,01	5,8 ±0,14
Ni	2	55,37 ±0,17	54,12 ±0,17	2,25 ±0,63	0,5 ±0,14
	3	50,37 ±0,53	47 ±0,35	6,69 ±1,68	1,35 ±0,35
	4	48,87 ±0,17	36,12 ±0,17	26,08 ±0,62	5,1 ±0,14
	5	47,35 ±0,53	39,37 ±0,17	16,87 ±0,55	3,2 ±0,14
	6	45,87 ±0,88	40,37 ±0,17	11,97 ±1,31	2,2 ±0,28
	8	45,12 ±0,53	38,43 ±0,44	10,34 ±0,07	1,77 ±0,03
	10	44,25 ±0,35	37,25 ±0,35	10,23 ±1,61	1,7 ±0,11
Zn	2	51,25 ±0,35	50,87 ±0,17	0,73 ±0,33	0,15 ±0,07
	3	49,62 ±0,53	38 ±1,06	23,40 ±2,96	4,65 ±0,63
	4	47,81 ±0,61	20,4 ±0,03	57,32 ±0,47	10,96 ±0,23
	5	47,25 ±0,35	18,87 ±0,88	60,04 ±2,16	11,35 ±0,49
	6	45,93 ±0,08	19,91 ±0,47	56,64 ±1,12	10,41 ±0,22
	8	44,62 ±0,53	20 ±0,17	55,17 ±0,13	9,85 ±0,14
	10	43,81 ±0,08	20,41 ±0,05	53,40 ±0,21	9,36 ±0,05
Mn	2	54,62 ±0,53	52,25 ±0,35	4,33 ±1,57	0,95 ±0,35
	3	53,87 ±0,53	43,5 ±1,41	19,23 ±3,41	4,15 ±0,77
	4	51,25 ±0,70	32,31 ±0,26	36,94 ±1,38	7,57 ±0,38
	5	49,62 ±0,53	30,5 ±0,70	38,54 ±0,76	7,65 ±0,07
	6	48,56 ±0,79	28,25 ±0,35	41,81 ±1,68	8,12 ±0,45
	8	46,37 ±0,53	29,25 ±0,35	36,92 ±0,04	6,85 ±0,07
	10	44,12 ±0,53	30,75 ±1,06	30,31 ±1,56	5,35 ±0,21

Bu verilere göre; optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn için sırasıyla; 6,0, 4,0, 4,0, 5,0 ve 6,0 bulundu. Bu pH değerlerinde Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn için uzaklaştırılan metal yüzde değerleri ve gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı (2.11.2.'deki formülden yararlanarak) sırasıyla; % 84,24 ve 15,84; % 43,87 ve 8,17; % 26,08 ve 5,1; % 60,04 ve 11,35 ve % 41,81 ve 8,12 olarak bulundu.

4.3.12. Sıcaklığın *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.6.'da sıcaklığın (30-80°C) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

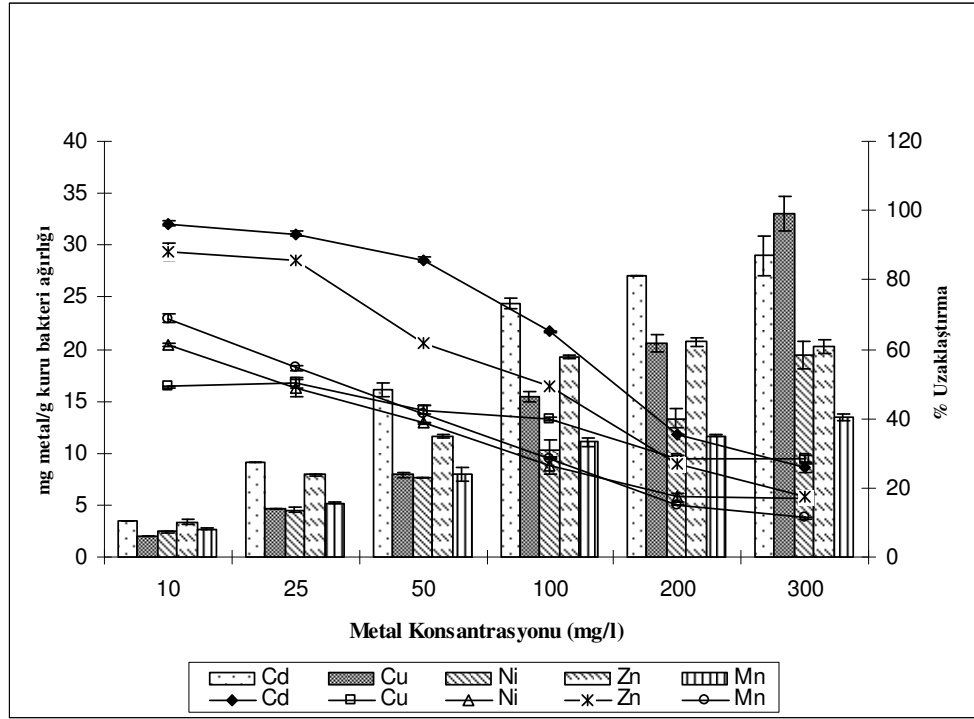
Tablo 4.3.6. Sıcaklığın *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Sıcaklık (°C)	Metal									
	Cd		Cu		Ni		Zn		Mn	
	% Uzaklaş tırma	mg metal/ g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/ g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık
30	77,03 ±0,40	14,48 ±0,40	41,73 ±3,06	7,77 ±0,52	30,04 ±0,43	5,85 ±0,07	47,61 ±1,14	9 ±0,28	31,77 ±1,48	6,17 ±0,38
40	82,04 ±0,21	15,42 ±0,38	41,99 ±1,16	7,82 ±0,16	30,68 ±2,05	6 ±0,42	56,44 ±2,04	10,67 ±0,46	32,58 ±0,02	6,33 ±0,09
50	83,27 ±1,73	15,66 ±0,67	43,61 ±1,93	8,12 ±0,31	30,43 ±0,60	5,95 ±0,14	57,52 ±1,43	10,95 ±0,35	33,82 ±2,89	6,57 ±0,67
60	83,44 ±0,67	15,69 ±0,48	45,48 ±0,81	8,47 ±0,09	32,48 ±0,48	6,35 ±0,07	60,14 ±2,76	11,37 ±0,60	36,81 ±1,97	7,15 ±0,50
70	84,82 ±1,47	15,95 ±0,63	43,06 ±0,34	8,12 ±0,02	33,63 ±0,66	6,57 ±0,10	62,16 ±0,84	11,75 ±0,07	40,15 ±3,01	7,80 ±0,71
80	83,26 ±0,33	15,65 ±0,41	41,34 ±0,20	7,7 ±0,08	30,94 ±1,69	6,05 ±0,35	67,11 ±0,73	12,68 ±0,23	34,73 ±1,97	6,75 ±0,49

Tablo 4.3.6.'ya göre Cd, Ni, ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değeri 70 °C olduğu Cu ve Zn için ise sırasıyla; 60 ve 80 °C olarak belirlendi.

4.3.13. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Ağır metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) konsantrasyonunun (10-300 mg/l) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Şekil 4.3.7.'de görülmektedir.



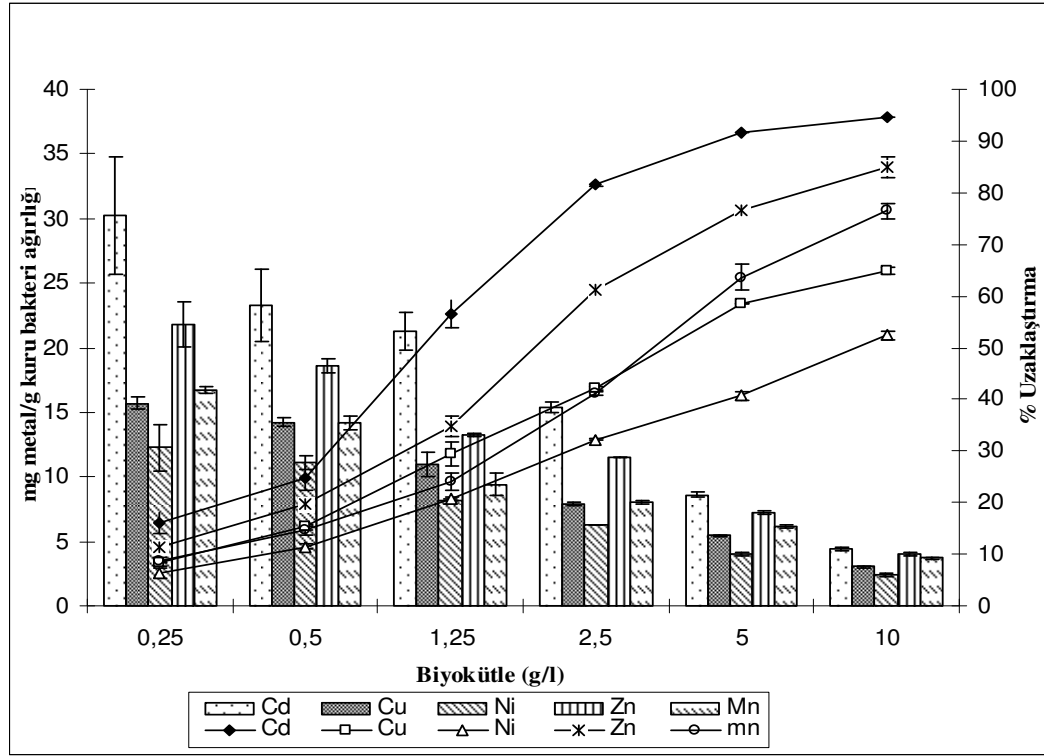
Şekil 4.3.7. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir).

Şekilden anlaşılacağı üzere artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı artarken, yüzde uzaklaştırma değerinin azaldığı bulundu. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından biyosorbe edilen Cd miktarı 3,52'den 29,02 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 96,17'den % 25,97'ye azaldığı gözlemlendi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından biyosorbe edilen Cu miktarı 1,96'dan 33 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi %

49,17'den % 28,34'e azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından biyosorbe edilen Mn miktarı 2,7'den 13,42 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 68,78'den % 11,37'ye azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından biyosorbe edilen Ni miktarı 2,45'den 19,45 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 61,15'den % 16,72'ye azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından biyosorbe edilen Zn miktarı 3,34'den 20,28 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 88,06'dan % 17,35'e azaldığı bulundu.

4.3.14 Biyokütle Miktarlarının *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Geobacillus toebii sub.sp. *decanicus*'un farklı miktarlarının (0,25-10 g/l) metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Şekil 4.3.8.'de görülmektedir.

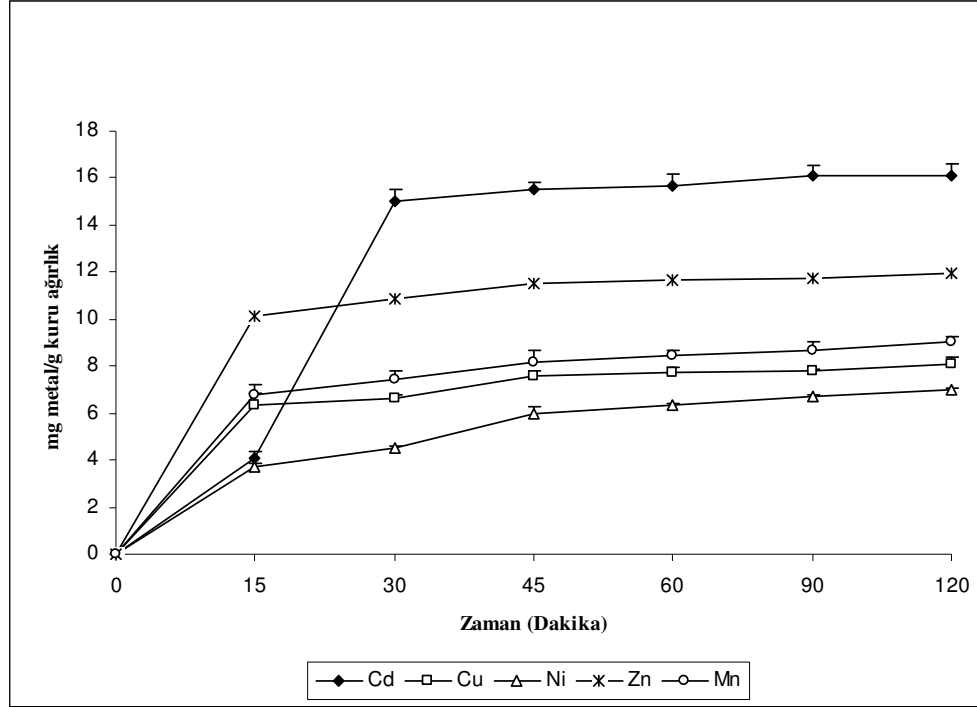


Şekil 4.3.8. *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Farklı Biyokütellerinin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; artan biyokütle miktarına bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı azalırken, uzaklaştırılan metal yüzdesinde artış görüldüğü tespit edildi.

4.3.15. İnkübasyon Süresinin *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

İnkübasyon süresinin (30-120 dakika) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi Şekil 4.3.9.'da görülmektedir.



Şekil 4.3.9. İnkübasyon Süresinin *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Bu veriler göre; gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarında 15. dakikadan sonra Cd hariç, diğer metallerde çok az bir artışın olduğu görülmektedir.

4.3.16. pH'nın *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.7.'de farklı pH değerlerinin (2.0-10.0) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

Tablo 4.3.7. pH'nın *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Metal	pH	Başlangıç Metal Konsantrasyonları (mg/l)	Artakalan Metal Konsantrasyonu (mg/l)	Uzaklaştırılan Metal Konsantrasyonu (%)	mg metal/g kuru ağırlık
Cd	2	56 ±0,70	52 ±1,06	6,71 ±2,49	1,6 ±0,14
	3	53 ±0,35	14,85 ±0,21	71,91 ±0,31	15,26 ±0,22
	4	49,5 ±1,41	6,6 ±0,28	86,52 ±0,77	17,16 ±0,45
	5	48 ±0,35	7,37 ±0,17	84,63 ±0,25	16,25 ±0,07
	6	47 ±1,06	7,5 ±0,35	83,90 ±0,94	15,9 ±0,42
	8	46 ±1,06	7,65 ±0,28	83,5 ±0,42	15,34 ±0,53
	10	45 ±0,70	8,12 ±0,17	81,93 ±0,67	14,75 ±0,35
Cu	2	48,75 ±0,35	48,12 ±0,53	1,28 ±0,36	0,25 ±0,07
	3	47,37 ±0,53	20,93 ±0,26	55,8 ±0,07	10,57 ±0,10
	4	46,55 ±0,28	9,712 ±0,12	79,13 ±0,14	14,73 ±0,06
	5	45,93 ±0,26	10,03 ±0,12	78,14 ±0,39	14,36 ±0,15
	6	45,92 ±0,81	11 ±0,35	76,03 ±1,19	13,77 ±0,18
	8	45,25 ±0	11,37 ±0,53	74,86 ±1,17	13,55 ±0,21
	10	44,5 ±1,06	16,75 ±0,35	62,35 ±0,10	11,1 ±0,28
Ni	2	55,37 ±0,17	52,37 ±0,53	5,41 ±1,25	1,2 ±0,28
	3	50,37 ±0,53	37,37 ±0,53	26,17 ±0,24	5,2 ±0
	4	48,87 ±0,17	21,25 ±0,35	56,52 ±0,56	11,05 ±0,07
	5	47,35 ±0,53	23 ±0,70	52,20 ±0,94	10,05 ±0,07
	6	45,87 ±0,88	25,5 ±0,35	44,39 ±1,83	8,15 ±0,49
	8	45,12 ±0,53	25,31 ±0,26	43,9 ±0,07	7,92 ±0,10
	10	44,25 ±0,35	25,75 ±0,70	41,81 ±1,13	7,4 ±0,14
Zn	2	51,25 ±0,35	50,37 ±0,17	1,7 ±1,01	0,35 ±0,21
	3	49,62 ±0,53	25,87 ±0,17	47,85 ±0,91	9,5 ±0,28
	4	47,81 ±0,61	9,812 ±0,08	79,47 ±0,08	15,2 ±0,21
	5	47,25 ±0,35	10,18 ±0,08	78,43 ±0,02	14,82 ±0,10
	6	45,93 ±0,08	9,92 ±0,28	78,39 ±0,57	14,40 ±0,07
	8	44,62 ±0,53	9,68 ±0,26	78,28 ±0,84	13,97 ±0,31
	10	43,81 ±0,08	9,56 ±0,26	78,17 ±0,65	13,7 ±0,14
Mn	2	54,62 ±0,53	51 ±0,70	6,62 ±2,20	1,45 ±0,49
	3	53,87 ±0,53	35,75 ±1,06	33,62 ±2,62	7,25 ±0,63
	4	51,25 ±0,70	20,62 ±0,53	59,75 ±0,47	12,25 ±0,07
	5	49,62 ±0,53	15,12 ±0,17	69,51 ±0,68	13,8 ±0,28
	6	48,56 ±0,79	16,12 ±0,17	66,79 ±0,18	12,97 ±0,24
	8	46,37 ±0,53	18,62 ±0,17	59,82 ±0,84	11,1 ±0,28
	10	44,12 ±0,53	20,25 ±0,35	54,10 ±0,24	9,55 ±0,07

Bu sonuçlara göre; optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Ni, Zn 4,0 ve Mn için 5,0 bulundu. Bu pH değerlerinde Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn için uzaklaştırılan metal yüzde değerleri ve gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı (3.11.2.'deki formülden yararlanarak) sırasıyla; % 86,52 ve 17,16; % 79,13 ve 14,73; % 56,52 ve 11,05; % 79,47 ve 15,2; % 69,51 ve 13,8 olarak saptandı.

4.3.17. Sıcaklığın *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.8.'de sıcaklığın (30-80 °C) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

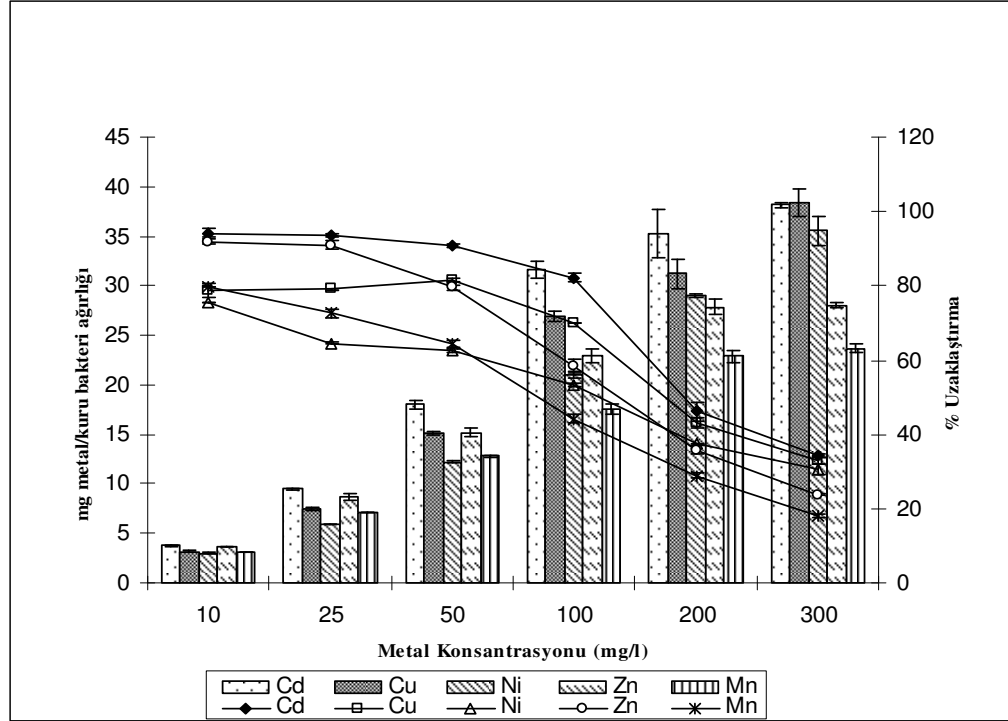
Tablo 4.3.8. Sıcaklığın *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Sıcaklık (°C)	Metal									
	Cd		Cu		Ni		Zn		Mn	
	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/ g kuru ağırlık	% Uzaklaş tırma	mg metal/ g kuru ağırlık
30	89,18 ±0,45	17,66 ±0,59	77,71 ±0,24	14,47 ±0,04	48,84 ±1,26	9,55 ±0,21	66,35 ±0,30	12,72 ±0,10	55,95 ±2,89	11,11 ±0,69
40	89,67 ±1,44	17,76 ±0,79	78,77 ±1,26	14,67 ±0,32	51,91 ±1,97	10,15 ±0,42	76,51 ±1,12	14,62 ±0,38	59,24 ±0,20	11,76 ±0,08
50	90,08 ±0,71	17,84 ±0,65	79,85 ±0,50	14,85 ±0,21	52,68 ±1,25	10,3 ±0,48	77,57 ±0,36	14,82 ±0,10	61,44 ±2,19	12,2 ±0,56
60	90,79 ±0,40	17,98 ±0,59	81,19 ±0,86	15,12 ±0,25	55,49 ±0,88	10,85 ±0,21	78,66 ±0,42	15,04 ±0,27	64,85 ±1,62	12,87 ±0,45
70	91,57 ±0,70	18,13 ±0,65	79,32 ±1,01	14,77 ±0,09	60,99 ±1,76	11,92 ±0,38	79,21 ±0,45	15,15 ±0,28	68,63 ±1,58	13,62 ±0,45
80	84,96 ±0,60	16,82 ±0,60	78,08 ±0,02	14,54 ±0,08	59,2 ±1,04	11,57 ±0,24	81,95 ±0,60	15,67 ±0,31	62,07 ±2,36	12,32 ±0,60

Tablo 4.3.8.'e göre Cd, Ni, Zn ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değerinin 70 °C olduğu, Cu için ise 60 °C olarak bulundu.

