

154928

KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Tutuklanmış *Synechocystis aquatilis* ile
Cu²⁺ Uzaklaştırılması

İLKNUR ÖNER

OCAK 2004



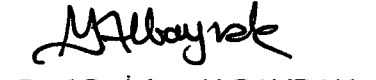
Anneme ve Babama,

Fen Bilimleri Enstitüsü müdürünün onayı



Prof. Dr. M. Yakup ARICA
Enstitü Müdürü



Bu Tezin Yüksek Lisans Tezi olarak Biyoloji Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.


Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK
Anabilim Dalı Başkanı

Bu Tezi Okuduğumuzu ve Yüksek Lisans Tezi olarak bütün gerekliliklerini yerine getirdiğini onaylarız.

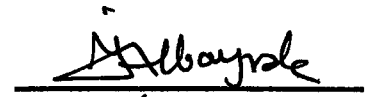
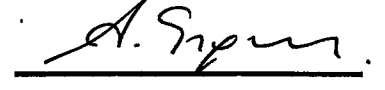
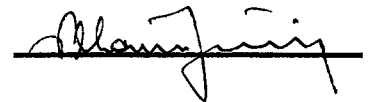

Yrd. Doç. Dr. Aysun ERGENE
Danışman

Tez Jürisi Üyeleri

Prof. Dr. İrfan ALBAYRAK

Yrd. Doç. Dr. Aysun ERGENE

Yrd. Doç. Dr. İlhami TÜZÜN

ÖZET

TUTUKLANMIŞ *Synechocystis aquatilis* İLE

Cu²⁺ UZAKLAŞTIRILMASI

ÖNER, İknur

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans tezi

Danışman: Yard. Doç. Dr. Aysun Ergene

Ocak 2004, 58 sayfa

Synechocystis aquatilis, kalsiyum aljinat içerisinde tutuklandı. Bakır iyonlarının biyosorpsiyonu için aljinat küreleri ve tutuklanmış canlı ve tutuklanmış ısı ile inaktive edilmiş algler kullanıldı. Boş küre, canlı ve ısı ile inaktive edilmiş tutuklanmış *Synechocystis aquatilis* ile Cu²⁺ iyonlarının biyosorpsiyonu, zaman ve ortamdaki Cu²⁺ iyonlarının başlangıç konsantrasyonlarının artması ile artmaktadır. Biyosorpsiyon dengesine yaklaşık 3 saatte ulaşıldı ve denge Lagmuir ve Freundlich izotermleriyle tanımlandı. Boş aljinat ve tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* için en yüksek biyosorpsiyon kapasiteleri kuru biyosorbent başına 76, 125, 137 Cu²⁺ olarak tespit edildi. pH'nın etkisi incelendi ve Cu²⁺ iyonlarının maksimum adsorpsiyonu pH 5,0'de gözlemlendi.

Anahtar Kelimeler: Cu²⁺, biyosorpsiyon, tutuklama, *Synechocystis aquatilis*, aljinat

ABSTRACT

REMOVAL OF Cu^{2+} WITH IMMOBILISED *Synechocystis aquatilis*

ÖNER, İlknur

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology, M.Sc. Thesis

Supervisor: Asst. Prof. Dr. Aysun Ergene

January 2004, 58 pages

Synechocystis aquatilis was immobilised in calcium alginate via entrapment. The alginate beads and both entrapped live and heat inactivated algae were used for the biosorption of Cu^{2+} ions. The biosorption of Cu^{2+} ions by the Ca-alginate and both live and heat inactivated immobilised preparations increased with time and as the initial concentration of Cu^{2+} ions in the medium increased. Biosorption equilibrium was established in about 3 h and the equilibrium was well described by Langmuir and Freundlich isotherms. The maximum biosorption capacities for Ca-alginate and both immobilised live and heat inactivated *Synechocystis aquatilis* were 76, 125 and 137 Cu^{2+} per gram of dry biosorbents respectively. The effect of pH was also investigated and the maximum adsorption of Cu^{2+} ions was observed between pH 5.0-6.0.

Key words: Cu^{2+} , biosorption, immobilized, *Synechocystis aquatilis*, alginate.