4.3.18. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.10.'da ağır metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) konsantrasyonunun (10-300 mg/l) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.



4.3.10. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

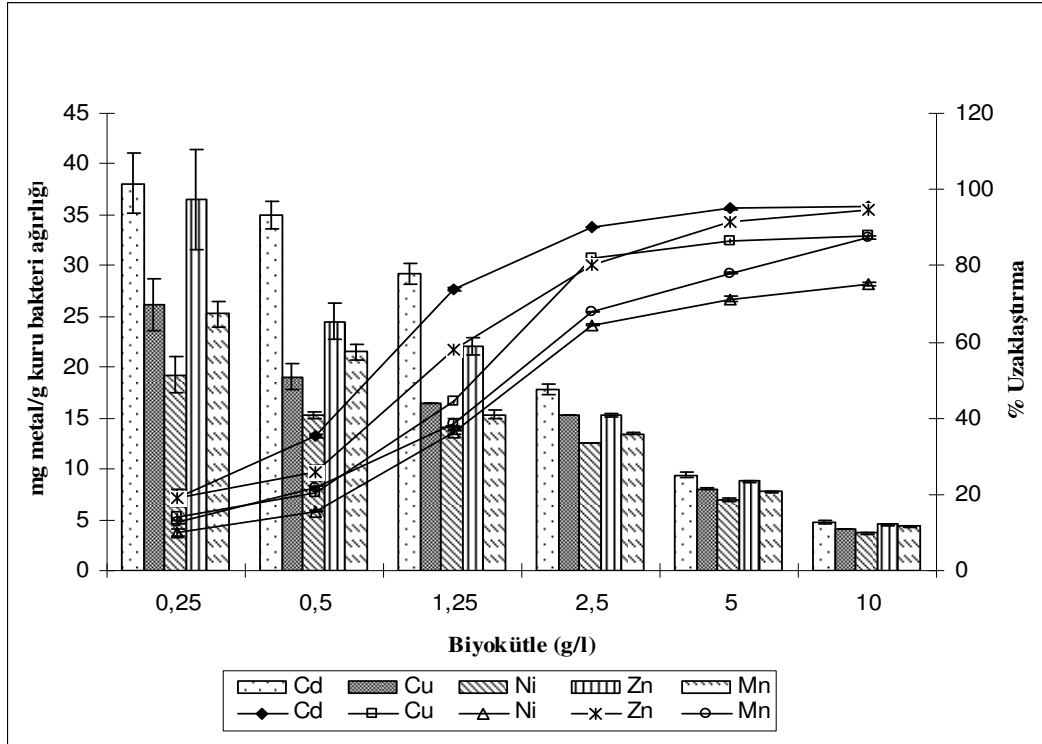
(Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı artarken yüzde uzaklaştırma değerinin azaldığı bulundu. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından biyosorbe edilen Cd miktarı 3,79'dan 38,2 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 97,27'den % 34,1'e azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından biyosorbe edilen Cu miktarı 3,13'den 38,4 mg/g kuru ağırlık'a

yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 78,67'den % 32,98'e azaldığı saptandı. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından biyosorbe edilen Mn miktarı 3,17'den 23,71 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 79,79'dan % 18,11'e azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından biyosorbe edilen Ni miktarı 3,02'den 35,55 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 75,62'den % 30,57'e azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından biyosorbe edilen Zn miktarı 3,61'den 28 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 91,91'den % 23,71'e azaldığı bulundu.

4.19. Biyokütle Miktarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.11.'de farklı miktarlarda (0,25-10 g/l) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile yürütülen biyosorpsiyon çalışmaları verilmiştir.

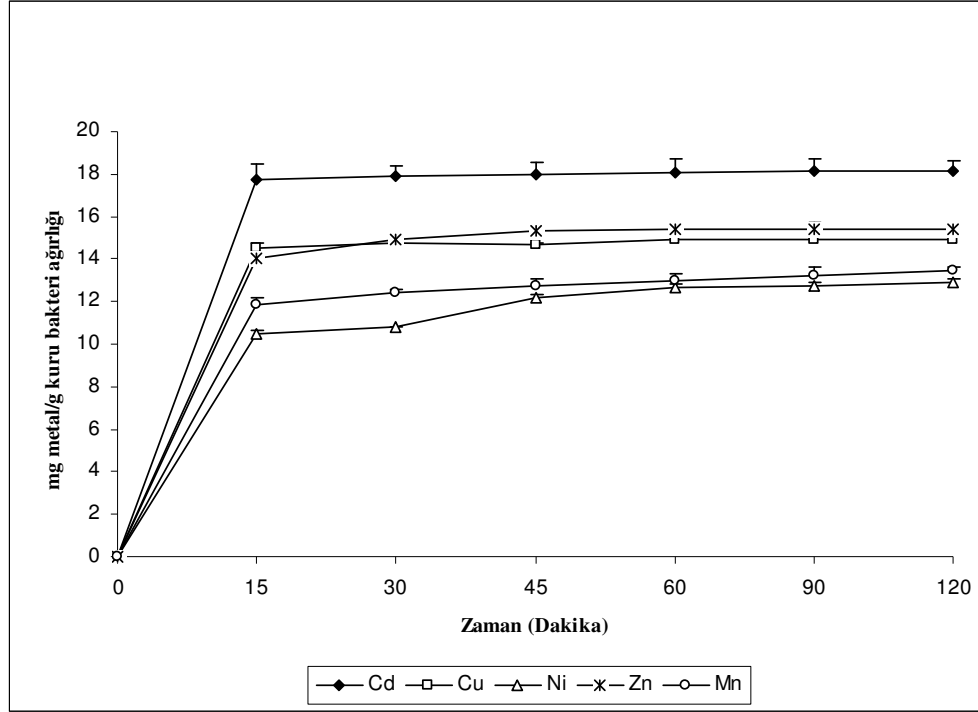


Şekil 4.3.11. Biyokütle Miktarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi (Çizgi ile gösterim % uzaklaştırma, sütunlar ise metal biyosorpsiyonunu göstermektedir).

Bu sonuçlara göre; artan biyokütle miktarına bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarı azalırken, uzaklaştırılan metal yüzdesinde artış görüldüğü bulundu.

4.3.20. İnkübasyon Süresinin *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.12.'de inkübasyon süresinin (15-120 dakika) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir.

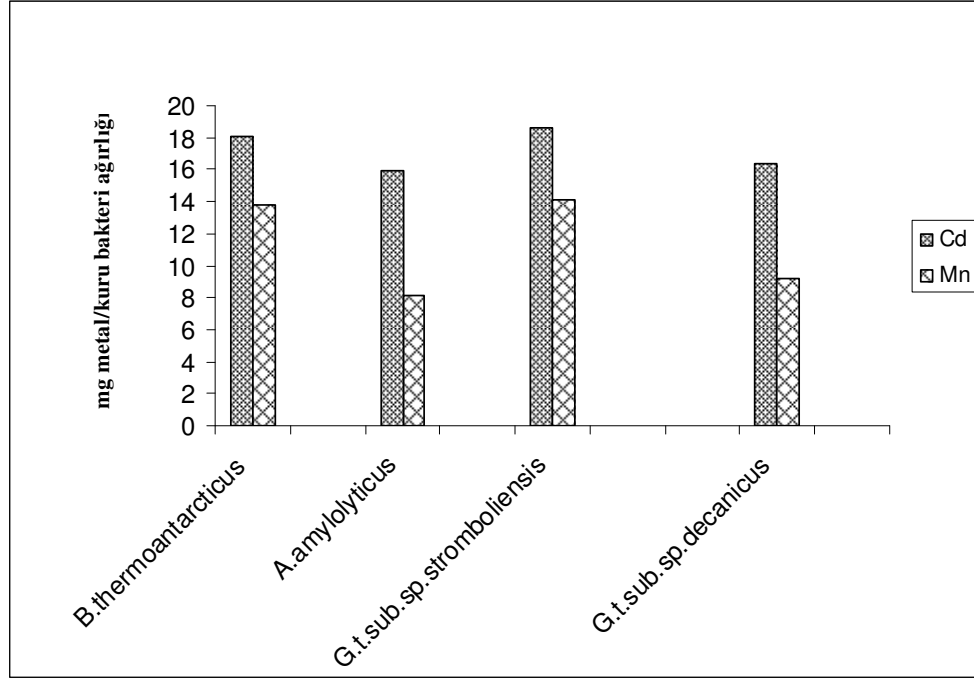


Şekil 4.3.12. İnkübasyon Süresinin *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Bu sonuçlara göre; artan zamana bağlı olarak gram kuru bakteri başına düşen mg metal miktarında 15. dakikadan sonra çok fazla bir artışın olmadığı bulundu.

4.4. 50 mg/l Cd ve Mn Konsantrasyonunda Tutulan Bakteri Peletlerinin Asitle Çözünürleştirdikten Sonra Biyosorpsiyon Analizi

Şekil 4.4. 50 mg/l Cd ve Mn konsantrasyonlarının değişik bakteri varyetelerinde üst sıvıda metal kalıntılarında yola çıkılarak yapılan hesaplamalar haricinde bakteri peletlerinin asitle çözünürleştirdikten sonra biyosorpsiyon oranlarını göstermektedir.

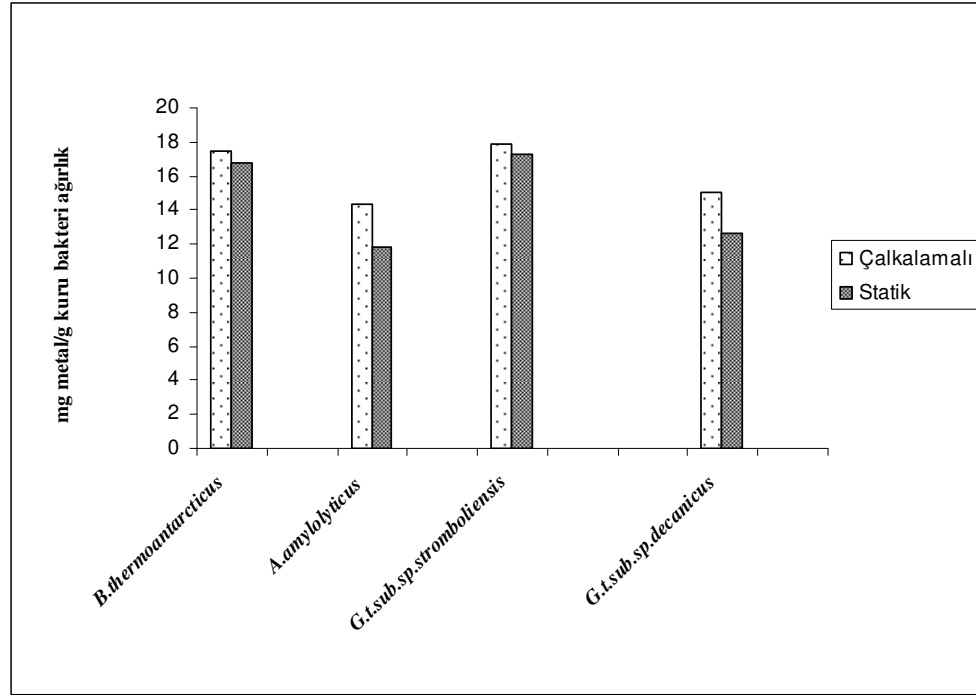


Şekil 4.4. 50 mg/l Cd ve Mn Konsantrasyonunda Tutulan Bakteri Peletlerinin Asitle Çözünürleştirdikten Sonra Biyosorpsiyon Analizi

Biyosorpsiyon deneyi sonunda ve asitle peletlerin çözünürleştirilmesi sonucunda elde edilen Cd ve Mn biyosorpsiyon değerleri sırasıyla; Şekil 4.4'e göre *Bacillus thermoantarcticus* için 18,1 ve 13,75; *Anoxybacillus amyolyticus* için 15,98 ve 8,13; *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* için 18,63 ve 14,1 ve *Geobacillus toebii* sub.sp *decanicus* 16,35 ve 9,15 mg metal/g kuru bakteri ağırlığı olarak tespit edildi.

4.5. Farklı Bakteri Varyetelerinin Çalkalamalı ve Statik Koşullarda Kadmiyum Biyosorpsiyonunun Karşılaştırılması

Şekil 4.5. Cd'un çalkalamalı ve statik koşullarda farklı bakteri varyetelerinde biyosorpsiyonunun karşılaştırılmasını göstermektedir.



Şekil 4.5. Farklı Bakteri Varyetelerinin Çalkalamalı ve Statik Koşullarda Kadmiyum Biyosorpsiyonunun Karşılaştırılması

Şekil 4.5.'e göre *Bacillus thermoantarcticus*, *Anoxybacillus amyolyticus*, *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ve *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* için statik ve çalkalamalı olarak elde edilen Cd biyosorpsiyonu sırasıyla; 16,75 ve 17,51; 11,85 ve 14,31; 17,25 ve 17,88; 12,6 ve 15,1 mg metal/g kuru bakteri ağırlığı olarak saptandı. Bu sonuçlara göre, Cd metali kullanıldığında çalkalamalı olarak yapılan biyosorpsiyon çalışmasının statik olarak yapılan biyosorpsiyon çalışmasına nazaran daha etkili olduğu tespit edildi.

4.6. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı ve Kurutulmuş Ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu

Tablo 4.6.'da farklı Cd konsantrasyonlarına maruz kalan canlı ve kurutulmuş ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un hücre membranında metal biyosorpsiyonu görülmektedir.

Tablo 4.6. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı ve Kurutulmuş Ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu

Cd Konsantrasyonu (mg/l)	Membran Ağırlığı (mg)	Süpernatant (mg/l)	Membran (mg/l)	mg metal/g yaş membran
Canlı hücre (Kontrol)	40	0	0	0
Canlı Hücre (1,83 mg/l)	28,6	0,33	0,106	3,7
Canlı Hücre (4,575 mg/l)	16,6	0,565	0,283	17,05
Canlı Hücre (7,32 mg/l)	18	0,661	0,314	17,44
Kurutulmuş Ölü Hücre (Kontrol)	11	0	0	0
Kurutulmuş Ölü Hücre (1,83 mg/l)	13	0,016	0,035	2,69
Kurutulmuş Ölü Hücre (4,575 mg/l)	13	0,093	0,521	40
Kurutulmuş Ölü Hücre (7,32 mg/l)	15	0,233	0,693	46,2

Her iki tip hücre için artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak membranda biriken mg metal miktarında artış olduğu görülmektedir. Ölü hücrelerin, canlı hücrelere nazaran membranlarında daha fazla metal biyosorbe ettiği tespit edildi.

4.7. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış (İmmobilize Edilmiş) Ölü (Kurutulmuş) Bakteri *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Ağır Metal biyosorpsiyon Çalışmaları

4.7.1. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) Bakteri *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nun Prekonsantrasyonu

Tablo 4.7.1. XAD-4 üzerine tutuklanmış ölü (kurutulmuş) bakteri *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile immobilizasyonu yöntemiyle kolondan geçirilen 250 ml'lik metal çözeltisinde Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nun prekonsantrasyonunu göstermektedir.

Tablo 4.7.1. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) Bakteri *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nun Prekonsantrasyonu

Metal iyonları	Solüsyonun Hacmi (ml)	Konsantrasyon Limiti (ng ml ⁻¹)	Son Geri Alma Hacmi (ml)	Konsantrasyon Faktörü	Kazanım (%)
Cd	250	50	2	125	100
Cu	250	20	2	125	100
Mn	250	50	2	125	100
Ni	250	20	2	125	97,5
Zn	250	20	2	125	100

Tablo 4.7.1.'de görüldüğü gibi Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn için konsantrasyon faktörü 125 olarak tespit edildi. Cd, Cu, Mn ve Zn metalleri için geri kazanım yüzdeleri % 100 olarak, Ni için ise % 97,5 olarak tespit edildi.

4.7.2. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

Tablo 4.7.2. XAD-4 üzerine tutuklanmış ölü (kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd tutma kapasitesini göstermektedir.

Tablo 4.7.2. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

Metal İyonu	Kapasite
	($\mu\text{g g}^{-1}$) Reçine
Cd^{+2}	3800

5, 10 ve 20 mg/l'lik konsantrasyonlarda hazırlanan 100'er ml'lik Cd çözeltileri (pH:4) 1ml dak⁻¹ akış hızında tek tek kolondan geçirildikten ve asitle (15 ml 1M HCl) yıkandıktan sonra XAD-4 üzerine tutuklanmış ölü (kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd⁺² tutma kapasitesi 3800 $\mu\text{g g}^{-1}$ reçine olarak tespit edildi.

4.7.3. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Doğal Atık Sularda Bulunan Bazı Metallerin (Cd, Cu ve Ni) Prekonsantrasyonu

Tablo 4.7.3. XAD-4 üzerine tutuklanmış ölü (kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile doğal atık sularda bulunan bazı metallerin (Cd, Cu ve Ni) prekonsantrasyonunu göstermektedir.

Tablo 4.7.3. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Doğal Atık Sularda Bulunan Bazı Metallerin (Cd, Cu ve Ni) Prekonsantrasyonu

Metal İyonları	Prekonsantrasyondan Önce Okunan Metal İçeriği ($\mu\text{g l}^{-1}$)	Konsantrasyon Faktörü	Prekonsantrasyondan Sonra Hesaplanan Metal İçeriği ($\mu\text{g l}^{-1}$)
Cd	0	100	0,375
Cu	0	35,71	20,43
Ni	0	35,71	4,542

Maden Bakır İşletmesinin, atık sularının akıtıldığı Maden Çay'ından alınan su numunesinde Cd, Cu, Mn, Ni ve Zn elementlerinin seviyesinin belirlenmesi için prekonsantrasyon işleminden önce Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'sinde ölçüm yapıldı. Bu elementlerden Mn ve Zn seviyeleri Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'sinde zaten tespit edilebildiğinden sadece Cd, Cu ve Ni seviyelerini belirlemek için, 500 ml'lik doğal su numunesi 1ml dak^{-1} akış hızında kolondan geçirilerek prekonsantre edildi ve daha sonra, su örneğinde bulunan Cd, Cu ve Ni elementlerinin seviyeleri AAS'de ölçüm yapılarak Tablo 4.7.3.'de görüldüğü gibi sırasıyla; 0,375, 20,43 ve 4,542 $\mu\text{g l}^{-1}$ olarak tespit edildi.