TEŞEKKÜR

Tez alıŐma konusunu belirleyerek, gerçekleŐtirilmesinde yardımlarını ve desteğini daima sürdüren tez yöneticim, Yrd.Doç.Dr. Sayın Aysun Ergene'ye, Atomik Adsorpsiyon cihazında ölçümlerimi gerçekleŐtiren Kimya Bölümü Öğretim Uyesi Doç. Dr. Sayın Zeki Öktem'e, çalıŐmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen, Yrd.Doç.Dr. Sayın Sema Tan'a, Yrd.Doç.Dr. Sayın Perihan Güler'e, AraŐ. Gör. Sayın Tarık Danışman'a ve arkadaşlarım Aslı Yıldız'a ve Murat Yılmaz'a, tez çalıŐmalarım esnasında maddi ve manevi her konuda beni destekleyen ve daima yanımda olan anneme teşekkür ederim.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1. Boş aljinat küresi (A) ve <i>Synechocystis aquatilis</i> tutuklanmış aljinat küresi (B)	27
Şekil 3.2. Cu^{2+} biyosorpsiyonuna zamanın etkisi.....	29
Şekil 3.3. <i>Synechocystis aquatilis</i> 'in Cu^{2+} iyonu biyosorpsiyonuna pH'nın etkisi.....	30
Şekil 3.4. Başlangıç konsantrasyonunun biyosorpsiyona etkisi.....	32
Şekil 3.5. Farklı Cu^{2+} iyonlarının boş küre, canlı ve ısı ile inaktive edilmiş <i>Synechocystis aquatilis</i> tutuklanmış aljinat küreleri ile adsorpsiyonunda Freundlich adsorpsiyon modeline göre elde edilen adsorpsiyon izotermi.....	37
Şekil 3.6. Farklı Cu^{2+} iyonlarının boş küre, canlı ve ısı ile inaktive edilmiş <i>Synechocystis aquatilis</i> tutuklanmış aljinat küreleri ile adsorpsiyonunda Langmuir adsorpsiyon modeline göre elde edilen adsorpsiyon izotermi.....	38

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1.1. Metal uzaklaştırılmasında kullanılan optimum pH değerleri	21
Tablo 3.1. Farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda boş aljinat kürelerinin adsorpsiyon verimi	33
Tablo 3.2. Farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda tutuklanmış canlı <i>Synechocystis aquatilis</i> aljinat kürelerinin adsorpsiyon verimi	34
Tablo 3.3. Farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda tutuklanmış ısı ile inaktive edilmiş <i>Synechocystis aquatilis</i> aljinat kürelerinin adsorpsiyon verimi	35

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
TABLolar DİZİNİ	v
İÇİNDEKİLER	vi
1. GİRİŞ	1
1.1.Su kirliliğine neden olan etmenler	2
1.2.Ağır metal kirliliği	3
1.3.Ağır metal arıtım teknikleri.....	4
1.3.1. Cu ²⁺ kirliliği	7
1.3.2. Cu ²⁺ iyonu arıtımı	7
1.3.3. Cu ²⁺ iyonunun insan sağlığına etkisi	8
1.2.4. Ağır metal arıtımında kullanılan mikroorganizmalar	8
1.4. Algler	11
1.4.1. Mavi-Yeşil Algler(Cyanophyta)	12
1.5. Tutuklama Yöntemleri	13
1.6.Tutuklanmış Mikroalglerle Ağır Metal Adsorpsiyonu	14
1.7. Adsorpsiyon mekanizması	15
1.8 Adsorpsiyon izotermi	16
1.8.1 Langmuir modeli	16
1.8.2 Freundlich modeli	18