5. TARTIŞMA SONUÇ

Günümüzde alıcı ortamların kalitesini korumak amacıyla daha etkin standartların yürürlüğe girmesi ile birlikte, ağır metal içeren atıksuların arıtımı da önem kazanmıştır. Buna bağlı olarak da yüksek verimde çalışabilen ve metal gideriminde etkili olan biyolojik arıtma proseslerinin geliştirilmesi oldukça cazip hale gelmiştir (Alkan ve ark., 2006). Mikroorganizmaları kullanarak ağır metallerin biyolojik iyileştirilmesi (bioremediasyon) sadece bilimsel yenilik açısından değil, bunun yanında endüstrideki potansiyel uygulanırlığı açısından da son yıllarda büyük ilgi görmeye başlamıştır (Elmacı ve ark., 2005). Sanayileşmenin artması ve gelişen teknoloji ile birlikte atıksulardaki konsantrasyonları gittikçe artan ağır metallerin, alıcı ortamlara, dolayısıyla tüm canlılara olumsuz etkilerinin önlenmesi ve su kalite standartlarının sağlanabilmesi için, bu atıksuların arıtıma tabi tutulmaları gerekmektedir. Toksik madde konsantrasyonu yüksek olan atıksuların çeşitli fiziksel ve kimyasal metotlarla arıtımı mümkündür. Ancak böyle bir arıtım, küçük ve ağır metal içeriği çok yüksek seviyelerde olmayan endüstriler için maliyetli olmaktadır. Biyolojik arıtma prosesleri işletme ve maliyet yönünden ekonomik olması sebebiyle evsel ve endüstriyel atıksuların arıtımında yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Ağır metaller endüstriyel atıksularda yaygın olarak bulunmaktadır. Metal içeren endüstriyel ve belediye atıksularının deşarjı ile çevreye ve halk sağlığına olumsuz etkilerinden dolayı metallerin arıtımı ile ilgili çalışmalar oldukça önem kazanmıştır (Alkan ve ark., 2006).

Bu çalışmada Nicolaus B. ve arkadaşları tarafından izole edilen ve tanımlanan termofilik karakterdeki bakterilerden *Bacillus thermoantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*, ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd, Co, Cu, Mn, Ni ve Zn gibi metallere dirençliliği, biyoakümüasyonu ve biyosorbisyon değerleri tespit edilerek, bu bakterilerin çevre kirliliğini azaltmada biyoteknolojik anlamda kullanılabilirliği test edilmiştir.

Tablo 4.1'de 72 saatlik inkübasyon süresi sonrasında elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) deney sonuçları görülmektedir. Bu sonuçlara göre bakterileri, metal dirençliliği bakımından her bir metal için en dirençlilikten en

duyarlılığa doğru sıralayacak olursak *Bacillus thermoantarcticus* için; Mn>Co>Cu>Ni>Zn>Cd, *Anoxybacillus amylolyticus* için; Mn>Co>Zn>Ni>Cu>Cd, *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* için; Mn>Ni>Cu>Co>Zn>Cd ve *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* için; Mn>Ni>Cu>Zn>Co>Cd şeklinde sıralanmaktadır.

Bu dört bakterinin 72 saatlik inkübasyon süresince elde edilen minimum inhibisyon konsantrasyonu (MIC) deneyi sonuçlarını karşılaştıracak olursak o metal için en dirençli ve en duyarlı örnekler; Cd için; en dirençli *Anoxybacillus amylolyticus* 0,574mM (105 µg/ml), en duyarlı *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* 0,049 mM (38,41 µg/ml), Co için; en dirençli *Bacillus thermantarcticus* 4.1mM (975 µg/ml), en duyarlı *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* 0,512mM (121,75 µg/ml), Cu için; en dirençli *Bacillus thermantarcticus* 2,05mM (347,68 µg/ml), en duyarlı *Anoxybacillus amylolyticus* 0,616mM (104,47 µg/ml), Mn için; en dirençli *Bacillus thermantarcticus* ve *Geobacillus toebii* sub sp. *decanicus* 22,02 mM (4355,5 µg/ml), en duyarlı *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ve *Geobacillus toebii* sub sp. *decanicus* 11,01mM (2177,75 µg/ml), Ni için; en dirençli *Geobacillus toebii* sub sp. *decanicus* 3,633 mM (865 µg/ml) ve en duyarlı *Anoxybacillus amylolyticus* 0,915mM (217,85 µg/ml), Zn için; en dirençli *Bacillus thermantarcticus* 1,575 mM (215,7 µg/ml), *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* 0,21mM (28,7 µg/ml) şeklinde tespit edilmiştir. Bu sonuçlara göre genel anlamda en dirençli bakteri *Bacillus thermantarcticus* ve en duyarlı bakteri *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* olduğu görülmektedir. Bu termofilik bakterilerle yapılan çalışmada Cd en toksik Mn ise en az toksik metal olarak tespit edildi. Tablo 5.1.'de **Hetzer ve ark., (2006)** tarafından farklı termofilik bakterilerin Cd için MIC değerlerini belirlemişler ve bu metal için MIC değerini >3,200 ile 80 µM arasında olduğunu belirlemişlerdir. Bu çalışmada kullanılan termofilik bakterilerin Cd için MIC değerleri 574 ile 49 µM arasında olduğunu belirlendi. Mezofilik mikroorganizmalarla yapılan MIC çalışmalarında ise **Hassen ve ark., (1998a)** yaptıkları çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus thuringiensis* bakterileri tarafından Cd, Cu, Co ve Zn için tespit edilen MIC değerleri sırasıyla; 1,5- 1,2, 1,2- 0,5, 0,4-ND ve 1,5-ND mM; **Nies, (1999)** yaptığı çalışmada *E. coli* tarafından Cd, Cu, Co,Zn, Ni ve Mn için tespit edilen MIC

değerleri sırasıyla; 0,5, 1,0, 1,0, 1,0, 1,0 ve 20,0 mM; **Yılmaz (2003)**, ağır metalle kontamine olmuş topraktan izole ettiği *Bacillus* EB4 varyetesinin Cu, Co, Cd, Ag, Ni, Mn ve Zn için; MIC değerlerini sırasıyla 2,5, 1,5, 2,0, 1,5, 4,0, 21 ve 20 mM ve **Ansari ve Malik, (2007)**, metallere kontamine olmuş topraktan izole ettikleri *Enterobacteriaceae* ve *Pseudomonas* bakterileri tarafından maksimum MIC değerlerini Cd için 200 µg/ml, Zn ve Cu için 400 µg/ml, Ni için 800 µg/ml ve Pb için 1600 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen MIC değerlerini gerek **Hetzer ve ark., (2006)**, tarafından termofilik mikroorganizmalar ile yapılan Cd için MIC değerleri ile gerekse de diğer araştırmacılar tarafından mezofilik mikroorganizmalarla yapılan MIC değerleri ile kıyaslayacak olursak sonuçların uyumlu olduğu görülmektedir.

Tablo 5.1. Farklı termofilik bakterilerin Cd için minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) (Hetzer ve ark., 2006) 'e göre modifiye edilmiştir.

Mikroorganizma	Sıcaklık (°C)	Cd için MIC değerleri (µM)
<i>Bacillus mycoides</i>	25	> 3,200
<i>B. coagulans</i>	40	80
<i>Brevibacillus borstelensis</i>	40	600
<i>Aneurinibacillus thermoaerophilus</i>	55	80
<i>Bacillus</i> sp.	55	80
<i>B. licheniformis</i>	55	80
<i>B. smithii</i>	55	80
<i>B. smithii</i>	55	80
<i>B. sphaericus</i>	55	200
<i>Brevibacillus brevis</i>	55	80
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	55	400
<i>G. stearothermophilus</i>	55	600
<i>G. thermocatenulatus</i>	55	600
<i>G. thermodenitrificans</i>	55	400
<i>G. thermodenitrificans</i>	55	80
<i>G. thermodenitrificans</i>	55	80
<i>G. thermoglucosidasius</i>	55	600
<i>G. thermoleovorans</i>	55	>3,200
<i>Anoxybacillus flavithermus</i>	60	200
<i>Bacillus caldolyticus</i>	60	400
<i>B. caldovelox</i>	60	200
<i>B. sphaericus</i>	60	200
<i>Geobacillus stearothermophilus</i>	60	200
<i>Bacillus thermantarcticus</i> *	60	410
<i>Anoxybacillus amylolyticus</i> *	61	574
<i>Geobacillus toebii</i> sub sp. <i>decanicus</i>	67	278
<i>G. thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> *	70	49

*İşaretli olanlar bu çalışmada elde edilen verilerdir

Farklı Cd, Co, Cu ve Mn konsantrasyonlarının sıvı besiyerinde 4-24 saat inkübasyon süreçlerinde *Bacillus thermantarcticus*'un üremesi üzerine etkisi Şekil 4.2.1.1 - 4.2.1.4'de görülmektedir. Farklı Cd, Co, Cu ve Mn konsantrasyonlarının sıvı besiyerinde 4-24 saat inkübasyon süreçlerinde *Anoxybacillus amylolyticus*'un üremesi üzerine etkisi ise Şekil 4.2.2.1 - 4.2.2.4'de görülmektedir. Aynı zamanda farklı Cd, Cu, Mn, Ni ve Zn konsantrasyonlarının sıvı besiyerinde 4-24 saat inkübasyon süreçlerinde *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un üremesi üzerine etkisi Şekil 4.2.3.1 - 4.2.3.5'de görülmektedir. Farklı Cd, Cu, Mn, Ni ve Zn konsantrasyonlarının sıvı besiyerinde 4-24 saat inkübasyon süreçlerinde *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un üremesi üzerine etkisi ise Şekil 4.2.4.1 - 4.2.4.5'de görülmektedir.

24 saat inkübasyondan sonra farklı metal konsantrasyonlarının sıvı besiyerinde üreme üzerine etkisi, katı besiyerinde elde edilen MIC değerleri ile karşılaştırılacak olursa bakterilerin sıvı ortamda daha duyarlı oldukları tespit edildi. **Hassen ve ark., (1998b), Yılmaz (2003), Matheickal ve Yu (1998), Hartley ve ark., (1997), ve Vodnik ve ark., (1998)** yaptıkları çalışmalarda bakterilerin sıvı besiyeri ortamında katı besiyeri ortamına göre metallere karşı daha duyarlı olduklarını tespit etmişlerdir. **Hassen ve ark., (1998b)** bakterilerin sıvı kültür ortamında, katı kültür ortamına göre 10-1000 kat daha duyarlı olduklarını belirtmişlerdir. Termofilik bakterilerle yaptığımız çalışmada ise sıvı besiyeri ortamında katı besiyeri ortamına göre yaklaşık 20-450 kat daha duyarlı oldukları belirlendi. Bu durum, metallerin difüzyon ile kompleksasyonlarının katı ortamdaki durumundan daha farklı oluşundan (**Yılmaz, 2003**) ve sıvı ortamda metallerin çözünürlüğünün ve bakterilerin metallerle daha fazla etkileşim içerisinde oluşlarından kaynaklandığını düşündürmektedir

Metal biyoakümülyasyonu deneyleri sonuçları incelenecek olursa; *Bacillus thermoantarcticus* tarafından 24 saatlik inkübasyon sırasında gerçekleştirilen en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi Cd, Co, Cu ve Mn için sırasıyla; 774,8 (20. saat), 620,1 (20. saat), 604,05 (8. saat) ve 24503,07 (8. saat) µg/g kuru bakteri ağırlığı olarak tespit edildi. Bu sonuçlara göre *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyoakümülye edilen en yüksek metal kapasitesi Mn, en düşük metal biyoakümülyasyon kapasitesi ise Cu olduğu belirlendi. *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından 24 saatlik inkübasyon boyunca

gerçekleştirilen en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi Cd, Co, Cu ve Mn için sırasıyla; 507,39 (20. saat), 327,3 (20. saat), 929,68 (20. saat) ve 28566 (20. saat) µg/g kuru bakteri ağırlığı olarak tespit edilmiştir. *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından gerçekleştirilen en yüksek metal biyoakümülyasyon kapasitesi Mn ve en düşük metal biyoakümülyasyon kapasitesinin ise Co olduğu tespit edilmiştir. 24 saatlik inkübasyon sırasında *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından gerçekleştirilen metal biyoakümülyasyon kapasitesi Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn için sırasıyla; 7196,2 (20. saat), 6862,1 (20. saat), 660,3 (20. saat), 36496 (24. saat) ve 17812,5 µg/g kuru bakteri ağırlığı olarak tespit edildi. Bu sonuçlara göre 24 saatlik inkübasyon süresince *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından gerçekleştirilen en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi Zn ve en düşük biyoakümülyasyon kapasitesinin Ni olduğu belirlendi. 24 saatlik inkübasyon süresince *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından gerçekleştirilen metal biyoakümülyasyon kapasitesi Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn için sırasıyla; 1350,7 (20. saat), 771,8 (20. saat), 977,2 (20. saat), 7076 (20. saat) ve 23076,9 (24. saat) µg/g kuru bakteri ağırlığı olduğu belirlendi. Bu sonuçlara göre 24 saatlik inkübasyon süresince *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından gerçekleştirilen en yüksek metal biyoakümülyasyon kapasitesi Mn ve en düşük metal biyoakümülyasyon kapasitesinin Ni olduğu tespit edildi.

Cd için bu dört bakteri varyeteleri içerisinde en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi (7196,2 µg/g kuru bakteri ağırlığı) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından ve en düşük biyoakümülyasyon kapasitesi (507,39 µg/g kuru bakteri ağırlığı) *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından gerçekleştiği belirlendi. Cu için bu dört bakteri varyeteleri içerisinde en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi (6862,1 µg/g kuru bakteri ağırlığı) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından ve en düşük biyoakümülyasyon kapasitesi (604,05 µg/g kuru bakteri ağırlığı) *Bacillus thermoantarcticus* tarafından gerçekleştiği belirlendi. Mn için bu dört bakteri varyeteleri arasından en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi (28566 µg/g kuru bakteri ağırlığı) *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından ve en düşük biyoakümülyasyon kapasitesi (17812,5 µg/g kuru bakteri ağırlığı) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından gerçekleştiği bulundu. Co için en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi (620,1 µg/g kuru bakteri ağırlığı) *Bacillus thermoantarcticus* tarafından ve en düşük biyoakümülyasyon kapasitesi (327,3

$\mu\text{g/g}$ kuru bakteri ağırlığı) *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından gerçekleştirildiği belirlendi. Ni için en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi ($977,2 \mu\text{g/g}$ kuru bakteri ağırlığı) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından ve en düşük biyoakümülyasyon kapasitesi ($660,3 \mu\text{g/g}$ kuru bakteri ağırlığı) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından gerçekleştirildiği belirlendi. Zn için en yüksek biyoakümülyasyon kapasitesi ($36496 \mu\text{g/g}$ kuru bakteri ağırlığı) *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* ve en düşük biyoakümülyasyon kapasitesi ($7076 \mu\text{g/g}$ kuru bakteri ağırlığı) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından gerçekleştirildiği belirlendi. Bu sonuçlara göre, en yüksek metal biyoakümülyasyonu *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından Zn akümülyasyonunda ($36496 \mu\text{g/g}$ kuru bakteri ağırlığı) gerçekleştirildiği ve en düşük metal biyoakümülyasyon kapasitesi *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Co biyoakümülyasyonunda ($327,3 \mu\text{g/g}$ kuru bakteri ağırlığı) gerçekleştirildiği belirlendi.

Hassen ve ark., (1998a), yaptıkları çalışmada *Pseudomonas aeruginosa* tarafından 36 saatlik inkübasyondan sonra Cd ve Cu için sırasıyla biyoakümülyasyon kapasitesini sırasıyla; 6 ve $1,8 \mu\text{g/mg}$ kuru ağırlık olarak tespit etmişlerdir. *Bacillus thuringiensis* tarafından Cd ve Cu biyoakümülyasyon kapasitesini sırasıyla; 5,4 ve $7,3 \mu\text{g/mg}$ kuru ağırlık olarak tespit etmişlerdir. **Haq ve ark., (1999)**, yaptıkları çalışmada endüstriyel atık sulardan izole ettikleri *Enterobacter cloacae* CMCB-Cd1, *Klebsiella* spp. CMBL-Cd2 ve *Klebsiella* spp. CMBL-Cd3 tarafından 24 saatlik inkübasyondan sonra Cd alınımını sırasıyla; 220, 110 ve $110 \mu\text{g/ml}$ olarak belirlemişlerdir. Termofilik *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından gerçekleştirilen Cd biyoakümülyasyon kapasitesinin mezofilik *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus thuringiensis*'den sırasıyla; 1199 ve 1332 kat daha fazla olduğu ve *Enterobacter cloacae* CMCB-Cd1, *Klebsiella* spp. CMBL-Cd2 ve *Klebsiella* spp. CMBL-Cd3'den sırasıyla; 32,71, 16,3 ve 16,3 kat daha fazla olduğu belirlendi. Termofilik *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* bakteri tarafından gerçekleştirilen Cu biyoakümülyasyon kapasitesinin mezofilik *Pseudomonas aeruginosa* ve *Bacillus thuringiensis*'den sırasıyla; 3812,2 ve 940 kat daha fazla olduğu tespit edildi. **Hernandez ve ark., (1998)**, yaptıkları çalışmada petrol rafinerisi toprağından izole ettikleri *Enterobacter cloacae* CNB60 tarafından 100 mg/l 'lik Ni konsantrasyonunda Ni biyoakümülyasyon kapasitesini $6,9 \text{ mg/g}$ olarak bulmuşlardır. **Magyarosy ve ark., (2002)**, yaptıkları çalışmada metalle kontamine

olmuş topraktan izole ettikleri *Aspergillus niger* tarafından 381 mg/l'lik Ni konsantrasyonunda 4 günlük inkübasyondan sonra Ni biyoakümülyasyon kapasitesini 23,5 mg/g olarak belirlemişlerdir. Termofilik *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından gerçekleştirilen Ni biyoakümülyasyon kapasitesinin mezofilik *Enterobacter cloacae* CNB60 'den 1,4 kat daha fazla olduğu ve *Aspergillus niger* tarafından biyoakümüle edilen Ni kapasitesinden 23,7 kat daha az olduğu tespit edildi. **Yılmaz (2005)** yaptığı çalışmada *Bacillus* sp. varyete EB1 tarafından Mn, Zn, Cu, Ni ve Co için biyoakümülyasyon kapasitesini sırasıyla; 25, 22, 20, 13 ve 12 mg/l olarak tespit etmiştir. Bu çalışmada elde edilen Mn, Zn, Cu, Ni ve Co en yüksek biyoakümülyasyon kapasitelerini mezofilik *Bacillus* sp. varyete EB1 ile karşılaştırılırsa; Mn ve Zn için sırasıyla; 1,1 ve 1,6 kat daha fazla olduğu, Cu, Ni ve Co için sırasıyla; 2,9, 13,3 ve 19,3 kat daha az olduğu tespit edildi.

Hetzer ve ark., (2006) termofilik ve gram pozitif bakteriler olan *Geobacillus stearothermophilus* ve *G. thermocatenulatus* türlerinin hücre duvarı içindeki ve üzerindeki fonksiyonel gruplar tarafından Cd²⁺ kompleksasyonunu karakterize etmek amacıyla daha ileri düzeyde elektroforetik mobilite, potentiometrik titrasyonu ve Cd²⁺ adsorbisyonu deneyleri için seçmişlerdir ve yaptıkları çalışmada sonuç olarak, mezofilik bakteriler için önceki raporlarla kıyaslandığında burada araştırılan her iki termofilik varyeteler için kadmiyum biyosorpsiyonuna farklı bir fonksiyonel grup türünün dahil edilebileceğini gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Yapılan çalışmalar göstermektedir ki, kullanılan mikroorganizmanın hücre tipi ve içerdiği temel bileşenler metal adsorbisyon mekanizmasını belirlemektedir. Canlı hücrelerle yapılan ağır metal çalışmalarında, hücre membranından karşılıklı taşınım, hücre duvarlarında biyosorpsiyon ve hücre dışı kapsüllerle tutulma, çökelme, kompleks oluşumu ve oksidasyon-redüksiyon mekanizmalarının da içerisinde bulunduğu bir dizi mekanizmayla reaksiyon verirler (**Dönmez ve Aksu 2001**).

Yaptığımız çalışma Cd, Co, Cu, Ni, Mn ve Zn metallerinin çalışılan bakteriler tarafından biyoakümülyasyon kapasitelerinin gelişim döngüsünün farklı evrelerinde değişkenlik gösterdiğini ve maksimum kapasitenin ise genel anlamda durağan fazın sonunda (20. saatte) gerçekleştiği tespit edildi. Literatüre bakıldığında, **Maceskie ve**

Dean (1984), ve Volesky ve ark., (1993), yaptıkları çalışmalarda mikrobiyal hücrelerin metal biyoakümülyasyon kapasitelerinin gelişim fazlarının farklı dönemlerine değişkenlik gösterdiğini rapor etmişlerdir. Aynı şekilde **Yılmaz (2003)**, yaptığı çalışmada Mn, Zn, Cu, Ni ve Co'nun metal tolerant bakteri *Bacillus circulans* ırk EB1 tarafından metal biyoakümülyasyon kapasitelerinin gelişim fazlarının farklı dönemlerine değişkenlik gösterdiğini saptamıştır. Bu veriler elde ettiğimiz sonuçlarla benzerlik göstermektedir.

24 saatlik üreme sürecinde, bakteriler tarafından metal biyoakümülyasyonunun değişkenlik göstermesi, alımın aktif mekanizma ile kontrol edildiğini aynı zamanda hücrelerin canlı ve aktif bir metabolizmaya sahip oldukları için metal alımında, dirençlilik ile alım mekanizmalarının birlikte rol aldığını düşündürmektedir. Ayrıca, çalışılan bu bakteri hücrelerinin metallerle etkileşime gireceği zaman ya stoplazmik membranda bazı komformasyonel değişiklikler yaparak, iyonlara karşı hücrelerini giderek geçirgen olmayan duruma getirebilirler ya da geliştirdikleri tanıma mekanizmalarıyla, zararlı divalent katyonları hücre için gerekli olanlardan ayırarak (Mn^{+2} , Ca^{+2} , Mg^{+2}) zararlı metallerin hücre içerisine bu kanallarla sızmasını önleme yoluyla sağlıyor olabilirler (**Kondo ve ark., 1974**). Yaptığımız biyoakümülyasyon çalışmasında da Zn ve Mn biyoakümülyasyonunun Cd, Ni ve Cu'a kıyasla daha fazla olduğunu tespit ettik. Ayrıca, Cd, Co, Cu ve Ni alımının düşük olması muhtemel dışarı atım sistemlerini akla getirmektedir. Örneğin; Cd^{+2} iyonlarının dışarı atımından sorumlu olan ve daha önce *Bacillus*'larda varlığı tespit edilen CadA P-tipi ATPaz da olduğu gibi.

Bakteriler tarafından sentezlenen ekstrasellüler polisakkaritler aynı zamanda çeşitli katyonların toksisitesine karşı dirençte de görev alır. Bu tarz bakteriler geniş çeşitlilikteki metalleri akümüle etme eğilimindedir (**Srinath ve ark. 2002**). Ekzopolisakkaritler ile metal katyonları arasındaki etkileşimden, ekzopolisakkaritlerin yapısında yer alan asitik fonksiyonel gruplar sorumludur. (**İyer ve ark., 2005**). Bu ekzopolisakkaritlerin üreme periyodu ile sentezinin değişebileceği ve bunun biyoakümülyasyonu etkileyebileceği zannedilmektedir. Araştırmacıların belirttiği bu mekanizmanın, yaptığımız çalışmada da görev almış olabileceğini düşünmekteyiz.

Bu çalışmada ayrıca, kurutulmuş ölü *Bacillus thermoantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* hücrelerinin üzerine metal iyonlarının biyosorpsiyonu için pH, sıcaklık, başlangıç metal iyon konsantrasyonu, biyokütle miktarı, zaman ve çalkalama hızı gibi faktörlerin etkileri araştırıldı.

Bacillus thermoantarcticus ve *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Cd, Cu, Co ve Mn biyosorpsiyonu ve *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn biyosorpsiyonu üzerine farklı pH değerlerinin (2,0-10,0) etkisi belirlendi. *Bacillus thermoantarcticus*, tarafından farklı pH değerlerinin (2,0-10,0) Cd, Cu, Co ve Mn biyosorpsiyonu üzerine etkisi Tablo 4.3.1.'de görülmektedir. *Bacillus thermoantarcticus*'un optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Co ve Mn için sırasıyla 4,0, 4,0, 5,0 ve 6,0 olduğu tespit edildi. Farklı pH değerlerinin (2,0-10,0) *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Cd, Cu, Co ve Mn biyosorpsiyonu üzerine etkisi Tablo 4.3.3.'de görülmektedir. Buna göre optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Co ve Mn için sırasıyla; 5,0, 4,0, 5,0 ve 6,0 olduğu belirlendi. Tablo 4.3.5.'de farklı pH değerlerinin *Geobacillus toebii* sub.sp.*decanicus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir. Buna göre optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn için sırasıyla 6,0, 4,0, 4,0, 5,0 ve 6,0 bulundu. Tablo 4.3.7.'de farklı pH değerlerinin *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir. Buna göre optimum biyosorpsiyon pH değerleri Cd, Cu, Ni, Zn 4,0 ve Mn için 5,0 belirlendi. Sonuç olarak bu termofilik mikroorganizmalarla yapılan biyosorpsiyon çalışmasında optimum pH değerlerini 4,0-6,0 aralığında olduğu tespit edildi. Birçok araştırmacı, mezofilik bakteri, mikrofungus ve alglerin yer aldığı mikroorganizmalarla ilgili çalışmalarda benzer sonuçlar elde etmişlerdir. **Leung ve ark., (2000)**, hem Gram pozitif (*Micrococcus*) hem de Gram negatif (*Pseudomonas*) bakterileri ile beş farklı ağır metal için (Cu, Ni, Zn, Pb ve Cr) bu bakterilerin biyosorpsiyon kapasitesinin optimum pH:5,0 olduğunu belirlemişlerdir. **Al-Garni, (2005)**, hem kapsülsüz (*Citrobacter freundii*) hem de kapsüllü (*Klebsiella pneumoniae*) bakterilerin kurşun biyosorpsiyonunu karakterize etmiştir ve test edilen iki bakterinin optimum kurşun biyosorpsiyon pH'sını 4,0 olarak tespit etmiştir. **Elmacı ve ark.,**

(2005), yaygın olarak kullanılan 3 alg türünün (*Chara* sp., *Cladophora* sp. ve *Chlorella* sp.) Zn(II), Cd(II), Co(II) ağır metallerinin biyosorpsiyonu için en iyi giderimin sağlandığı optimum pH *Cladophora* sp. ile yapılan çalışmada Cd(II), Zn(II) ve Co(II) için sırasıyla; 6,0, 5,0 ve 5,0; *Chara* sp. ile yapılan çalışmada 6,0, 5,0 ve 6,0; *Chlorella* sp. ile yürütülen çalışmada 5,0, 6,0 ve 5,0 olarak belirlemiştir. **Ianis ve ark., (2006)**, *Penicillium cyclopium* canlı hücreleri ile Cu biyosorpsiyonu çalışmış ve optimum pH'yı 4,5 olarak bulmuşlardır. **Çabuk ve ark., (2007)** *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin Cu(II) iyonu giderim yetenekleri üzerine pH'nın etkisini çalışmışlar ve optimum pH'yı 5,0 olarak belirlemiştir. **Elmacı ve ark., (2007)**, ölü alg hücrelerinden *Chara* sp. ve *Cladophora* sp. kullanılarak Cu^{+2} , Cr^{+3} , Ni^{+2} , Pb^{+2} 'nin sulu çözeltilerinden biyosorpsiyonu için, optimum pH değerlerini *Cladophora* sp. için; sırasıyla 6,0, 7,0, 7,0 ve 3,0, *Chara* sp. için; 5,0, 3,0, 5,0 ve 4,0 olarak tespit etmişlerdir.

Değişik mikroorganizmalar tarafından biyosorpsiyon verimliliğinde pH'nın çok önemli bir faktör olduğunu rapor edilmiştir. Metal-mikroorganizma etkileşimlerinde ortamın pH değeri, metalin formunu ve hücrede bulunan, metal ilgisine sahip olan fonksiyonel grupları, hücre yüzeyi ve hücre duvarı kimyasının negatif ağıni önemli derecede etkilemesi nedeniyle biyosorpsiyon süreçlerinde önemli bir parametredir (**Zouboulis ve ark., 2004; Çabuk ve ark., 2007**). Düşük asidik pH değerlerinin metal adsorpsiyonu için daha uygun olduğu görülmektedir (**Aslan ve ark., 2007**). Düşük pH değerlerinde, bağlanma bölgeleri için asit hidroliz ürünleri ile metal katyonları arasındaki yarışmadan dolayı metal adsorpsiyonunun düşmesi oldukça ilginçtir (**Green-Ruiz ve ark., 2008**). Yüksek solüsyon pH'sında, metal bileşiklerin çözünürlüğü çökelmeye neden olacak bir şekilde azalır ve bu durum sorpsiyon işlemlerini zorlaştırabilir (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**). Metal alımının pH'a bağlı olması sorpsiyon ortamının yüzeyindeki protonlar ve metal katyonları arasındaki rekabetle ilgilidir. Hücre yüzeyleriyle metal arasındaki bu farklı kimyasal etkileşmeler sonucunda metal iyonları için çeşitli pH'larda farklı tutma kapasiteleri olabilmektedir. Metal alımı ve pH arasındaki ilişki bakteriyel hücre duvarındaki çeşitli fonksiyonel gruplara bağlı olarak değişmektedir. Adsorpsiyon ortamının pH'sı metal iyonlarının mikroorganizma yüzeyine adsorpsiyonunu etkileyen en önemli parametredir (**Green-Ruiz ve ark., 2008**). Farklı pH'larda farklı adsorpsiyon hızlarının elde edilmesi metal iyonları ile

biyokütle arasındaki kimyasal etkileşimin bir sonucudur. Düşük pH'larda hücre yüzey yükü pozitifdir ve H_3O^+ iyonları hücreye bağlanmak için pozitif metal katyonları ile yarıştıklarından hızı azaltıcı etki gösterirler. Karboksil, fosfat, imidazol ve amino grupları gibi ligandların iyonik hali metal katyonlarının biyokütleyle bağlanmasını hızlandırır (Aslan ve ark., 2007).

Bacillus thermoantarcticus ve *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Cd, Cu, Co ve Mn biyosorpsiyonu ve *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn biyosorpsiyonu üzerine farklı sıcaklık değerlerinin (30-80 °C) etkisi belirlendi. Tablo 4.3.2.'de farklı sıcaklık değerlerinin *Bacillus thermantarcticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir. Tablo 4.3.2' ye göre Cd, Cu, Co ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değeri bakterinin optimum üreme sıcaklığı olan 60 °C olduğunu belirlendi. 30-80 °C sıcaklık arasında metal biyosorpsiyonunda önemli bir değişimin olmadığını belirlendi. Buna sonuçlara göre Cd için sırasıyla; 17,52 ve 17,71, Cu için sırasıyla; 9,42 ve 8,32, Co için sırasıyla; 6,40 ve 6,15 ve Mn için sırasıyla 10,15 ve 10,53 mg metal/g kuru ağırlık olarak tespit edildi. *Anoxybacillus amylolyticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine farklı sıcaklık değerlerinin etkisi Tablo 4.3.4.'de görülmektedir. Tablo 4.3.4.'e göre Cd, Cu, Co ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değeri bakterinin optimum üreme sıcaklığı olan 60 °C olduğunu tespit edildi. 30-80 °C sıcaklık arasında metal biyosorpsiyonunda önemli bir değişimin olmadığını belirlendi. Buna göre Cd için sırasıyla; 14,22 ve 14,13, Cu için sırasıyla; 7,25 ve 7,12, Co için sırasıyla; 5,42 ve 5,43 Mn için sırasıyla 5,32 ve 5 mg metal/g kuru ağırlık olarak tespit edildi. Tablo 4.3.6.'da farklı sıcaklık değerlerinin *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir. Buna göre Cd, Ni, ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değeri 70 °C olduğu Cu ve Zn için ise sırasıyla; 60 ve 80 °C olduğu bulundu. 30-80 °C sıcaklık arasında metal biyosorpsiyonunda önemli bir değişimin olmadığını belirlendi. Bu sonuçlara göre Cd için sırasıyla; 14,48 ve 15,65, Cu için sırasıyla; 7,77 ve 7,70, Ni için sırasıyla; 5,85 ve 6,05, Zn için sırasıyla; 9 ve 12,68 ve Mn için sırasıyla; 6,17 ve 6,75 mg metal/g kuru ağırlık olduğunu belirlendi. Tablo 4.3.8.'de *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in metal biyosorpsiyonu üzerine farklı sıcaklık değerlerinin etkisi görülmektedir. Tablo 4.3.8.'e göre Cd, Ni, Zn

ve Mn için optimum biyosorpsiyon sıcaklık değerinin 70 °C olduğu, Cu için ise 60 °C olduğu bulundu. 30-80 °C sıcaklık arasında metal biyosorpsiyonunda önemli bir değişimin olmadığını belirlendi. Bu sonuçlara göre Cd için sırasıyla; 17,66 ve 16,82, Cu için sırasıyla; 14,47 ve 14,54, Ni için sırasıyla; 9,55 ve 11,57, Zn için sırasıyla; 12,72 ve 15,67 ve Mn için sırasıyla; 11,11 ve 12,32 mg metal/g kuru ağırlık olarak tespit edildi. Bu sonuçlar, bu çalışmada kullanılan termofilik bakterilerin normal yüksek olmayan sıcaklıklarda biyosorpsiyon çalışmalarında kullanılabilirliğini göstermektedir.

Mikrobiyal hücrelerle metal biyosorpsiyonunda gerçekleşen enerjiye bağlı mekanizmalardan dolayı adsorpsiyon ortamının sıcaklığı önemlidir. Bazı endotermik adsorpsiyonlardan bahsedilmiş olsa da çoğu adsorpsiyon işlemleri egzotermik süreçlerdir. Düşük sıcaklıklardan başlayarak sıcaklığın artırılması ile biyosorbent yüzeyindeki porların genişlemesiyle biyosorpsiyon hızı artmaktadır (Aslan ve ark., 2007). Sıcaklık biyosorbent ile metal iyonları arasındaki ilişkiyi etkiler ve bunu genellikle solüsyondaki metal iyonlarının stabilitesini, metal-sorbent kompleksinin stabilitesini ve hücre duvarının kimyasal birimlerinin iyonizasyonunu etkileyerek gerçekleştirir (Mack ve ark., 2007). Sıcaklığın metal biyosorpsiyonunda solüsyonun pH'sından daha az etkili olduğu tespit edildi. Sıcaklığın 60 °C'ye kadar yükselmesi termofillerin sorpsiyon kapasitesinde biraz artırmıştır. Çalışılan termofilik bakteriler tarafından optimum metal uzaklaştırım sıcaklığı 60 °C olan optimum üreme sıcaklıklarına yakın olması ilginçtir. Mezofilik bakteriler için, adsorpsiyon reaksiyon sıcaklığının belli bir dereceye kadar artmasıyla artabilir, belli bir sıcaklıktan sonra adsorpsiyon düşer (Şahin and Öztürk, 2005; Burnett et al., 2006; Öztürk, 2007; Green-Ruiz ve ark., 2008).

Anoxybacillus flavithermus, *Geobacillus thermocatenulatus* and *G. stearothermophilus* gibi termofilik bakterilerin hücre duvarı kompozisyonları mezofilik bakterilerden farklılık ihtiva eder ve böylece onların hücre duvarları üzerinde ve içerisinde farklı kimyasal reaktif fonksiyonel gruplar bulundurur (Burnett et al., 2006; Hetzer et al., 2006). Burnett ve ark. (2006), özellikle bakteriler için 30-75 °C arasındaki sıcaklık değerlerinde protonasyon davranışı ve böylece metal adsorpsiyonunun değişebileceğini ileri sürmelerine rağmen, bu çalışma, yüksek sıcaklık

(30-80 °C) etkisinin termofilik bakterilerde metal biyosorpsiyonu üzerine olan ilk çalışmadır ve test edilen en yüksek sıcaklık ile en düşük sıcaklık arasında önemli değişim olmadığı tespit edildi.

Bacillus thermoantarcticus ve *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Cd, Cu, Co ve Mn biyosorpsiyonu ve *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn biyosorpsiyonu üzerine farklı metal konsantrasyonlarının (10-300 mg/l) etkisi incelendi.

Şekil 4.3.1.'de farklı ağır metal (Cd, Cu, Co ve Mn) konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir. Şekilden anlaşılacağı üzere başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Cd miktarı 3,87'den 33,16 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 97,26'dan % 29,6'ya azaldığı belirlendi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Cu miktarı 2,16'dan 20,3 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 54,21'den % 17,17'ye azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Co miktarı 3,28'den 11,42 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 75,37'den % 9,37'ye azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Mn miktarı 3'den 21,75 mg/g kuru ağırlık'a yükselirken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 76,42'den % 18,42'ye azaldığı tespit edildi. Başlangıç metal konsantrasyonunun 10 mg/l'den 300 mg/l'ye yükselmesiyle benzer sonuçlar diğer üç bakteri varyetesinde de belirlendi.

Sağ ve Kutsal, (2000), Özdemir ve ark., (2003), Al-Garni (2005), Şahin ve Öztürk, (2005), Han ve ark., (2006), Parvathi ve ark., (2007) ve Çabuk ve ark., (2007), yaptıkları biyosorpsiyon çalışmalarında benzer sonuçlar bularak artan başlangıç metal konsantrasyonuna bağlı olarak biyosorpsiyon kapasitesinin (mg metal g kuru bakteri ağırlığı) arttığını tespit etmişlerdir. Yüksek başlangıç metal konsantrasyonları,

yüksek metal alınımına neden olarak biyosorpsiyon üzerine etkiye sahip olduğu görülür (Vijayaraghavan ve Yun, 2008). Bunun nedeni muhtemelen bakteri hücre yüzeyindeki bağlanma bölgeleri ve metal iyonları arasındaki elektrostatik etkileşimlerin arttığı iddia edilmektedir (Al-Garni, 2005). Bununla birlikte, artan başlangıç metal konsantrasyonuna bağlı olarak biyosorbe edilen metal yüzdesinde bir azalmanın olduğu bilinmektedir. Materyal Metod'da belirtilen formüle bakteri tarafından biyosorbe metal miktarı (mg metal/g kuru bakteri) süpernatant üzerinden hesaplanarak belirlendi. Bunun doğruluğunu tayin etmek için optimum koşullarda Cd ve Mn biyosorpsiyon çalışmalarında hem süpernatant hem de direkt bakteri peleti çözünürleştirilerek biyosorbe edilen metal miktarı belirlendi (Şekil 3.4.). Bu sonuçlara göre Cd için Materyal ve Metod'da belirtilen formüle ve hücre pelet sonuçlarını *Bacillus thermantarcticus* için sırasıyla; 17,75 ve 18,1 mg metal/g kuru ağırlık ve *Anoxybacillus amylolyticus* için sırasıyla; 12,15 ve 13,75 mg metal/g kuru ağırlık olarak birbirleriyle örtüştüğü belirlendi.

Bacillus thermoantarcticus ve *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Cd, Cu, Co ve Mn biyosorpsiyonu ve *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn biyosorpsiyonu üzerine kurutulmuş ölü biyokütle miktarının (0,25-10 g/l) etkisi incelendi.

Şekil 4.3.2.'de *Bacillus thermoantarcticus*'un farklı biyokütlelerinin metal biyosorpsiyonu üzerine etkisi görülmektedir. Biyokütle miktarı 0,25'den 10 g/l'ye arttırıldığında *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Cd miktarı 35,25'den 4,54 mg/g kuru ağırlık'a düşerken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 17,78'den % 91,79'a arttığı belirlendi. Biyokütle miktarı 0,25'den 10 g/l'ye arttırıldığında *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Co miktarı 24,8'den 3,61 mg/g kuru ağırlık'a düşerken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 12,36'dan % 72,22'e arttığı tespit edildi. Biyokütle miktarı 0,25'den 10 g/l'ye arttırıldığında *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Cu miktarı 19,95'den 3,08 mg/g kuru ağırlık'a düşerken uzaklaştırılan metal yüzdesi % 10,71'den % 66,34'e arttığı belirlendi. Biyokütle miktarı 0,25'den 10 g/l'ye arttırıldığında *Bacillus thermoantarcticus* tarafından biyosorbe edilen Mn miktarı 19,5'den 4,14 mg/g kuru ağırlık'a düşerken uzaklaştırılan metal yüzdesi %

10,02'den % 85,33'e arttığı belirlendi. Biyokütle miktarı 0,25'den 10 g/l'ye arttırıldığında benzer sonuçlar diğer üç bakteri varyetesinde de belirlendi.