1.8.2 Freundlich modeli	18
1.8.3 Brunauer-Emmett-Teller(BET) modeli	18
1.9. Adsorpsiyona etki eden faktörler	19
2. MATERYAL VE YÖNTEM	22
2.1. Materyal	22
2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	22
2.1.2. Kullanılan Cihazlar	22
2.2. Yöntem	23
2.2.1. Mikroorganizma	23
2.2.2. <i>Synechocystis aquatilis</i> 'in <i>Ca-aljinata</i> tutuklanması	23
2.2.3. Cu^{2+} İyonu İçeren Biosorpsiyon Ortamlarının Hazırlanması	24
2.2.4. Deney Düzenekinin Hazırlanması	24
2.2.5. Analitik İşlemler	24
2.2.6. SEM Çalışması	25
3. ARAŞTIRMA BULGULARI	26
3.1. Aljinata Tutuklanmış Biyosorbent Özelliği	26
3.2. Cu^{2+} Biyosorpsiyonuna Zamanın Etkisi	28
3.3. Biyosorpsiyona pH'nın Etkisi	28
3.4. Başlangıç Konsantrasyonunun Biyosorpsiyona Etkisi	31
3.5. Adsorpsiyon İzotermi	36
4. TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR	43

1. GİRİŞ

Dünya nüfusunun artması, hızlı kentleşme ve sanayileşme ile insan ihtiyaçlarının değişmesi sonucu oluşan çeşitli atıkların arıtılmadan alıcı ortama verilmesiyle çevre kirliliği oluşmaktadır. Hava, su ve toprak kirliliğine neden olan ağır metaller teknolojik proseslerin vazgeçilmez unsurlarıdır. Bu nedenle endüstriyel kuruluşlarda yaygın olarak kullanılmakta ve oluşturdukları atık sular da akarsu, göl ve deniz gibi alıcı ortamlarda kirlilik yaratmaktadırlar. Ağır metaller, su ortamındaki organizmalar için toksik etki yaparak ortamdaki canlı hayatını tehlikeye sokmaktadırlar. Yaşayan veya yaşamayan mikroorganizmalar, seçici olarak atık sulardaki inorganik iyonları biriktirmede ve ayırmada yüksek bir potansiyele sahiptirler ^(1,2). Bu mikroorganizmalardan yeşil algler, ağır metal iyonlarını iyi adsorplama özelliği gösterir ^(3,4,5). Alglerin çoğu tatlı, acı ve tuzlu sularda yaşarlar. Algler tarafından adsorbe edilebilen Cu^{+2} , nötrale yakın pH değerinde en yüksek adsorplanma kapasitesine sahiptir, ancak pH 2.0'nin altında iyi adsorplanamazlar. ⁽⁶⁾.

Sulu ortamlardan ağır metal iyonlarını uzaklaştırmak için bakteri, alg ve fungusların saf kültürlerinin yeterliliği hakkında literatürde pekçok makale mevcuttur. *Rhizopus arrhizus* ⁽⁷⁾, *Pseudomonas putida* ⁽⁸⁾, *Mucor miehei* ⁽⁹⁾ ve *Aspergillus niger* ⁽¹⁰⁾, ağır metal biyosorpsiyonu için yoğun olarak çalışılmıştır. Mikrobiyal hücrelerin tutuklanması için çoğunlukla matriks olarak aljinat kullanılmıştır. Aljinat, doğal bir polimerdir ve metal iyonlarını

kuvvetli bir şekilde bağladığı bilinmektedir ^(11,12). Mikrobiyal hücrelerin bu polimer desteklerde tutuklanması, mikrobiyal hücre performansını ve aynı zamanda ağır metal iyonları için biyosorbent sistemin adsorptif kapasitesini arttırabilir ^(13,14). Yapılan çalışmalarda tutuklanmış alg hücrelerinin, serbest formdaki hücrelerden çok daha kararlı olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmanın amacı, bir mikroalg olan *Synechocystis aquatilis*'in doğal polimerik matriks olarak Ca-aljinat kullanılarak tutuklanmasıdır. Tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş mikroalg, kesikli sistemde sulu ortamlarda Cu^{2+} biyosorpsiyonu için kullanılmıştır.

Biyosorpsiyon kapasitesi üzerinde pH'ın etkisi, çeşitli pH koşulları altında tutuklanmış aktif ve inaktif algli örneklere Cu^{2+} iyonlarının adsorpsiyon izotermi ölçülerek karakterize edilmiştir. Sulu ortamlarda ağır metal iyonlarının konsantrasyonları değiştirilerek tutuklanmış her iki örneğin maksimum biyosorpsiyon kapasitesi (kuru ağırlığa bağlı) saptanmıştır.

1.1. Su kirliliğine neden olan etmenler

Yer kürenin önemli bir kısmını oluşturan su, katı, sıvı ve gaz halinde bulunmaktadır ve güneşin sağladığı enerji ile devamlı bir döngü içerisinde. Canlılar, döngü içerisinde suyu yaşamsal ve diğer faaliyetleri için kullandıktan sonra, tekrar döngü içerisine bırakırlar. Bu süreçte suyun yapısına karışan çeşitli maddeler, suların fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirirler ve su kirliliğine neden olurlar. Fiziksel kirlenme

nedenleri katı atıklar ile renk, koku ve bulanıklık oluşturan maddeler ve sıcaklıktır. Kimyasal kirlenmenin nedenleri proteinler, yağlar, yüzey reaktifleri, fenoller, klorür, azot, fosfor, kükürt, oksijen, hidrojen, sülfür, metan ve ağır metallerdir. Biyolojik kirlenmenin ise hayvansal, bitkisel ve organik atıkların etkisi ile aşırı üreyen bakteriler, yosunlar, funguslar ve virüslerdir.

Atık sulardaki kimyasal kirleticilerde bozunabilirliklerine göre 3 grupta toplanabilir ⁽¹³⁾

- Bozunmayan kimyasal kirleticiler: Zamanla kimyasal ve biyolojik parçalanmaya uğramayan klorür ve benzeri inorganik bileşiklerdir. Alıcı suda birikimden dolayı zamanla derişimleri artar, yağmur suları ile derişimleri azalır.

- Bozunan kimyasal kirleticiler: Biyolojik olarak parçalanabilen organik maddelerdir. Mikroorganizmalar tarafından bozularak inorganik kararlı bileşiklere dönüşürler.

- Kalıcılar: Hg, As, Cd, Cn, Pb gibi zamanla biyolojik birikime yol açan metaller ve tarım ilaçları gibi organik maddelerdir.

Su kirliliği genelde kentsel atıklardan, sanayiden, tarımsal faaliyetlerden ve nükleer santrallerden kaynaklanmaktadır.

1.2. Ağır metal kirliliği

Medeniyetlerin gelişmesinde çok büyük rolü olan metaller, çok eski zamanlardan beri insanoğlu tarafından kullanılmaktadır. Bu nedenle insanlar, metal filizlerinin yer kabuğundan çıkarılması, depo edilmesi,

taşınması, eritilmesi, rafine edilmesi, kullanılacak şekle getirilmesi, eskimesi ve çevreye atılması sırasında sürekli metallere karşı karşıyadır.

Metal iyonları, suların kirlenmesine neden olan en önemli etkenlerden birisidir. Metal kaplama sanayi, mutfak ve ev eşyaları, elektrikli aletler, boru, tel çekme, makine, boya endüstrileri, akü ve pil fabrikaları, tekstil ve deri işletme tesisleri ile maden ocakları atık suları, çeşitli su standartlarına göre istenmeyen oranlarda ağır metal iyonları içermektedir ⁽¹⁴⁾.

Kimyasal yünden atık suların kirliliği organik veya/ve inorganik olabilir. Organik kirliliğin kendini temizleme olanağı olmasına rağmen inorganik kirliliğin kendini temizleme olanağı yoktur ve inorganik kirliliğe kıyasla daha sürekli dir.

Arsenik, civa, kurşun, krom, kadmiyum, nikel, demir, çinko gibi ağır metaller sular da kirliliği yapan inorganik kirleticilerdir.

Radyoaktif bulaşma metal kirliliğinin başka bir boyutudur. Nükleer silahların denenmesi, nükleer endüstri atıkları ve atmosferde oluşan radyoizotoplar bu tür kirliliğ in kaynaklarıdır.