Al-Garni, (2005), Tawfik ve ark., (2005), Han ve ark., (2006), Ianis ve ark., (2006) ve Parvathi ve ark., (2007), yaptıkları biyosorpsiyon çalışmasında artan biyosorbent miktarına bağlı olarak uzaklaştırılan metal miktarının arttığını fakat g mikroorganizma başına düşen mg metalin azaldığını belirtmişlerdir. Pekçok örnekte, düşük biyosorbent miktarı yüksek alım ve düşük yüzde uzaklaştırma etkinliği meydana getirmiştir. Biyokütle konsantrasyonundaki bir artış biyosorbe olmuş metalin miktarını arttırır. Bunun sebebi artan biyosorbente bağlı olarak bağlanma bölge sayılarının artışıdır (**Burnett ve ark., 2006; Han ve ark. 2006**). Diğer bir taraftan biyosorbent birim ağırlığı başına biyosorbe edilen metalin miktarı, biyosorbent miktarının artışı ile azalır ki bu durum çeşitli faktörlerin karmaşık etkileşimlerinden dolayı olabilir. Ayrıca, artan biyosorbent miktarından dolayı bağlanma bölgelerinin arasındaki etkileşim, düşük alınımına neden olacağı için etkili olmayabilir. (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**).

Bacillus thermoantarcticus ve *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından Cd, Cu, Co ve Mn biyosorpsiyonu ve *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* tarafından Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn biyosorpsiyonu üzerine zamanın (15-120 dakika) etkisi incelendi. Şekil 4.3.3., Şekil 4.3.6., Şekil 4.3.9. ve Şekil 4.3.12. incelendiğinde *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* tarafından Cd biyosorpsiyonu hariç artan zamana bağlı olarak g bakteri başına düşen mg metal miktarında 15. dakikadan sonra çok fazla bir artışın olmadığı bulunmuştur. Örneğin; *Bacillus thermoantarcticus* ve *Anoxybacillus amylolyticus* tarafından 120 dakikalık etkileşim boyunca biyosorbe edilen Cd'un sırasıyla; % 97,36 ve 95,3'ünü ilk 15 dakikada tuttuğu tespit edildi.

Rho ve Kim, (2002), metal adsorbisyon reaksiyonlarının oldukça hızlı, pH'ya bağımlı ve kültür yaşından bağımsız olduğunu tespit etmişler ve bu durumu ağır metal iyonları ile hücre duvarı komponentleri arasındaki fizikokimyasal reaksiyonları ile olabileceğini düşünmüşlerdir. **Ianis ve ark. (2006),** *Penicillium cyclopium* canlı hücreleri ile Cu'ın biyosorpsiyonu çalışmışlar ve *P. cyclopium* tarafından alınan toplam

Cu iyonlarının büyük bir çoğunluğu ilk 5 dakika içerisinde hücre yüzeyinde biriktirildiğini bulmuşlardır (% 75). Geriye kalan % 25'lik kısım sonraki 50 dakika içerisinde hücreye bağlandığını tespit etmişlerdir. **Çabuk ve ark.(2007)** endüstriyel olarak alkol üretiminde aktif olarak kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin Cu(II) iyonu giderim yetenekleri test etmişler ve en yüksek Cu(II) biyosorpsiyon kapasitesine (58,8 mg/g) pH 5,0 değerinde, 5 dakika gibi kısa bir sürede ve 200 mg/l başlangıç Cu(II) iyon konsantrasyon değerinde ulaşmışlardır.

Ölü kurutulmuş hücreler tarafından metal uzaklaştırılmasında zamanın etkisi önemlidir. Literatüre göre ölü hücreler tarafından mezofilik organizmalarda metal iyonlarının adsorpsiyonu metabolizmadan bağımsız hücre duvarına pasif bağlanmayla 5-15 dakika içerisinde gerçekleşir (**Şahin and Öztürk, 2005**). Bağlanma bölgelerine metal solüsyonlarındaki metallerin transferinde çeşitli aşamalardan bahsedilmiştir. En önemlisi ve en hızlı olanı birkaç dakika içerisinde biyokütle hücre duvarına metal iyonlarının bütünüyle transferinin gerçekleştiği birinci fazdır. Bu durumun nedeni yatay akışkan hareket ve çalkalamadan dolayıdır (**Weber, 1985; Gadd, 1988; Al-Garni, 2005**). *Bacillus thermoantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* termofilik bakterileri ile metal biyosorpsiyonu üzerine zamanın (15-120 dakika) etkisi mezofilik bakterilerle yapılan çalışmalara benzerlik gösterdiğini ve zaman tasarrufu açısından avantaj sağladığı tespit edildi.

Bacillus, *Pseudomonas*, *Streptomyces* gibi bakteri sınıfları iyi metal biyosorbent oldukları yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (**Sağlam ve Cihangir, 1995**). Tablo 5.2'de farklı bakteriler ve bu çalışmada kullanılan bakteriler tarafından çeşitli ağır metallerin biyosorpsiyon kapasiteleri görülmektedir. Bu sonuçlara göre; bu çalışmada kullanılan termofilik karakterdeki bakteri varyetelerinin metallerle kontamine olmuş atık suların iyileştirilmesinde biyoteknolojik anlamda önemli bir potansiyele sahip olabilir.

Tablo 5.2. Farklı Bakteriler Tarafından Çeşitli Ağır Metallerin Biyosorpsiyonu (Ahluwalia ve Goyal, 2007; Aslan ve ark., 2007; Vijayaraghavan ve Yun, 2008)'e göre modifiye edilmiştir.

Metal	Bakteri	Alım (mg/g)	
Cd	<i>Bacillus circulans</i>	26,5	
	<i>Enterobacter</i> sp. J1	46,2	
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PU21	42,4	
	<i>Pseudomonas putida</i>	8	
	<i>Streptomyces pimprina</i>	30,4	
	<i>Streptomyces rimosus</i>	64,9	
	<i>Streptomyces noursei</i>	3,4	
	<i>Bacillus thermantarcticus</i> *	35,25	
	<i>Anoxybacillus amylolyticus</i> *	23	
	<i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> *	38,2	
	<i>Geobacillus toebii</i> sub sp. <i>decanicus</i> *	30,25	
	Cu	<i>Bacillus</i> sp. (ATS-1)	16,3
		<i>Bacillus subtilis</i> IAM 1026	20,8
<i>Micrococcus luteus</i> IAM 1056		33,5	
<i>Pseudomonas putida</i>		6	
<i>Pseudomonas stutzeri</i> IAM 12097		22,9	
<i>Streptomyces coelicolor</i>		66,7	
<i>Zoogloea ramigera</i>		29	
<i>Streptomyces noursei</i>		9	
<i>Thiobacillus thiooxidans</i>		39,84	
<i>Bacillus thermantarcticus</i> *		20,3	
<i>Anoxybacillus amylolyticus</i> *		13,7	
<i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> *		38,4	
<i>Geobacillus toebii</i> sub sp. <i>decanicus</i> *		33	

*İşaretli olanlar bu çalışmada elde edilen verilerdir.

Metal	Bakteri	Alım (mg/g)
Ni	<i>Bacillus thuringiensis</i>	45,9
	<i>Streptomyces rimosus</i>	32,6
	<i>Streptomyces noursei</i>	0,8
	<i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> *	35,55
	<i>Geobacillus toebii</i> sub sp. <i>decanicus</i> *	19,45
Zn	<i>Pseudomonas putida</i>	6,9
	<i>Pseudomonas putida</i> CZ1	17,7
	<i>Streptomyces rimosus</i>	30
	<i>Streptomyces noursei</i>	1,6
	<i>Streptoverticillium cinnamomeum</i>	21,3
	<i>Thiobacillos ferrooxidans</i>	82,6
	<i>Geobacillus thermoleovorans</i> sub.sp. <i>stromboliensis</i> *	36,5
Co	<i>Geobacillus toebii</i> sub sp. <i>decanicus</i> *	21,8
	<i>Streptomyces noursei</i>	36
	<i>Bacillus thermantarcticus</i> *	24,8
	<i>Anoxybacillus amylolyticus</i> *	15,85

*İşaretli olanlar bu çalışmada elde edilen verilerdir.

Şekil 4.5. Cd'un çalkalamalı ve statik olarak farklı bakteri varyetelerinde biyosorpsiyonunun karşılaştırılmasını göstermektedir. Şekil 4.5.'e göre *Bacillus thermoantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ve *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus* için statik ve çalkalamalı olarak elde edilen Cd biyosorpsiyon deney sonuçlarına göre, çalkalamalı olarak yapılan biyosorpsiyon çalışmasının statik olarak yapılan biyosorpsiyon çalışmasına nazaran Cd biyosorpsiyonunda fark olduğu ve çalkalamalı ortamın daha etkili olduğu tespit edildi. Çalkalama hızının artmasıyla birlikte biyosorbentin yüzey tabakası çok incelik ve bu da genellikle yüzey tabakaya metalin diffüzyon oranının artışıyla sonuçlanır (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Tablo 4.6.'da farklı Cd konsantrasyonlarına maruz kalan canlı ve kurutulmuş ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un hücre membranında metal biyosorpsiyonu görülmektedir. Her iki tip hücre için artan metal konsantrasyonuna bağlı olarak membranda biriken mg metal miktarında artış olduğu bulundu. Ölü hücrelerin, canlı hücrelere nazaran membranlarında daha fazla metal biyosorbe ettiği tespit edildi.

Örneğin; 7,32 mg/l Cd varlığında canlı ve ölü hücre membranında biyosorbe edilen Cd miktarı sırasıyla; 17,44 ve 46,2 mg/g membran olarak bulundu. Genelde hücre membranlarına metal bağlanması hızlı ve yüksek verimlilik gösterirken hücrenin stoplazmasında ki bölgelerde çok yavaş ve düşük verimliliktedir (**Sağlam ve Cihangir, 1995**).

XAD-4 reçinesi üzerine tutturularak gerçekleştirilen immobilizasyon çalışmaları için, daha önce yapılan biyosorpsiyon deneylerinde en etkin biyosorpsiyon yeteneği gösteren *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* bu uygulama için seçildi. Tablo 4.7.1. XAD-4 üzerine tutturulmuş ölü (kurutulmuş) bakteri *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in immobilizasyonu yöntemiyle Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nun prekonsantrasyonunu göstermektedir. Tablo 4.7.1.'de görüldüğü gibi Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn için prekonsantrasyon faktörü 125 olarak tespit edildi. Cd, Cu, Mn ve Zn metalleri için geri kazanım yüzdeleri % 100 olarak, Ni için ise % 97,5 olarak tespit edildi.

Bağ ve ark., (1999), *A. niger*'in sepiolit üzerine tutuklanması ile gerçekleştirilen Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd'un geri kazanımları % 95'lik güven seviyesiyle sırasıyla % 98,03 ±0,2, % 98±0,5, % 98± 0,4, % 96,4 ±0,8, % 94±0,6 olarak bulmuşlardır. **Baytak ve Türker (2005)**, Amberlit XAD-4 üzerine tutuklanmış *Agrobacterium tumefaciens* ile yaptıkları prekonsantrasyon çalışmasında Fe⁺³, Co⁺², Mn⁺² ve Cr⁺³ için prekonsantrasyon faktörünü 25 olarak tespit etmişlerdir. Optimum koşullar altında Fe⁺³, Co⁺², Mn⁺² ve Cr⁺³'un geri kazanımları % 95'lik güven seviyesinde sırasıyla % 99±3, % 99±2, % 98±3 ve % 98±3 olarak bulmuşlardır. **Doğru ve ark., (2007)**, Amberlit XAD-4 üzerine tutuklanmış *Bacillus subtilis* ile yaptıkları prekonsantrasyon çalışmasında Cu⁺² ve Cd⁺² için prekonsantrasyon faktörünü 50 olarak bulmuşlardır.

Tablo 4.7.2. XAD-4 üzerine tutturulmuş ölü (kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in immobilizasyonu yöntemiyle Cd tutma kapasitesini göstermektedir. XAD-4 üzerine tutturulmuş ölü (kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd⁺² tutma kapasitesi 3800 µg g⁻¹ (0,034 mmol) olarak tespit edildi. **Doğru ve ark., (2007)**, Amberlit XAD-4 üzerine tutuklanmış

Bacillus subtilis ile yaptıkları immobilizasyon çalışmasında Cu^{+2} ve Cd^{+2} için reçinenin tutma kapasitesini sırasıyla; 0,0297 ve 0,035 mmol g^{-1} olarak tespit etmişlerdir.

Tablo 4.7.3. XAD-4 üzerine tutturulmuş ölü (kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in immobilizasyonu yöntemiyle doğal atık sularda bulunan bazı metallerin (Cd, Cu ve Ni) prekonsantrasyonunu göstermektedir. Maden Bakır İşletmesinin, atık sularının akıtıldığı Maden Çay'ından alınan su numunesinde Cd, Cu, Mn, Ni ve Zn elementlerinin seviyesinin belirlenmesi için prekonsantrasyon işleminden önce Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'sinde ölçüm yapıldı. Bu elementlerden Mn ve Zn seviyeleri Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre'sinde tespit edildiğinden Cd, Cu ve Ni seviyelerini kolondan geçirilerek prekonsantre edildikten sonra su örneğinde bulunan Cd, Cu ve Ni elementlerinin seviyeleri Tablo 3.7.3.'de görüldüğü gibi sırasıyla; 0,375, 20,43 ve 4,542 $\mu g l^{-1}$ olarak tespit edildi.

Sonuç olarak, immobilizasyon çalışmasında kullanılan *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in atık sularda bulunan ve AAS ile tespit edilemeyen doğal ve sentetik sulardaki metallerin prekonsantrasyon yöntemi ile geri kazanımları ve seviyelerinin belirlenmesinde ve ağır metal ile kirletilmiş atık sulardan bu metallerin uzaklaştırılmasında biyoteknolojik anlamda önemli bir kullanım alanına sahip olabilir.

Bu çalışmada test edilen 4 bakteri varyetesinde ayrı alım kapasiteleri gösterdiğini tespit ettik. **Costa ve Duta, (2001)**, da yaptıkları çalışmada farklı mezofilik *Bacillus* varyetelerinin ayrı alım kapasiteleri gösterdiğini belirtmişlerdir.

Yapılan bu çalışmada tespit edilen MIC değerleri ile ifade edilen metal tolerans seviyeleri ile biyoakümülyasyon ve biyosorpsiyon arasında bir ilişki olmadığı tespit edildi. Metallere karşı en duyarlı varyete olan *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*, yapılan biyosorpsiyon çalışmasında en etkili adsorpsiyon yeteneği gösterdiği bulundu. **Rho ve Kim (2002)**, yaptıkları çalışmada metal tolerat varyetelerin en zayıf adsorbe edici aktivite gösterdiğini ve bu durumu metal

biyosorpsiyonunun metal tolerans tabanlı olmadığını belirtmişlerdir. **Çabuk ve ark., (2007)**, endüstriyel olarak alkol üretiminde aktif olarak kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin Cu(II) iyonu giderim yetenekleri ve besiyerindeki Cu(II) dirençlilikleri araştırmışlardır. Ayrıca hem katı hem de sıvı besiyerinde *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin Cu(II) iyonlarına karşı toleransı incelenerek biyosorpsiyon özelliği ile ilişkilendirmeye çalışmışlar ve sonuç olarak metal toleransı ile biyosorpsiyon arasında bir ilişkinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Yaptığımız çalışmada genel anlamda canlı hücreler tarafından biyoakümüle edilen metal miktarının ölü hücreler tarafından biyosorbe, edilen metal miktarından daha az olduğu belirlendi. Benzer çalışmalarda ölü veya canlı hücrelerin metal alabilme kapasiteleri karşılaştırılmış, çoğu kez ölü durumdaki mikroorganizmanın daha yüksek adsorplama kapasitesine sahip olduğu gözlenmiş ve buna neden olarak ölü hücre yüzeyinin yapısındaki değişiklikler gösterilmiştir (**Tsezos ve Volesky, 1981**). Canlı ve ölü hücreler arasındaki biyosorpsiyon farkı iki sebepten kaynaklanıyor olabileceği rapor edilmiştir. Birincisi, canlı hücreler metabolik olarak aktif olduklarından hücrelerin, negatif yüzeyleri için, ağır metal iyonlarının "H⁺"larla rekabet etme" olabileceği veya bir bakterinin ölü biyokütlesinde, serbest kalan makromoleküller (proteinler, nükleik asitler, ve karbonhidratlar) ve inorganik bileşenlerin metal bağlayıcı anyonik yüzeyler oluşturabileceğinden kaynaklanabilir (**El-Helow ve ark., 2000**). Buna ilaveten, canlı hücrelerde metal dışarı atım sistemleri, dirençlilik mekanizmaları ve detoksifikasyon mekanizmalarının da canlı hücrelerin ölü hücrelere nazaran daha az metal biyoakümüle etme kapasitesi göstermesine neden olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca canlı hücrelerle yapılan metal biyoakümüleyon çalışmalarında hücre ve besi ortamı arasındaki redoks reaksiyonları sonucunda pH artabilir ve bundan dolayı metal alımı azalabilir (**Srinath ve ark., 2002**). Canlı biyokütleyle nazaran ölü biyokütle kullanılması bazı avantajları olduğu rapor edilmiştir. Ölü hücreler; uzun süre oda sıcaklığında saklanabilirler, metal toksisitesinden etkilenmezler ve besine ihtiyaç duymazlar (**Göksungur ve ark. 2003**).

Serbest ölü hücre kapasitesiyle, immobilize olmuş ölü hücre kapasitesi karşılaştırılması halinde; serbest ölü hücre biyosorpsiyon kapasitesinin daha fazla

olduğu görülmektedir (**İleri ve ark., 1994**). Bunun sebebi, immobilize edilmiş hücrelerin biyosorpsiyon oranının daha yavaş olmasıdır. Dolayısıyla bununla ilgili olarak; biyofilm kalınlığı ve biyofilm yüzey alanının etkisi de işin içine girmektedir (**Tsezos ve Deutschman, 1990**). Ayrıca immobilize edilmiş hücrelerin biyosorpsiyon kapasitesinin daha az olmasına sebep olarak da, immobilize edilmiş biyokütlede konveksiyonel ve diffüzyonel problemlerin olabileceğidir. Bu avantaja rağmen, serbest ölü hücre kullanımı daha zordur. Hücrelerin biyosorpsiyon-desorpsiyon olayı ve tekrar tekrar kullanılması açısından immobilize ölü hücre kullanmak daha avantajlı bulunmakta ve endüstriyel uygulanabilirliği açısından birçok avantajlarında olduğunu belirtmek gerekir (**İleri ve ark. 1994**).

Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar göstermiştir ki; *Bacillus thermoantarcticus*, *Anoxybacillus amylolyticus*, *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*, ve *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd, Co, Cu, Mn, Ni ve Zn metalleri ile kirletilmiş atık suların biyoteknolojik arıtımında etkin önemli anlamda bir kullanım alanına sahip olabilir.

Bugüne kadar yapılan metal dirençliliği, biyoakümüasyonu ve biyosorpsiyon çalışmaları genel olarak mezofilik mikroorganizmalar kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Termofilik mikroorganizmalar üzerinde metal adsorpsiyon reaksiyonları böylelikle bugüne kadar çalışılan mezofilik türlerden kalitatif ve kantitatif önden farklılık gösterebilir. Büyük ölçüde jeolojik ve antropojenik termal çevreler çözülmüş metallerin yüksek yoğunluklarını sergilemektedir. Bu durumlara karşılık olarak bu habitatlardan izole edilen mikroorganizmaların kendilerine özgü hücre duvar yapıları olabilir (**Hetzer ve ark., 2006**). Son zamanlarda **Burnet ve ark., (2006)** ve **Hetzer ve ark., (2006)**, tarafından yapılan birkaç çalışma termofilik bakterilerde metal adsorpsiyon davranışlarına yüzey kompleksasyon teorisi ve metal dirençlilik çalışmalarını uygulanmışlardır. Bununla birlikte, termofilik bakteriler tarafından metal biyoakümüasyonu, biyosorpsiyon ve immobilizasyon çalışmalarına yönelik araştırma mevcut değildir.