1.3. Ağır metal arıtım teknikleri

Ağır metallerin gideriminde kullanılan arıtım yöntemleri dört kısımda incelenebilir:

- 1- İndirgeme-çökeltme yöntemi
- 2- Yükseltgeme-çökeltme yöntemi

3- Nötralizasyon-çökeltme yöntemi

4- İyon değişimi

1. İndirgeme-çökeltme yöntemi

Bu yöntem kullanılarak yüksek değerlikli metal, çökebilene bir şekline indirgenir, nötrale edilir ve reaktifin aşırısı metali çökeltir. Böylece istenen metal ortamdan ayrılır. Özellikle kromlu atıkların arıtımında kullanılan bir yöntemdir.

2. Yükseltgeme-çökeltme yöntemi

Bu yöntemde indirgenmiş metal kararlı, yükseltgenmiş ve çözünmeyen şekillerine dönüştürülür. Bu tür atık arıtma prosesinde havalandırma, sedimantasyon ve filtrasyon olmak üzere birbirini takip eden üç basamak vardır. Çöktürme havuzunda yükseltgenmenin tamamlanması için gereken sürede tutulduktan sonra yükseltgenmiş metal, filtre ile sudan ayrılır. Sadece havalandırma kolayca yükseltgenmeyen metaller için genel olarak etkisizdir. Böyle bir durumda, prosese kimyasal yükseltgenme basamağı da eklemek gerekir. Özellikle demir ve mangan içeren atıkların arıtımında kullanılan bir yöntemdir.

3. Nötralizasyon-çökeltme yöntemi

Sulardan bakır, çinko, nikel, demir gibi metallerin uzaklaştırılması için ilk önce, atık nötralize edilir ve sonra çökme ile bu metaller ayrılır. Nötralizasyon, aktif H⁺ iyonu içeren bileşikler ile aktif OH⁻ iyonu içeren bileşiklerinin reaksiyona girmesi demektir. pH değerinin ölçülmesi ile nötralizasyon derecesi tayin edilir.

4. İyon değişimi

Ağır metal iyonlarının, elektrostatik kuvvet ile fonksiyonel grup halinde katı yüzeyinde tutularak, ortamdaki farklı türdeki iyonlarla değiştirilme ilkesine dayanan bir yöntemdir. Bu amaçla iyon değiştirici reçineler kullanılır. Özellikle düşük konsantrasyonlardaki metal iyonları, iyon değiştirme yöntemi ile uzaklaştırılmaktadır. Bu işlem verimli olmasına rağmen oldukça pahalı bir yöntemdir.

Ağır metal iyonu içeren atık suların arıtılması, genelde işletmenin kapasitesine, atık suyun debisine ve özelliklerine, kullanılan yöntem ve malzemeye bağlıdır. Ağır metal iyonu içeren atık suların arıtılmasında kullanılan fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtım yöntemleri, tesis, ekipman ve malzeme açısından pratik ve ekonomik olmadığı gibi yüksek konsantrasyonlardaki ağır metalleri gidermek için verimli olmamaktadır. Pahalı ve çok verimli olmayan bu yöntemlere alternatif olarak, son yıllarda biyosorpsiyon prosesleri uygulanmaktadır.

Aktif yada inaktif hale getirilmiş mikroorganizmaların, seçici olarak atık sulardaki inorganik iyonları adsorbe ederek biriktirmeleri ve ayırmaları işlemine biyosorpsiyon denir. Organizmaların hücre yüzeyleri, inorganik iyonları biriktirme ve ayırmada yüksek bir potansiyele sahiptir. Bu amaçla kullanılan mikroorganizmalar, bakteriler, funguslar, maya hücreleri ve alglerdir.

1.3.1. Cu²⁺ kirliliği

Endüstriyel atık sularda bulunan bakır, CuCO₃ olarak organik bileşikleri şeklinde, Cu²⁺ iyonları halinde hidroliz ürünlerinde bulunur. İstenilmeyen miktarlarda Cu²⁺ iyonlarını, boya, petrol, kağıt, bakır/alaşım-levha ve bakır-amonyum, yapay ipek gibi endüstriler çevreye bırakırlar. Bakırın temizlenmesi, levha haline getirilmesi ve metal-proses endüstrilerinde bakır iyonu derişimi 100-120 mg/L ye yaklaşır. Bu değer su nitelik standartlarına göre çok yüksektir ⁽¹⁵⁾. İçme sularındaki maksimum bakır derişimi, standartlara göre 1,0-1,5 mg/L yi, sulama sularında ise 0,2-5,0 mg/L yi aşmamalıdır ⁽¹⁶⁾.

1.3.2. Cu²⁺ iyonu arıtımı

Cu²⁺ iyon kirliliğinin giderilmesinde, buharlaştırarak geri kazanma, elektroliz, indirgeyerek çöktürme veya iyon değıştirme gibi yöntemler kullanılmaktadır. Buharlaştırarak geri kazanma yöntemi pahalı bir yöntemdir. Ve buharlaşma sonucunda atık suda bakırın dışında istenmeyen maddeler

derişimi artmış şekilde bulunur. Çöktürme, asidik atık suya kireç veya metal sülfür ilave edilerek yapılır. Elektrokimyasal yöntemle, bakır iyonun geri kazanılmasında, atık sudaki bakır derişiminin 1-2 g/L den az olmaması gerekmektedir ⁽¹⁷⁾.

1.3.3. Cu²⁺ iyonunun insan sağlığına etkisi

İnsan sağlığını bakırın küçük miktarları zararlı değildir, fakat içme suyunda istenmeyen tat yapar. Vücutta, bakır iyonunun aşırı miktarda birikmesi karaciğerin tahribine neden olur ⁽¹⁶⁾. Kronik bakır zehirlenmeleri içinde, karaciğer sirozu ve kan hastalıkları bulunabilir. Bakır ile temas eden kişilerde ciltte solukluk gözlenmiştir. Bakır karbonat veya bakır tozlarına maruz kalan kişilerde mide bulantısı ve şiddetli aksırma gibi rahatsızlıklar gözlenmiştir.

1.2.4. Ağır metal arıtımında kullanılan mikroorganizmalar

Gelişmiş ülkelerde mikroorganizmaların kullanımı ile atık suların arıtılması çalışmaları en çok başvurulan proseslerdir. Mikroorganizmalardan, şehir kanalizasyon sularının temizlenmesinde; rafine atıkları ile ağır yağları içeren deniz sularının karıştığı toprak ve suların temizlenmesinde; ev ve okulların su kanallarında biriken yenebilir yağların temizlenmesinde geniş oranda yararlanılmaktadır ⁽¹⁸⁾.

Atık sulardan metal iyonlarının uzaklaştırılması için biyolojik sistemlerin kullanımı (biyoremoval) atık su muamele tekniklerinden daha düşük maliyette daha yüksek performans gösterebilme potansiyeline sahiptir⁽¹⁹⁾. Mikroalglerin biyolojik uzaklaştırma kapasiteleri kapsamlı olarak çalışılmıştır ve bazı ticari uygulamalar başlatılmıştır. Mikroalgler biyolojik uzaklaştırma kapasitelerinde tek olmasa da, bazı kavramsal biyolojik uzaklaştırma yöntem planlarında diğer biyolojik materyallerden daha fazla avantaja sahiptirler⁽¹⁹⁾. Spesifik biyolojik uzaklaştırma uygulamaları için kültüre edilen ve işleme tabi tutulan seçilmiş mikro alg suşları, metal kirliliğinin evrensel problemleriyle mücadelesinde önemli ilerlemeler sağlamada potansiyele sahiptirler. Suş seçimine ilave olarak, biomass kapsamının veya immobilizasyon tekniklerinin değerlendirilerek artırılması ve metabolik olarak aktif mikroalg kültürleri kullanılarak biyolojik uzaklaştırma metot basamaklarının geliştirilmesi ile teknolojiye önemli ilerlemelerin olması mümkündür. İkinci yaklaşım, atık metal iyonlarının çok düşük konsantrasyonlarda istenildiği durumdaki uygulamalarda caziptir⁽²⁰⁾.