Biosorbsiyon mekanizmaları ile ağır metallerinin uzaklaştırılması ve gerikazanımı, çevre ve ekonomik bakış açısından oldukça önemlidir. Metal uzaklaştırılmasında termofilik bakterilerin daha etkin bir şekilde kullanılabilmesi için, bu bakterilerdeki metal adsorbsiyon mekanizmaları üzerine daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu ortadadır. Bu mikroorganizmaların, diğer yoğun bir şekilde çalışılmış olan mikroorganizmalardan farklı olabilecek metal alım ve dirençlilik mekanizmalarının veya hücre duvarı yapılarının ortaya konması açısından bu çalışmanın ileri çalışmalara ön veri sağlayabileceği düşüncesindeyiz. Böylece, termofilik mikroorganizmalar ile ilgili çalışmalar, tamamiyle mezofilik mikroorganizmalara dayalı metal dirençlilik ve metal biyosorpsiyonu ile ilgili mevcut bilgilerimizi tamamlayabilir.

6. REFERANSLAR

ABERHART A.R., LARSON G.L., MATHEWS J.R., 1984. Heavy metals in surficial sediments of Fontana Lake, North Carolina. 18: 351–354.

AGENCY FOR TOXIC SUSTANCES AND DISEASE REGISTRY

www.atsdr.cdc.gov/tfacts33.html

AHLUWALIA S.S., GOYAL D., 2007. Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater. Biores. Techn. 98. 2243–2257.

AKAR T., CABUK A., TUNALI S., YAMAC M. 2006. Biosorption Potential of The Macro-Fungus *Ganoderma carnosum* for Removal of Lead(II) Ions From Aqueous Solutions. J. Of Environ. Sci. and Health, Part A Toxic/Hazardous Substance & Environmental Engineering. 41:2587-2606.

AKHMALOKA. A., SUHARTO. S., NURBAITI. I.N. WARGANEGARA. F.M., 2006. Ribotyping Identification of thermophilic Bacterium from Papandayan Crater. Proc. Itb. Eng. Science. Vol 38: 1-10.

AKSU. Z. AND KUTSAL, T., 1991. Bioseparation Process for Removing Lead (II) Ions from Waste Water by Using *C.vulgaris*. J. Chem. Tech. Biotech. 52:109-118.

AL-GARNI, S.M., 2005. Biosorption of lead by Gram-ve capsulated and non-capsulated bacteria, Water SA. 31: 789-796.

ALLURI H.K., RONDA S.R., SETTALLURI V.S., BONDILI S.J., SURYANARAYANA, V. AND VENKATESHWAR P., 2007. Biosorption: An eco-friendly alternative for heavy metal removal. African J. of Biotech. 6: 2924-2931.

ALKAN U., ELEREN S. Ç., ODABAŞ E., 2006. Cr⁺⁶ ve Zn⁺² Metallerinin Aktif Çamur Sistemine Toksik Etkileri. Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi. 2:93-102.

AL-QUNAIBIT M., KHALIL M., AL-WASSIL A., 2005. The effect of solvents on metal ion adsorption by the algal *Chlorella vulgaris*. Chemosphere. 60:412-418.

ANSARI M.I., MALIK A., 2007. Biosorption of nickel and cadmium by metal resistant bacterial isolates from agricultural soil irrigated with industrial wastewater. Bioresource Technology. 98: 3149–3153

ARDA M., 2000. Temel Mikrobiyoloji. Genişletilmiş İkinci Baskı. Medisan Yayın Serisi no 46. Medisan Yayınevi. Ankara.

ASLAN S., BOZKURT Z., TEKELİ A.N., 2007. Cu (II), Ni (II), Cd (II) ve Cr (VI) İyonlarının Sulu Çözeltilerden Biyosorpsiyon Yöntemi İle Giderilmesi. Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi. 25: 209-222.

BAG H., LALE M., TURKER A.R., 1999. Determination of iron and nickel by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized sepiolite. Talanta. 47:689–696.

BAGOT D., LEBEAU T., JEZEQUEL K., 2006. Microorganisms for remediation of cadmium-contaminated soils. Environ. Chem.Lett. 4: 207–211.

BAI R.S., ABRAHAM T.E., 2003. Studies on chromium(VI) adsorption–desorption using immobilized fungal biomass. Biores. Technol. 87:17–26.

BALDWIN D.R., MARSHALL W.J., 1999. Heavy Metal Poisoning and Its Laboratory Investigation., (Review Article), Annals of Clinic. Bioche., 36: 267-300.

BANAT I.M., MARCHANT R. AND RAHMAN T.J., 2004. *Geobacillus debilis* sp. nov., a novel obligately thermophilic bacterium isolated from a cool soil environment, and reassignment of *Bacillus pallidus* to *Geobacillus pallidus* comb. nov. Int. J. of Sys. and Evol. Microbio. 54:2197–2201.

BAŞ A.L., DEMET Ö., 2006. Çevresel Toksikoloji Yönünden Bazı Ağır Metaller. Ekoloji. 5: 42–45.

BAŞKAYA, H.S. VE TEKSOY, A., 1997. Topraklarda ağır metaller ve ağır metal kirliliği. I. Uludağ Çevre Mühendisliği Sempozyumu. Bursa, 763-771.

BAYRAMOĞLU G., CELİK G., YALCIN E., 2005. Modification of surface properties of *Lentinus sajor-caju* mycelia by physical and chemical methods: evaluation of their Cr⁶⁺ removal efficiencies from aqueous medium. J. Hazard. Mater. 119:219-229.

BAYTAK S., TURKER A.R., 2004. Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Manganese in Alloys after Preconcentration onto Amberlite XAD-4 Loaded with *Saccharomyces carlsbergensis*. Turk J. Chem. 28:243-253.

BAYTAK S., TURKER A.R., 2005. The use of *Agrobacterium tumefaciens* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent for the column preconcentration of iron (II), cobalt(II), manganese(II), and chromium(III). Talanta. 65:938–945.

BEOLCHINI F., PAGNANELLI F., TORO L., VEGLIÒ F., 2003. Biosorption of copper by *Sphaerotilus natans* immobilised in polysulfone matrix: equilibrium and kinetic analysis. Hydrometallurgy. 70:101–12.

BEYERSMAN D., HECHTENBERG S., 1997. Cadmium, gene regulation, and cellular signalling in mammalian cells. Toxicol. Appl. Pharmacol., 144: 247-267.

BIGERSSON B., STERNER O., ZIMERSON E., 1988. Chemie und Gesundheit Eine Verst ändliche Einführung in die Toxikologie, VCHV erlagsgesellschaft, ISBN 3–527–26455.

- BILGEHAN H., 2002. Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi. Meta Basım. Fakülteler Kitabevi, Barış yayınları. 4-10.
- BLACK J.G., 1996. Microbiology Principles and Applications. Prentice-Hall. New Jersey, USA. Chapter. 10:247-264.
- BOYANOV M.I., KELLY S.D., KEMNER K.M., BUNKER B.A., FEIN J.B., AND FOWLE D.A., 2003. Adsorption of cadmium to *Bacillus subtilis* bacterial cell walls: A pH-dependent X-ray absorption fine structure spectroscopy study. Geochi. et Cosmochi. Acta. 67: 3299-3311.
- BREIEROVA E., VAJCIKOVA I., SASINKOVA V., 2002. Biosorption of Cadmium Ions by Different Yeast Species. Z. Naturforsch. 57:634-639.
- BREWER G.J, DICK R.D, JOHNSON V.D, FINK J.K, KLUIN K.J, DANIELS.S. 2001. Treatment of Wilson's disease with zinc XVI: treatment during the pediatric years. J. Lab. Clin. Med. 137:191–198.
- BURG B.V.D., 2003. Extremophiles as a source for novel enzymes. Curr. Opi. in Microbio. 6:213–218.
- BURNETT P.G.G., DAUGHNEY C.J., PEAK D., 2006 Cd adsorption onto *Anoxybacillus flavithermus*: Surface complexation modeling and spectroscopic investigations. Geo. et Cosm. Acta. 70:5253–5269.
- CABUK A., AKAR T., TUNALI S., TABAK O., 2006. Biosorption Characteristics of *Bacillus* sp. ATS-2 Immobilized in Silica Gel for Removal of Pb(II). J. Hazard. Mater. 136: 317-323.
- CEYLAN, S., ŞANLI, Y., 1980. Çevre ve besin kirlenmesi. Gıda Bil. Teknol. Derg. 3: 76-92.

CHATTERJEE N., 2006. Biosorption of cadmium by fungi. Master Of Science In Biotechnology. Department Of Biotechnology & Environmental Sciences. Thapar Institute Of Engineering And Technology. Patiala

CHEN H., AND PAN S.S., 2005. Bioremediation potential of spirulina: toxicity and biosorption studies of lead. J. Zhejiang Univ. Sci B. 6:171-174.

CHOUDHURY R., SRIVASTAVA S., 2001. Zinc resistance mechanisms in bacteria, Curr. Sci. 81:768- 775.

CLAUSEN C.A., 2000. Isolating metal-tolerant bacteria capable of removing copper, chromium, and arsenic from treated wood. Waste Manage Res. 18:264-268.

CORAL M.N.U., KORKMAZ H., ARIKAN B., CORAL G., 2005. Plasmid mediated heavy metal resistance in *Enterobacter* spp. Isolated from Sofulu landfill, in Adana, Turkey,. Ann. of Microbio. 55: 175-179.

COSTA, A.C.A., AND DUTA F.P., 2001. Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium, and lead by *Bacillus sp.*, *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus*, and *Bacillus subtilis*. Braz.J. Microbiol. 32: 876-887.

COSTA, A.C.A., AND LEITE S.G.F., 1991. Metal biosorption by sodium alginate immobilized *Chlorella homosphaera*. Biotechnol. Lett. 13:559-562.

CRIST R.H., OBERHOLSER K., SHANK K., NGUYEN M., 1981. Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls. Environ. Sci. Technol. 15: 1212-1217.

CROWE J, DOBELI H, GENTZ R, HOCHULI E, STUBER D, HENCO K., 1994. 6×His-Ni-NTA chromatography as a superior technique in recombinant protein expression/purification. Humana Press. 31:371–387.

ÇABUK A., AKAR T., KOTLUK Z., ŞAŞMAZ S., 2007. *Saccharomyces cerevisiae* Hücreleri ile Ağır Metal Giderimi ve Metal Toleransı. Orlab On-Line Mikrobiol. Dergisi. 3: 1-7.

DAVIS T.A., VOLESKY B., VIEIRA R.H.S.F., 2000. *Sargassum* seaweed as biosorbent for heavy metals. Water Res., 34:4270-4278.

DAVIS T.A., VOLESKY B., MUCCI A., 2003. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by Brown algae. Water Res., 37: 4311-4330.

DE VRIJ. W., BULTHUIS. R.A., AND KONINGS. W.N., 1988. Comparative Study of Energy-Transducing Properties of Cytoplasmic Membranes from Mesophilic and Thermophilic *Bacillus* Species. J. Of Bacte. 170: 2359-2366.

DE J., RAMAIAH N., 2006. Characterization of marina bacteria highly resistance to mercury exhibiting multiple resistances to toxic chemicals. Eco. Indica. 235: 1-10.

DEMIRJIAN D.C., VARAS F.M., CASSIDY C.C., 2001. Enzymes from extremophiles. Curr. Opi. in Chemi. Bio. 5: 144-151.

DENG X., YI X.E., LIU G., 2007. Cadmium removal from aqueous solution by gene-modified *Escherichia coli* JM109. J. of Hazard. Mat. 139:340:344.

DENKHAUS E., SALNIKOW K., 2002. Nickel essentiality, toxicity, and carcinogenicity. Critical Reviews in Onc./Hem. 42: 35–56.

DEREKOVA A., SJOHOLM C., MANDEVA R., KAMBOUROVA M., 2007. *Anoxybacillus rupiensis* sp. Nov., a Novel Thermophilic Bacterium Isolated from Rupi Basin (Bulgaria). Extremophiles.10:1-4.

DOGRU M., GUL-GUVEN R., ERDOGAN S., 2007. The use of *Bacillus subtilis* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination J. of Hazard. Mat. 149:166–173.

DOĞRU M.İ., 2007. Ağır Metal ve Adrenomedullin Uygulamasının Bazı Sıçan Dokularında Antioksidant Savunma Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi. İnönü Üniversitesi. Malatya.

DOMINGO J.L., 1994. Metal-induced developmental toxicity in mammals. *J. Toxicol. Environ. Health.* 42:123–41.

DONMEZ G., AKSU Z., 2001. Bioaccumulation of copper (II) and nickel (II) by the non-adapted and adapted growing *Candida* spp. *Water Res.* 35:135-142.

DONMEZ R., 2006. Doğal Kil Mineralleri Kullanarak Atık Sulardan Kurşun (II) İyonunun Adsorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi. Celal Bayar Üniversitesi. Manisa.

DRAKE L.R., AND RAYSON G.D., 1996. Plant-Derived Materials for Metal Ion-Selective Binding and Preconcentration. *Anal. Chem.* 1:22-27.

D'SOUZA D.R., MORGAN R.D., PARASHAR V., CAPALASH N. AND SHARMA P. 2004. Characterization of BfII – a thermostable, Co⁺⁺-requiring isoschizomer of BsiYI from *Anoxybacillus flavithermus*. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* vol. 20:593–598.

DUFFUS J.H., Worth H.G.J., 1996. Fundamental toxicology for chemists, Cambridge, UK : Royal Society of Chemistry Information Services.

DUNDAR Y., ASLAN R., 2005. Yaşamı Kuşatan Ağır Metal Kurşunun Etkileri. Kocatepe Tıp Dergisi. 6:1-5.

EL BAYAUMY, M.A., 2002. Biosorption Of Heavy Metals Mixture By Biomass Of Sulfate Reducing Bacteria. Annual Conference of the Canadian Society for Civil Engineering.

EL-HELOW E.R., SABRY S.A., & AMER R.M., 2000. Cadmium biosorption by a cadmium resistant strain of *Bacillus thuringiensis*: regulation and optimization of cell surface affinity for metal cations. *BioMetals* 13: 273–280.

ELMACI A., YONAR T., ÖZENGİN N., TÜRKÖĞLU H., 2005. Zn(II), Cd(II), Co(II) ve Remazol Turkish Blue-G Boyar Maddesinin Sulu Çözeltilerinde Kurutulmuş *Chara* sp., *Cladophora* sp. Ve *Chlorella* sp. Türleri İle Biyosorpsiyonun Araştırılması. Ekoloji. 55: 24–31.

ELMACI A., YONAR T., OZENGİN N., 2007. Biosorption Characteristics of Copper (II), Chromium (III), Nickel (II), and Lead (II) From Aqueous Solutions By *Chara* sp. And *Cladophora* sp. Water Environ. Res. 79: 1000-1005.

FATH M.J., KOLTER R., 1993. ABC-transporters: the bacterial exporters. Microbiol. Rev. 57:995–1017.

FERNANDEZ-LEBORANS G, AND HERRERO Y.O., 2000. Toxicity and Bioaccumulation of Lead and Cadmium in Marine Protozoan Communities. Ecotox. and Environ. Safety. 47:266-276.

FORTINA M.G., MORA D. SCHUMANN P., PARINI C., MANACHINI P.L. AND STACKEBRAND E., 2001. Reclassification of *Saccharococcus caldxylosilyticus* as *Geobacillus caldxylosilyticus* (Ahmad *et al.* 2000) comb. nov. Inter. J. of Sys. and Evo. Microbiol. 51: 2063–2071.

FREEMAN J.L., PERSANS M.W., NIEMAN K., AND SALT D.E., 2005. Nickel and Cobalt Resistance Engineered in *Escherichia coli* by Over-expression of Serine Acetyltransferase from the Nickel Hyperaccumulator Plant *Thlaspi goesingense*. Appl. And Envir. Microbiol. 71:8627–8633.

FUJITA. M., KANEHISA. M., 2005. Comparative Analysis of DNA-Binding Proteins between Thermophilic and Mesophilic Bacteria. Genome Informatics. 16:174-181.

GADD, G.M. 1990. Heavy Metal Accumulation by Bacteria and other Microorganisms. Experientia. 46:834-840.

GALARIS D., EVANGELOU A., 2002. The role of oxidative stress in mechanisms of metal induced carcinogenesis. Critical Reviews in Onc./Hem. 42: 93–103.

GAZSO L.G., 2001. The Key Microbial Processes in the Removal of Toxic Metals and Radionuclides from the Environment. Cejoem; 7: 178-185.

GERBER G.B., LEONARD A., HANTSON P.H., 2002. Carcinogenicity, mutagenicity and teratogenicity of manganese compounds. Critical Reviews in Onc./Hem. 42:25–34.

GINISTY P., BESNAINOU B., SAHUT C., AND GUEZENNEC J., 1998. Biosorption of cobalt by *Pseudomonas halodenitrificans*: influence of cell wall treatment by alkali and alkali-earth metals and ion-exchange mechanisms. Biotechnology Lett. 20:1035-1039.

GLASFELD E. AND SCHIMMEL P., 1997. Zinc-dependent tRNA binding by a peptide element within a tRNA synthetase. Biochemistry. 36: 6739–6744.

GOKSUNGUR Y., UREN S., GUVENC U., 2003. Biosorption of Copper Ions by Caustic Treated Waste Baker Yeast Biomass. Turk. J. Biol. 27:23-29.

GOLAB Z., BREITENBACH M., 1995. Sites of copper binding in *Streptomyces pilosus*. Water Air Soil. Pollut. 82:713–21.

GOURDON R., BHENDE S., RUS E., SOFER S., 1990. Comparison Of Cadmium Biosorption By Gram-Positive And Gram Negative Bacteria From Activated Sludge. Biotechnol. Lett. 12:839–842.

GREEN-RUIZ C., TIRADO V.R., GIL B.G., 2008. Cadmium and zinc removal from aqueous solutions by *Bacillus jeotgali*: pH, salinity and temperature effects. Bioresource Technology. 99:3864–3870.

GUPTA G., AND KEEGAN. B., 1997. Bioaccumulation and Biosorption of Lead by Poultry Litter Microorganisms. Poultry Science. 77: 400–404.

GUPTA R., AHUJA P., KHAN S., SAXENA R.K., AND MOHAPATRA H., 2000. Microbial biosorbents: Meeting challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. Current Science. 78:967–973.

GÜL, R., 1992. Atıksulardaki ağır metallerin killi topraklarla giderilmesi. Ekoloji-Çevre Dergisi. 4:20-22.

GÜVEN K., Dicle Üniversitesi Basımevi, Biyokimyasal ve Moleküler Toksikoloji; 1999.

HABASHI F., 1997. "Handbook of Extractive Metallurgy", Vol. 2, WILEY-VCH, Germany.

HAN, N.S., SEO J.R., CHUNG Y.C., 1992. Growth and copper resistance of recombinant *Saccharomyces cerevisiae* containing a metallothionein gene. Biotechnol. Lett., 14:7-11.

HAN R., LI H., LI Y., ZHANG J., XIAO H., SHI J., 2006. Biosorption of copper and lead ions by waste beer yeast. J. Of Hazard. Mat. 137:1569-1576.

HAQ R, ZAIDI S.K., SHAKOORI A.R., 1999. Cadmium resistant *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella* sp. isolated from industrial effluent and their possible role in cadmium detoxification. World J. Microbiol Biotechnol. 15:283-290.

HARTLEY E., CAIRNEY J.W.G., MEHARG A.A., 1997. Do Ectomychorrhizal Fungi Exhibit Adaptive Tolerance to Potentially Toxic Metals in The Environment?. Plant and Soil. 189:303-319.

HASSEN A., SAIDI N., CHERIF M. & BAUDABOUS A., 1998 (a). Resistance of environmental bacteria to heavy metals. Bioresource Technology. 64:7-15.