Ağır metal iyonlarının sucul yaşam ve insanlara karşı toksik etkilerinin olması nedeniyle, atık sulardan uzaklaştırılması gereklidir. Atık sulardan ağır metal iyonları çoğunlukla kimyasal çökelme, iyon değişimi ve ters osmos prosesleriyle uzaklaştırılır. Bu metotlar, miktarı az olduğu için tayin edilemeyen metal iyonlarının uzaklaştırılması, yüksek kimyasal ihtiyaçları ve atılmalarında extrem tedbirlerin gerekli olduğu, suya verilmeleri zor olan toksik çamurların oluşması gibi çeşitli dezavantajlara sahiptir. Atık sulardan ağır metal iyonlarının uzaklaştırılması için yeni metot teknolojilerine ihtiyaç vardır. Sucul solusyonlardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında

mikroorganizmaların rolü açıkça gösterilmiştir ^(19,21). Brierley (1990), metal konsantrasyonunun 1-20 mg/L 'den az olduğu durumlarda, katyonik metal iyonlarının mikrobiyal olarak uzaklaştırılmasının daha etkili olduğunu göstermiştir ⁽²¹⁾.

Mikroorganizmalar ile ağır metallerin uzaklaştırılması, pek çok durumda gerçekleşebilir. Gadd (1990) ve Brierley (1990) bakteri, fungi ve alglerin toksik metal iyonlarını uzaklaştırmada kullandıkları yolları incelemiştir ^(19,21). Hücresel yapıda tutuklama ile ve hücresel yapıda bulunan bağlayıcı yerler üzerine sonraki bağlanma ile ağır metal iyonlarının alınımı gerçekleşebilir. Bu uzaklaştırma metodu biyolojik metabolik döngülerden bağımsızdır ve "biyosorpsiyon" veya "pasif alım" olarak bilinir. Majidi ve Holcombe (1989) biyosorpsiyonu, metaller ile biyolojik türlerin hücresel bileşenleri arasında meydana gelebilen direkt olmayan fizikokimyasal etkileşim şeklinde tanımlamışlardır ⁽²²⁾. Ağır metal alımı, hücre metabolik döngüsü ile hücre membranından, hücre içerisine metalin geçişini de içerebilir. Metal alınımının bu yöntemi "aktif alım" olarak işaret edilir. Aktif ve pasif yöntem ile metal alınımı "biyolojik birikim" olarak adlandırılmaktadır. Gadd (1990), atık sularda karşılaşılan yüksek metal konsantrasyonlarında, aktif yöntem ile metal alınımının, fungal mikroorganizmalar ile toplam alıma önemli bir şekilde katkıda bulunmadığını göstermiştir ⁽¹⁹⁾.

Fungusların canlı ve ölü hücreleri, atık sulardan ağır metal iyonlarını uzaklaştırabilir ^(19,23,24). Fungal mikroorganizmalar ile ağır metallerin alımı, atık sulardan ağır metallerin uzaklaştırılmaları için alternatif bir metottur. Funguslar metal iyonlarının uzaklaştırılması için biyokütlenin sürekli mevcut kaynak olarak ve ekonomik olarak hizmet veren çeşitli endüstriyel

fermentasyon proseslerinde kullanılır. Funguslar, aynı zamanda, saf fermentasyon teknikleri ve ucuz büyüme ortamı kullanılarak önemli miktarlarda kolaylıkla yetiştirilebilir ⁽²⁵⁾.

Endüstriyel atık sulardan ağır metallerin uzaklaştırılması için farklı yöntemler devamlı olarak kullanılmaktadır. Ana metotlar, çökelme, iyon değişimi ve elektrolitik teknolojileri içerir. Bununla birlikte metaller nispeten düşük konsantrasyonlarda, çok miktarda çözülmediği zamanlarda, bu metotlar etkisiz ve aşırı derecede pahalı olmaya başlar ⁽²⁶⁾.

Son zamanlarda dikkati çeken metal biyosorpsiyonu, adsorpsiyona spesifik bir örnektir. Biyosorpsiyon, kimyasal türlerin biyopolimerlere pasif veya fizikokimyasal bağlanmasıdır ^(23,27).