HASSEN. A., SAIDI. N., CHERIFH. M. & BOUDABOUS A., 1998 (b). Effects Of Heavy Metals on *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus thuringiensis*. Bioresource Technology. 65: 73-82.

HERNANDEZ A., MELLADO R.P., MARTÍNEZ J.L., 1998. Metal accumulation and vanadium-induced multidrug resistance by environmental isolates of *Escherichia hermannii* and *Enterobacter cloacae*. Appl. Environ. Microbiol. 64:4317-4320.

HETZER A., DAUGHNEY C.J., AND MORGAN H.W., 2006. Cadmium Ion Biosorption by the Thermophilic Bacteria *Geobacillus stearothermophilus* and *G. thermocatenulatus*. Appl. And Environ. Microbiol. 72:4020–4027.

HSIEH J.L., CHEN C.Y., CHANG J.S., ENDO G., HUANG C.C., 2007. Overexpression of a Single Membran Component from the *Bacillus mer* Operon Enhanced Mercury Resistance in an *Escherichia coli* Host. Biosci. Biotechnol. Biochem. 71:1494-1499.

HU M.Z.C., REEVES M., 1997. Biosorption of uranium by *Pseudomonas aeruginosa* strain CSU immobilized in a novel matrix. Biotechnol Prog., 13:60–70.

HU. Q., QI. H., BAI. Z., DOU. M., ZENG J., ZHANG F., ZHANG H., 2007. Biosorption of cadmium by a Cd²⁺ hyperresistant *Bacillus cereus* strain HQ-1 newly isolated from a lead and zinc mine. World J. Microbiol Biotechnol. 23:971–976.

HUANG C.C., SU C.C., HSIEH J.L., TSENG C.P., LIN P.J., CHANG J.S., 2003. Polypeptides for heavy-metal biosorption: capacity and specificity of two heterogeneous MerP proteins. Enzyme and Micro. Techn.33:379-385.

HUSSEIN H., IBRAHIM S. F., KANDEEL K., 2004. Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas sp* Electro. J. of Biotechnol. 1:38-46.

IANIS M., TSEKOVA K., VASILEVA S., 2006. Copper Biosorption By *Penicillium Cycloium*: Equilibrium And Modelling Study. Biotechnol. & Biotechnol. Eq. 20:195-201.

ILHAN S., NOURBAKSH N.M., KILIÇARSLAN S., OZDAĞ H., 2004. Removal of chromium, lead and copper ions from industrial wastewaters by *Staphylococcus saprophyticus*. Turkish Electro. J. of Biotechnol. 2: 50-57.

IYER A., MODY K., JHA B., 2005. Biosorption of heavy metals by a marine bacterium. Marine Poll. Bull. 50:340–343.

İLERİ R., SÜMER B., ŞENGÖRÜR B., 1993. Biyosorpsiyon Kinetiği ve İzotermlerinin Araştırılması. Ekoloji. 7: 39-45.

İLERİ R., SÜMER B., ŞENGÖRÜR B., 1994. Atıksulardaki bakır (II) iyonlarının biyosorpsiyon ile uzaklaştırılması. Ekoloji. 11:16-21.

JAIN S.K, VASUDEVAN P. AND JHA N.K., 1990. *Azolla pinnata* RBr. and *Lemna minor* L. for removal of lead and zinc from polluted water. Water Res. 24:177-182

JANSTOVA B., LUKASOVA J., DRAKOVA M., VORLOVA L., 2004. Influence of *Bacillus spp.* Enzymes on Ultra High Temperature-treated Milk Proteins. Acta Vet. Brno. 73:393–400.

JÄRUP L., 2003. Hazards of heavy metal contamination. British Medi. Bulletin. 68:167–182.

JONES P., KORTENKAMP A., O'BRIEN P., WANG G., YANG G., 1991. Evidence for the generation of hydroxyl radicals from chromium(V) intermediate isolated from the reaction of chromate with glutathione. Arch. Biochem. Biophys., 286:652–655.

KAEWCHAI S., AND PRASERTSAN P., 2002. Biosorption of heavy metal by thermotolerant polymer-producing bacterial cells and the bioflocculant. Songklanakarın J. Sci. Technol. 24:421-430.

KANAMARU K., KASHIWAGI S., MIZUNO T., 1995. A copper-transporting P-type ATPase found in the thylakoid membrane of the cyanobacterium *Synechococcus* species PCC7942. Mol. Microbiol. 13: 369–377.

KATALAY S., PARLAK H., ARSLAN Ö.Ç., 2005. Ege Denizinde Yaşayan Kaya Balıklarının (*Gobius niger L.*, 1758) Karaciğer Dokusunda Bazı Ağır Metallerin Birikimi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi. 22:385–388.

KAYHAN F.E., 2006. Su Ürünlerinde Kadmiyumun Biyobirikimi ve Toksisitesi. E.Ü. Su Ürünleri Dergisi. 23:215-220.

KAWANISHI S., INOUE S., AND YAMAMOTO K., 1994. Active Oxygen Species in DNA Damage Induced by Carcinogenic Metal Compounds. Env. Health Persp. 102:17-20.

KEVBRIN. V.V., LYSENKO K.Z.A.M., WIEGEL. J., 2005. *Anoxybacillus kamchatkensis sp. nov.*, a Novel Thermophilic Facultative Aerobic Bacterium with a Broad pH Optimum from The Geysir Valley, Kamchatka. Extremophiles. 9:391-398.

KIM S.U., CHEONG Y.H., SEO D.C., HUR J.S., HEO J.S. AND CHO J.S., 2007. Characterisation of heavy metal tolerance and biosorption capacity of bacterium strain CPB4 (*Bacillus spp.*). Water Sci. & Technol. 55: 105–111.

KOCAER F.O., BAŞKAYA H.S., 2003. Metallerle Kirlenmiş Toprakların Temizlenmesinde Uygulanan Teknolojiler. Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi. 8:121-131.

KOLENBRANDER P.E., ANDERSEN R.N., BAKER R.A., JENKINSON H.F., 1998. The adhesion-associated sca operon in *Streptococcus gordonii* encodes an inducible high-affinity ABC transporter for Mn²⁺ uptake. J. Bacteriol., 180: 290-295.

KOMEDA H., KOBAYASHI M., SHIMIZU S., 1997. A novel transporter involved in cobalt uptake. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94:36–41.

- KONDO I., ISHIKAWA T., NAKAHARA H., 1974. Mercury and Cadmium Resistance Mediated by the Penicillinase Plasmid in *Staphylococcus aureus*. J. Bacteriol. 117: 1-7.
- KOTRBA P., DOLECKOVA L., LORENZO V.D., AND RUMML T., 1999. Enhanced Bioaccumulation of Heavy Metal Ions by Bacterial Cells Due to Surface Display of Short Metal Binding Peptides. Appl. And Environ. Microbiol. 65:1092-1098.
- KURODA M., DEY S., SANDERS O.I., ROSEN B.P., 1997. Alternate energy coupling of ArsB, the membrane subunit of the Ars anion-translocating ATPase. J. Biol. Chem. 272: 326–331.
- KUISIENE N., RAUGALAS J. AND CHITAVICHIOUS D., 2004. *Geobacillus lituanicus* sp. nov. Inter. J. of Sys. and Evo. Microbiol. 54:1991–1995
- KUISIENĖ N., RAUGALAS J., ČITAVIČIU D., 2007. Identification of *Geobacillus stearothermophilus* by restriction digestion with AluI of the amplified 16S rDNA. Biologija 53:62-66.
- LALE M., SAHIN N., TEMOCIN Z., 2005. Fe⁺² İyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* İmmobilize Edilmiş Ponza Taşı İle Adsorpsiyonu. G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi, 18:365-373.
- LALITAGAURI R., SUBHAM P., DEBABRATA B, AND PARIMAL C., 2000. Bioaccumulation of Pb (II) from aqueous solutions by *Bacillus cereus* M16. J. for Haz. Subst. Research. 5:516-529.
- LEBEAU T., BAGOT D., JEZEQUEL K., FABREA B., 2002. Cadmium biosorption by free and immobilised microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: effects of Cd, pH and techniques of culture. The Sci. of the Total Environ., 291: 73–83.
- LEE Y.A., HENDSON M., PANOPOULOS N.J., SCHROTH M.N., 1994. Molecular cloning, chromosomal mapping, and sequence analysis of copper resistance genes from *Xanthomonas campestris* pv. *juglandis*: homology with small blue copper proteins and multicopper oxidase. J. Bacteriol. 176:173–188.

LEUNG W.C., WONG M.F., CHUA H., LO W., YU P.H.F., AND LEUNG C.K., 2000. Removal and recovery of heavy metals by bacteria isolated from activated sludge treating industrial effluents and municipal wastewater. Water Sci. & Technol. 41:233–240.

LIOLIOU E.E., PANTAZAKI A.A., KYRIAKIDIS A.D., 2004. *Thermus thermophilus* genome analysis: benefits and implications. Microbial Cell Factories. 5:1-3.

LIU H., CHEN B., LANA Y., CHENGA Y., 2004. Biosorption of Zn(II) and Cu(II) by the indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. Chem. Engineering J. 97: 195–201.

LIU Y., BORCHERT G.L., DONALD S.P., SURAZYNSKI A., HU C., WEYDERT C.J., OBERLEY L.W., PHANG J.M., 2005. MnSOD inhibits proline oxidase-induced apoptosis in colorectal cancer cells. Carcinogenesis. 26:1335-1342.

LIU J., ROSEN B.P., 1997. Ligand interactions of the ArsC arsenate reductase., J. Biol. Chem. 272:21084–21089.

LOAEC M., OLIER R. and GUEZENNEC J., 1997. Uptake Of Lead, Cadmium and Zinc By A Novel Bacterial Exopolysaccharide. War. Res. 31:1171-1179.

MACASKIE E.L., DEAN A.C., 1984. Cadmium Accumulation by a *Citrobacter* sp. J. Of General Microbiol. 132: 53-62.

MACK C., WILHELMI B., DUNCAN J.R., BURGESS J.E., 2007. Biosorption of precious metals. Biotechnology Advances, 25:264-271.

MADENCİL

<http://ekutup.dpt.gov.tr/madencil/metalmad/oik638.pdf>

MADIGAN M.T., MARTINKO M.J., PARKER J., 2003. Brock Biology of Microorganisms. 10.th edition. Pearson Education, Inc. Upper Saddle River, NJ 07458.

MADRID Y., AND CAMARA C., 1997. Biological substrates for metal preconcentration and speciation. Trends in Analy. Chem., 16:36-44.

MAGYAROSY A., LAIDLAW R.D. KILAAS R., ECHER C., CLARK D.S., 2002. Nickel accumulation and nickel oxalate precipitation by *Aspergillus niger*. Appl. Microbial. Biotechnol. 59:382-388.

MALIK A., 2004. Metal bioremediation through growing cells. Environment International. 30:261-278.

MALKOÇ E., NUHOĞLU Y., 2006. Palamut Meşesi (*Quercus ithaburensis*) Atığı ile Sabit Yataklı Kolonda Cr(VI) Biyosorpsiyonu, D.E.Ü. Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi. 8:31-45.

MAQUIEIRA A., ELMAHADI H.A.M., AND PUCHADES R., 1994. Use of *Saccharomyces cerevisiae* in Flow Injection Atomic Absorption Spectrometry for Trace Metal Preconcentration. Anal. Chem. 66:1462-1467.

MATHEICKAL J.T., YU Q., 1997. Biosorption of Lead(II) from Aqueous Solutions by *Pheillus badius*. Miner. Eng. 10:947-957.

MATPAN F., 2007. Diyadin (Ağrı) Sıcak Su Kaynaklarından Bakteri İzolasyonu ve Bazı Enzimleri Üzerinde Çalışmalar. Yüksek Lisans Tezi. Dicle Üniversitesi. Diyarbakır.

MCCALL K.A., HUANG C. AND FIERKE C.A., 2000. Function and Mechanism of Zinc Metalloenzymes. Journal of Nutrition. 130:1437-1446.

METALLERİN ÇEVRESEL ETKİLERİ I

www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf

METALLERİN ÇEVRESEL ETKİLERİ II

www.metalurji.org.tr/dergi/dergi137/d137_4651.pdf

MULLEN M.D., WOLF D.C., FERRIS F.G., BEVERIDGE T.J., FLEMMING C.A., AND BAILEY G.W., 1989. Bacterial Sorption of Heavy Metals. Appl. And Environ. Microbiol. 55: 3143-3149.

MULLER J., SIGEL R.K.O., LIPPERT B., 2000. Heavy metal mutagenicity: insights from bioinorganic model chemistry. J. of Inorg. Biochem. 79:261–265.

MULLER L., 1991. Consequences of cadmium toxicity in rat hepatocytes: mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation. Toxicology. 67:285–92.

NAKAJIMA., A., TSURUTA. T., 2004. Competitive biosorption of thorium and uranium by *Micrococcus luteus*. J. of Radioanaly. and Nuclear Chem. 260:1,13-18.

NASULEWICZ A., MAZUR A., OPOLSKI A., 2004. Role of copper in tumour angiogenesis-clinical implications. J. of Trace Elements in Medic. and Bio. 18:1–8.

NAVARRO C., WU L.F., MANDRAND-BERTHELOT M.A., 1993. The nik operon of *Escherichia coli* encodes a periplasmic binding-protein-dependent transport system for nickel. Mol. Microbiol. 9:1181–1191.

NAZINA T.N., TOUROVA T.P., POLTARAUS A.B., NOVIKOVA E.V., GRIGORYAN A.A., IVANOVA A.E., LYSENKO A.M., PETRUNYAKA V.V., OSIPOV G.A., BELYAEV S.S., AND IVANOV M.V. 2001. Taxonomic study of aerobic thermophilic bacilli: descriptions of *Geobacillus subterraneus* gen. nov., sp. nov. and *Geobacillus uzenensis* sp. nov. from petroleum reservoirs and transfer of *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Bacillus thermoleovorans*, *Bacillus kaustophilus*, *Bacillus thermoglucosidasius* and *Bacillus thermodenitrificans* to *Geobacillus* as the new combinations *G. stearothermophilus*, *G. thermocatenulatus*, *G. thermoleovorans*, *G. kaustophilus*, *G. thermoglucosidasius* and *G. Thermodenitrificans*. Inter. J. of Sys. and Evo. Microbiol. 51:433–446.

NAZINA T.N., LEBEDEVA E.V., POLTARAUS A.B, TOUROVA T.P., GRIGORYAN A.A., SOKOLOVA D.S., LYSENKO A.M. AND OSIPOV G.A., 2004. *Geobacillus gargensis* sp. nov., a novel thermophile from a hot spring, and the reclassification of *Bacillus vulcani* as *Geobacillus vulcani* comb. nov. Inter. J. of Sys. and Evo. Microbiol. .54:2019–2024.

NICOLAUS, B., LAMA, L., ESPOSITO, E., MANCA, M. C., DI PRISCO, G., GAMBACORTA, A., 1996. “*Bacillus thermoantarcticus*” sp. nov., from Mount Melbourne, Antarctica: a novel thermophilic species. Polar Biol. 16:101-104.

NIELSEN F.H., 1991. Nutritional requirements for boron, silicon, vanadium, nickel, and arsenic: current knowledge and speculation. Faseb J., 5:2661–2667.

NIES, D.H., 1999. Microbial heavy-metal resistance. Appl. Microbiol. Biotechnol. 51: 730-50.

NIES D.H., KOCH S., WACHI S., PEITZSCH N., SAIER M.H.J., 1998. CHR, a novel family of prokaryotic proton motive force-driven transporters probably containing chromate/sulfate transporters. J. Bacteriol., 180:5799–5802.

NIES D.H., SILVER S., 1995. Ion efflux systems involved in bacterial metal resistances., J. Indust. Microbiol., 14:186–199.

NOURBAKHS M., SAG Y., OZER D., AKSU Z., KATSAL T. AND CALGAR A., 1994. A comparative study of various biosorbents for removal of chromium(VI) ions from industrial wastewater. Process Biochemistry. 29:1–5.

NOURBAKHS M., KILIÇARSLAN S., ILHAN S., OZDAG H. 2002. Biosorption of Cr^{6+} , Pb^{2+} and Cu^{2+} ions in industrial waste water on *Bacillus* sp. Chem. Eng. Journal. 85: 351–355.

PANIKOV N.S., POPOVA N.A., DOROFEEV A.G., NIKOLAEV Y.A., AND VERKHOVTSEVA N.V., 2003. Growth of the Thermophilic Bacterium *Geobacillus uralicus* as a Function of Temperature and pH: An SCM-Based Kinetic Analysis. Microbiology. 72:277–284.

PARKER, M.W., BLAKE, C.C., BARRA, D., BOSSA, F., SCHININA, M.E., BANNISTER, W.H. AND BANNISTER, J.V., 1987. Structural identity between the iron and manganesecontaining superoxide dismutases. Protein Engineering. 1: 393-397.

PARVATHI K., NAGENDRAN. R., KUMAR. R.N., 2007. Lead biosorption onto waste beer yeast by-product, a means to decontaminate effluent generated from battery manufacturing industry. Electro. J. of Biotechnol. 10:1, 92-105.

PARVATHI K., KUMAR. R.N., NAGENDRAN R., 2006. Biosorption of manganese by *Aspergillus niger* and *Saccharomyces cerevisiae*. W. Journal of Microbiol. & Biotechn. 23:671-676.

PATZER S.I., HANTKE K., 1998. The Znu ABC high-affinity zinc uptake system and its regulator zur in *Escherichia coli*. Mol. Microbiol. 28:1199–1210.

PAULSEN I.T., SLIWINSKI M.K., NELISSEN B., GOFFEAU A., SAIER M.H., 1998. Unified inventory of established and putative transporters encoded within the complete genome of *Saccharomyces cerevisiae*., Febs. Lett. 430:116–125.

PAULSEN I.T., PARK J.H., CHOI P.S., SAIER M.H.J., 1997. A family of Gram-negative bacterial outer membrane factors that function in the export of proteins, carbohydrates, drugs and heavy metals from Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 156:1–8.

PERAZA M.A., FIERRO F.A., BARBER D., CASAREZ E., AND RAE L.T., 1998. Effects of Micronutrients on Metal Toxicity., Environ. Health Perspect. 106:203-216.

POLI A., ROMANO I., CALIENDO G., NICOLAUS G., ORLANDO P., FALCO A.D., LAMA L., GAMBACORTA A., AND NICOLAUS B., 2006. *Geobacillus toebii* subsp. *decanicus* subsp. nov., a hydrocarbon-degrading, heavy metal resistant bacterium from hot compost. J. Gen. Appl. Microbiol. 52:223–234.

PUMPEL T., EBNER C., PERNFU B.B., SCHINNER F., DIELS L., KESZTHELYI Z., 2001. Treatment of rinsing water from electroless nickel plating with a biologically active moving-bed sand filter. Hydrometallurgy. 24:383-393.

OZDEMIR G., OZTURK T., CEYHAN N., ISLER R., COSAR T., 2003. Heavy Metal biosorption by biomass of *Ochrobactrum anthropi* producing exopolysaccharide in activated sludge. Bioresource Technology. 90:71-74.

OZDEMIR G., CEYHAN N. AND MANAV E., 2005. Utilization in alginate beads for Cu(II) and Ni(II) adsorption of an exopolysaccharide produced by *Chryseomonas luteola* TEM05. W. Journal of Microbiol. & Biotechn. 21: 163–167.

OZTURK A., 2007. Removal of nickel from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*. J. of Hazard. Mat. 147:518–523.

ÖZŞAHİN A.D., 2006. Kahramanmaraş ili Kağıt Fabrikaları Çevresinden İzolasyonu Yapılan *Bacillus* Sp. Suşlarından Elde Edilen Selüloz Enziminin Karakterizasyonu ve Biyoteknolojide Kullanılabilirliğinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi. Kahramanmaraş.

PARK I.J., YOON. J.C., PARK S.J., KIM. E.H., CHP Y.J., SHIN. K. S., 2003. Characterization of the Proteolytic Activity of Bacteria Isolated from a Rotating Biological Contactor. The Journal of Microbiol.41:73-77.

PIKUTA E., LYSENKO A., CHUVILSKAYA N., MENDROCK U., HIPPE H., SUZINA N., NIKITIN D., 2000. *Anoxybacillus pushchinensis* a novel anaerobic, alkaliphilic, moderately thermophilic bacterium from manure, and description of *Anoxybacillus flavithermus* comb. nov. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. 50:2109–211.

PIOTROWSKA-SEGET Z., CYCON M., KOZDROJ J., 2005. Metal-tolerant bacteria occurring in heavily polluted soil and mine spoil. Appl. Soil Ecology. 28:237-246.

POLI A., ESPOSITO E., LAMA L., ORLANDO P., NICOLAUS G., APPOLONIA F. D., GAMBACORTA A., NICOLAUSA B., 2006. *Anoxybacillus amylolyticus* sp. nov., a Thermophilic Amylase Producing Bacterium Isolated from Mount Rittmann (Antarctica). Systematic and Applied Microbiology. 29:300-307.

PORTFOLIO.MVM.EDUCATION

www.portfolio.mvm.ed.ac.uk/studentwebs/session2/group29/nicktox.htm

RAGSDALE S.W., 1998. Nickel biochemistry. Curr. Opin. Chem. Biol. 2:208-215.

RAINEY F.A., FRITZE D., STACKEBRANDT E., 1994. The Phylogenetic Diversity of Thermophilic Members of the Genus *Bacillus* as Revealed by 16sRNA Analysis. FEMS Microbiol. Lett. 115:205-212.

REGINE H.S.F, VOLESKY B., 2000. Biosorption: a solution to pollution. Int. Microbiol. 3:17-24.

RENSING C., MITRA B., ROSEN B.P., 1997(a) The ZntA gene of *Escherichia coli* encodes a Zn(II)-translocating P-type ATPase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 94:14326–14331.

RENSING C., PRIBYL T., NIES D.H., 1997(b). New Functions for the three Subunits of the CzcCBA Cation-Proton-Antiporter. J. Bacteriol. 22:6871–6879.

RHO J.Y., AND KIM J.H., 2002. Heavy Metal Biosorption and its Significance to Metal Tolerance of *Streptomyces*. The Journal of Microbiol. 40: 51-54.

ROMANO I., POLI A., LAMA L., GAMBACORTA A., AND NICOLAUS B., 2005. *Geobacillus thermoleovorans* subsp. *stromboliensis* subsp. nov., isolated from the geothermal volcanic environment. J. Gen. Appl. Microbiol., 51:183–189.

ROMERO E., GONZALEZ F., BALLESTER A., BLAZQUEZ M.L., MUNOZ J.A., 2006. Biosorption with Algae, A Statistical Review. J. Crit. Rev. Biotechnol. 26:223-235.

ROMERO M.C., REINOSO E.H., URRUTIA M.I., KIERNAN A.M., 2006. Biosorption of heavy metals by *Talaromyces helicus*: a trained fungus for copper and biphenyl detoxification Electro J. of Biotech. 9:221-226.

SAG Y., KUTSAL T., 1995. Biosorption of heavy metals by *Zoogloea ramigera*: use of adsorption isotherms and a comparison of biosorption characteristics. The Chem. Eng. J. 60:181-188.

SAG Y., KUTSAL T., 2000. Determination of the biosorption heats of heavy metal ions on *Zoogloea ramigera* and *Rhizopus arrhizus*. Biochem. Eng. J. 6:145-51.

SAĞLAM N., CİHANGİR N., 1995. Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorbsiyonu Çalışmaları. Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi 11: 157-161.

SAHIN Y., OZTURK A., 2005. Biosorption of chromium(VI) ions from aqueous solution by the bacterium *Bacillus thuringiensis*. Process Biochemistry. 40:1895-1901.

SALEHIZADEH H., SHOJAOSADATI S.A., 2003. Removal of metal ions from aqueous solution by polysaccharide produced from *Bacillus firmus*. Water Research. 37:4231-4235.

SCHÄFFER C., FRANCK W. L., SCHEBERL A., KOSMA P., MCDERMOTT T. R. AND MESSNER P., 2004. Classification of isolates from locations in Austria and Yellowstone National Park as *Geobacillus tepidamans* sp. nov. Inter. J. of Sys. and Evo. Microbiol. 54:2361-2368.

SCHIEWER, S. VOLESKY, B., 1995. Modeling of the Proton-Metal Ion Exchange in Biosorption. Environ. Sci. Technol. 29: 3049-3058.

SCHMIDT T., SCHLEGEL H.G. 1994. Combined nickel-cobalt-cadmium resistance encoded by the ncc locus of *Alcaligenes xylosoxidans* 31A. J. Bacteriol 176: 7045–7054.

SCHNEEGURT M., JAIN J., MENICUCCI J. et. al., 2001. “Biomass Byproducts for the Remediation of Wastewaters Contaminated with Toxic Metals”. Environ. Sci. Technol., 35:3786- 791.

SCOTT, C.D., 1992. Removal of dissolved metals by plant tissue. Biotechnol. Bioeng. 39:1064-1668.

SEKI H., SUZUKI A., AND MITSUEDA S.I., 1998. Biosorption of Heavy Metal Ions on *Rhodobacter sphaeroides* and *Alcaligenes eutrophus* H16. J. Of Coll. And Interface Sci. 197:185–190.

SEN, A.K. AND MONDAL N.G.,1990. Removal and uptake of copper (II) by *Salvinia natans* from wastewater. Wat. Air and Soil Poll., 49:1-6.

SNOW E.T., 1994. Effects of chromium on DNA replication in vitro., Environ. Health. Persp., 102:41–4.

SPAIN A., 2003. Implication of Microbial Heavy Metal Tolerance in the Environment. Reviews in Undergra. Res.2:1-6.

SRINATH T., VERMA T., RAMTEKE P.W., GARG S.K., 2002. Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. Chemosphere. 48:427–435.

STANLEY C.L., OGDEN L.K., 2003. Biosorption of copper (II) from chemical mechanical planarization wastewater. J. Env. Man. 69:289-297.

STOHS S.J, BAGCHI D., 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. Free Radic. Biol. Med. 18:321-36.

STUDHOLME D.J., JACKSON R.A., LEAK D.J., 1999. Phylogenetic analysis of transformable strains of thermophilic *Bacillus* species. FEMS Microbiol. Lett. 172: 85-90.

SUNG M.H., KIM H., BAE J.W., RHEE S.K., JEON C.O., KIM K., KIM J.J., HONG S.P., LEE S.G., YOON J.H., PARK Y.H. AND BAEK D.H., 2002. *Geobacillus toebii* sp. nov., a novel thermophilic bacterium isolated from hay compost. Inter. J. of Sys. and Evo. Microbiol .52:2251–2255.

SZEWZYK. U., SZEWZYK. R., AND STENSTROM. T., 1994. Thermophilic, anaerobic bacteria isolated from a deep borehole in granite in Sweden. Proc. Nati. Acad. Sci. USA Microbiol. 91:1810-1813.

TAKAMI H., TAKAKI Y., CHEE G.J., NISHI S., SHIMAMURA S., SUZUKI H., MATSUI S. AND UCHIYAMA I., 2004. Thermoadaptation trait revealed by the genome sequence of thermophilic *Geobacillus kaustophilus*. Nucleic Acids Res. 32:6292–6303.

TANIGUCHI J., HEMMI H., TANAHASHI K., AMANO N., NAKAYAMA T., NISHINO T., 2000. Zinc biosorption by a zinc-resistant bacterium, *Brevibacterium* sp. Strain HZM-1. Appl. And Environ. Microbiol. 54:581-588.

TAO T., GRULICH P.F., KUCHARSKI L.M., SMITH R.L., MAGUIRE M.E., 1998. Magnesium transport in *Salmonella typhimurium*: biphasic magnesium and time dependence of the transcription of the *mgtA* and *mgtCB* loci. Microbiology. 144:655-664.

TAO T., SNAVELY M.D., FARR S.G., MAGUIRE M.E., 1995. Magnesium transport in *Salmonella typhimurium*: *mgtA* encodes a P-type ATPase and is regulated by Mg^{2+} in a manner similar of the *mgtB* P-type ATPase. J. Bacteriol 177:2654–2662.

TAWFIK, Z., SHADY, M.A. AND HAYTAM M., 2005. Uranium uptake by some locally isolated and reference bacterial species. Acta Pharm. 55:93-105.

TEITZEL G.M., AND PARSEK M.R., 2003. Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic *Pseudomonas aeruginos*. Appl. and Env. Microbiol. 69:2313-2320.

TEWARI N., VASUDEVAN P., GUHA B.K., 2005. Study on biosorption of Cr(VI) by *Mucor hiemalis*. Bioche. Eng. Jour. 23:185-192.

THELWELL C., ROBINSON N.J., TURNER C.J.S., 1998. An SmtB-like repressor from *Synechocystis* PCC 6803 regulates a zinc exporter. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 95: 10728–10733.

THEOPHANIDES T. AND ANASTASSOPOULOU J., 2002. Copper and carcinogenesis. Critical Reviews in Onc./Hem. 42:57–64.

TING YP., LAWSON F., AND PRINCE I.G., 1991. Uptake of cadmium and zinc by the alga *Chlorella vulgaris*: II Multi-ion situation. Biotechnol. Bioeng. 37:445-455.

TOBIN J.M., COOPER D.G, AND NEUFELD R.J., 1990. An Investigation of the Mechanism of Metal Uptake by Fungal Biomass. Enzy. And Microbial Techn. 12:591-595.

TOXIC METAL

www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/phs5.html

TSEZOS M., VOLESKY B., 1981. Biosorption of uranium and thorium. Biotechnology and Bioengineering. 23:583-604.

TSEZOS M., AND DEUTSCHMANN A., 1990. An investigation of engineering parameters for the use of immobilised biomass particles in biosorption. J. Chem. Tech. Biotech., 48:29-39.

TUNALI S., ÇABUK A., AKAR T. 2006. Removal of Lead and Copper Ions from Aqueous Solutions by Bacterial Strain Isolated from Soil. Chem. Eng. J. 115:203-211.

TURNER J.S., GLANDS P.D., SAMSON A.C., ROBINSON N.J., 1996. Zn²⁺-sensing by the cyanobacterial metallothionein repressor SmtB: different motifs mediate metal-induced protein-DNA dissociation. Nucleic Acids Res. 24:3714-3721.

UĞURLU M., 2004. The removal of some inorganic compounds from paper mill effluents by the electrocoagulation method G.U. Journal of Science 17:85-99.

VALLS M. AND LORENZO V., 2002. Exploiting the genetic and biochemical capacities of bacteria for the remediation of heavy metal pollution. FEMS Microbiol.Rev. 26:327-338.

VANDERWERF S.M., COOPER M.J., STETSENKO I.V., LUTSENKO S., 2001. Copper specifically regulates intracellular phosphorylation of the Wilson's disease protein, a human copper-transporting atpase. J. Biol. Chem., 276:36289-36294.

VIJAYARAGHAVAN K., Yun. Y.S., 2008. Bacterial biosorbents and biosorption. Biotechnology Advances. 26:266–291.

VODNIK D., BYRNE, A.R., GOGALA N., 1998. The Uptake and Transport of Lead in Some Ectomycorrhizal Fungi in Culture. Mycol. Res. 102: 953-958.

VOLESKY, B., 1987. Biosorbents for metal recovery. TIBTECH. 5:96-101.

VOLESKY B., MAY H. AND HOLAN Z.R., 1993. Cadmium biosorption by *Saccharomyces cerevisiae*. Biotechnology and Bioeng. 41:826-289.

VURAL H., 1993. Ağır Metal İyonlarının Gıdalarda Oluşturduğu Kirlilikler. Çevre Dergisi. 8:3-8.

WAISBERG W., JOSEPH P., HALE B., BEYERSMAN D., 2003. Molecular and cellüler mechanism of cadmium carcinogenesis. Toxicology. 192:95-117.

WANG J., CHEN C., 2006. Bisorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*:A review. Biotechnology Advance. 24:427-451.

WATT R.K., LUDDEN P.W., 1999. Nickel-binding proteins., Cell. Mol. Life. Sci. 56:604–25.

WEBLIFE.ORG

http://weblife.org/humanure/chapter3_8.html

WIGHTMAN P.G., AND FEIN J.B., 2004. Iron adsorption by *Bacillus subtilis* bacterial cell walls. Chemical Geology. 14:854-865.

WONG P.K., AND KWOK S.C., 1992. Accumulation of nickel ion (Ni^{+2}) by immobilized cells of *Enterobacter* species. Biotechnol. Lett. 14:629–634.

WUYEP P.A., CHUMA A.G., AWODI S., AND NOK A.J., 2007. Biosorption of Cr, Mn, Fe, Ni, Cu and Pb metals from petroleum refinery effluent by calcium alginate immobilized mycelia of *Polyporus squamosus*. Sci. Res. and Essay. 2: 217-221.

XIONG A.M., JAYASWAL R.K., 1998. Molecular characterization of a chromosomal determinant conferring resistance to zinc and cobalt ions in *Staphylococcus aureus* ., J. Bacteriol. 180:4024-4029.

YALCINKAYA Y., ARICA M.Y., SOYSAL L., DENIZLI A., GENÇ O., BEKTAS S., 2002. Cadmium and Mercury Uptake by Immobilized *Pleurotus sapidus*. Turk J. Chem. 26:441- 452.

YAZGAN A., OZCENGİZ G., AND ALAEDDINOĞLU G., 1993. Studies on metal resistance system in *Kluyveromyces marxianus*. Bio. Trace Element Res. 38:117-127.

YAN G., VIRARAGHAVAN T., 2000. Effect of pretreatment on the bioadsorption of heavy metals on *Mucor rouxii*. Water SA. 26:119-123.

YILDIRIM N., 2004. Farklı Konsantrasyonlarda Kadmiyumun Beyaz Çürükçül Fungus *Phanerochaete chrysosporium*' un Antioksidatif Enzim Aktiviteleri ve Glutasyon Seviyesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi. Malatya.

YILMAZ I.E., 2003. Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1. Research in Microbiol. 154:409–413.

YILMAZ E.I. AND ENSARI Y.N., 2005. Cadmium biosorption by *Bacillus circulans* strain EB1. W. Journal of Microbiol. & Biotechn. 21:777–779.

YILMAZ F., 2002. *Bacillus* Türleri. Bitirme Tezi. Karadeniz Teknik Üniversitesi Rize Fen Edebiyat Fakültesi, Rize.

YU D.W., JING F., STEPHAN S.L. AND RAO K.M.K., 2004. Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species. Free Rad. Bio. and Med. 36:1434-1443.

YUCEL E., 1998. Canlılar ve Çevre. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No:1017, Ünite: 5:85–109.

ZAIDI S., USMANI S., SINGH B.R., MUSARRAT J., 2006. Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in Brassica juncea. Chemosphere. 64:991–997.

ZHAO, H. AND EIDE, D. 1996. The ZRT2 gene encodes the low affinity: zinc transporter in *Saccharomyces cerevisiae*. J. Biol. Chem. 271:23203–23210.

ZHITKOVICH A., VOITKUN V., COSTA M., 1996. Formation of the amino acid–DNA complexes by hexavalent and trivalent chromium in vitro: importance of trivalent chromium and the phosphate group. Biochemistry. 35:7275–7282.

ZHOU J.L., AND KIFF R.J., 1991. The uptake of copper from aqueous solution by immobilized fungal biomass. Chem.Tech.Biotechnol. 52:317-330.

ZOUBOULIS A.I., LOUKIDOU M.X., MATIS K.A., 2004. Biosorption of toxic metals from aqueous solutions by bacteria strains isolated from metal-polluted soils. Process Biochemistry. 39:909–916.

7. TABLOLAR

Tablo 1. Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri
(www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf)

Tablo 4.1. Seçilen Bakterilerin Minimum İnhibe Edici Konsantrasyonlarının (MIC) Belirlenmesi

Tablo 4.3.1. pH'nın *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.2. Sıcaklığın *Bacillus thermantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine etkisi

Tablo 4.3.3. pH'nın *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyon Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.4. Sıcaklığın *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.5. pH'nın *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.6. Sıcaklığın *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.7. pH'nın *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.3.8. Sıcaklığın *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Tablo 4.6. Farklı Cd Konsantrasyonlarına Maruz Kalan Canlı ve Kurutulmuş Ölü *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Hücre Membranında Metal Biyosorpsiyonu

Tablo 4.7.1. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) Bakteri *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Cd, Cu, Ni, Mn ve Zn'nun Prekonsantrasyonu

Tablo 4.7.2. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Cd Tutma Kapasitesinin Belirlenmesi

Tablo 4.7.3. XAD-4 Üzerine Tutuklanmış Ölü (Kurutulmuş) *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis* ile Doğal Atık Sularda Bulunan Bazı Metallerin (Cd, Cu ve Ni) Prekonsantrasyonu

Tablo 5.1. Farklı termofilik bakterilerin Cd için minimum inhibisyon konsantrasyonları (MIC) (Hetzer ve ark., 2006)

Tablo 5.2. Farklı Bakteriler Tarafından Çeşitli Ağır Metallerin Biyosorpsiyonu (Ahluwalia ve Goyal, 2007; Aslan ve ark., 2007; Vijayaraghavan ve Yun, 2008)

8. ŞEKİLLER

Şekil 1.1. Metallerle İndüklenen Olası Karsinogenez Mekanizması (**Galaris ve Evangelou, 2002**)

Şekil 1.2. Bakterilerdeki Olası Ağır Metal Direnç Mekanizmaları (**Valls ve Lorenzo, 2002**)

Şekil 1.3. Czc Dışarı Atım Pompası (**Choudhury ve Srivastava, 2001**)

Şekil 1.4. Metal İyileştirme Mekanizması (**Madrid ve Camara, 1997**)

Şekil 1.5. Biyolojik Materyallere Genel Bir Bakış (**Madrid ve Camara, 1997**)

Şekil 1.6. Gram Pozitif ve Gram Negatif Bakteri Hücre Duvarı (**Vijayaraghavan ve Yun, 2008**)

Şekil 4.2.1.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.1.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının *Bacillus thermantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.1.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.1.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Üreme ve Biyoakümülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.2. Farklı Co Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.3. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.2.4. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.3.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*'un Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.1. Farklı Cd Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.2. Farklı Cu Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.3. Farklı Mn Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.4. Farklı Ni Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üremesi ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.2.4.5. Farklı Zn Konsantrasyonlarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Üreme ve Biyoakümülyasyon Yeteneği Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.1. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.2. Biyokütle Miktarının *Bacillus thermoantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.3 İnkübasyon Süresinin *Bacillus thermantarcticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.4. Ağır Metal (Cd, Cu, Co ve Mn) Konsantrasyonunun *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.5. Biyokütle Miktarının *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.6. İnkübasyon Süresinin *Anoxybacillus amylolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.7. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun *Geobacillus toebii* sub. sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.8. *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Farklı Biyokütellerinin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.9. İnkübasyon Süresinin *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.10. Ağır Metal (Cd, Cu, Ni, Zn ve Mn) Konsantrasyonunun *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.11. Biyokütle Miktarının *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.3.12. İnkübasyon Süresinin *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*'in Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Şekil 4.4. 50 mg/l Cd ve Mn Konsantrasyonunda Tutulan Bakteri Peletlerinin Asitle Çözünürleştirdikten Sonra Biyosorpsiyon Analizi

Şekil 4.5. Farklı Bakteri Varyetelerinin Çalkalamalı ve Statik Koşullarda Kadmiyum Biyosorpsiyonunun Karşılaştırılması

9. ÖZGEÇMİŞ

- 1977 Yılında Gaziantep'in Nizip ilçesinde doğdu.
- 1989 Nizip Cumhuriyet İlkokulu'ndan mezun oldu.
- 1996 Nizip Hasan Çapan Anadolu Lise'sinden mezun oldu.
- 2002 D.Ü. Fen-Edb. Fak. Biyoloji Bölümünden mezun oldu.
- 2002 D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dal'ında Yüksek lisans eğitimine başladı.
- 2004'de 'Musa Textilis (Muz) Kabuğu Kullanarak Katı-Faz Fermantasyon Tekniği İle (SSF) Bacillus sp.'de α - Amilaz Üretilmesi' adlı Yüksek lisans tezini tamamladı.
- Eylül 2004'de D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dal'ında Doktora programına başladı.
- Evli ve iki çocuk babasıdır.