1.4. Algler

Algler genellikle tatlı su ve denizlerde yaşarlar ve sınıflandırılmaları bu konuda uğraşan bilim adamlarına göre değişmektedir. Ancak temelde ayrılık yoktur. Başlangıçta sınıflandırılmalarında bir iki temel özellik dikkate alınırken bugün morfolojik, sitolojik ve evrimsel gelişmelerin yanında mikroskobik, kimyasal ve genetiksel yapıları da dikkate alınarak değerlendirilmektedir.

Algler yapısal özelliklerine göre yedi bölümde incelenir

- 1- Cyanophyta (mavi yeşil algler)
- 2- Euglenophyta (kamçılı algler)
- 3- Pyrrophyta (ateş rengi algler)

- 4- Crysophyta (altın rengi algler)
- 5- Chlorophyta (yeşil algler)
- 6- Phaeophyta (kahverengi algler)
- 7- Rhodophyta (kırmızı algler)

Algler görünüşleri bakımından değişik biçimleri sergileyen canlılardır. Tek hücreli olabildikleri gibi kolonilerde oluşturabilirler; ipliksi biçimlerden hücre tabakalarından oluşmuş yapılara (tallus) kadar değişik formlarda bulunabilirler.

Gelişme durumları dikkate alınarak algleri morfolojik özelliklerine göre

a) tek hücreli kamçısız algler b) tek hücreli kamçılı algler şeklinde grüplendirabiliriz.

Alglerin meydana getirdiği şekle göre de 7 grupta inceleyebiliriz :

- 1- Tek hücreli kamçısız algler
- 2- Tek hücreli kamçılı algler
- 3- Koloni oluşturan algler
- 4- Kamçısız koloniler
- 5- Dallanmamış ipliksi algler
- 6- Dallanmış ipliksi algler
- 7- Parankimatik talluslu algler

1.4.1. Mavi-Yeşil Algler (Cyanophyta)

Bu algler hücresel oluşumlarıyla diğer alglerden ve bitkilerden farklı olmadıkları halde belirgin bir çekirdekleri olmadığı için prokaryot

organizmalardır. Bu özellikleriyle bakterilere çok benzerler. Evrimsel açıdan bakterilerden daha gelişmiş kabul edilirler. Çok değişik ortamlarda kolayca yaşayabilen mavi-yeşil algler, sıcaklığı 50°C' nin üzerinde olan kaplıca sularında yaşayabildikleri gibi nemli topraklarda, kar ve hatta buzların üzerinde veya aralarında bile gelişebilmektedirler⁽²⁸⁾.

Mavi-yeşil algler fotosentetik olup, karbondioksiti karbon kaynağı olarak kullanırlar. Ayrıca fotoheterotrof ve kemoheterotrof mavi-yeşil algler de vardır. Bazı mavi-yeşil algler atmosferik azotu bağlayarak amonyum yaparlar, bu nedenle hem CO₂ hem de N₂ bağlayarak arıtma sistemlerinde bakterilere yardımcı olurlar (oksijen çıkararak ve NH₄⁺ sentezleyerek) ikilenme süreleri 3-4 saat olan bu algler başlıcaları *Anabaena*, *Oscillatoria* ve *Microcystis*'tir⁽²⁹⁾.

1.5. Tutuklama Yöntemleri

Tutuklama yöntemleri "taşıyıcıya bağlanma yöntemi ile tutuklama" ve "taşıyıcı içinde alıkonularak tutuklanma" olmak üzere ikiye ayrılmaktadır.

Taşıyıcıya bağlanma yönteminde, suda çözünmeyen (matrikse) tutuklanacak materyalin fiziksel ve kimyasal etkileşimlerle tutuklanması gerçekleştirilmektedir. Adsorpsiyon ile tutuklama, kovalent bağlanma ve çapraz bağlama metotları bu grup içinde yer alır.

Taşıyıcı içinde alıkonularak tutuklama metodunda, tutuklanacak materyal bir polimer matriksin örgü yapısı içerisine (örgü tutuklama) veya etrafı çevrili bir membran içerisine alıkonulması mümkündür.⁽³⁰⁾ Örgü tutuklamasının jel ve fiber tutuklaması olarak iki tipi mevcuttur. Jel tipinde,

doğal polimerler (kollagen, agaroz, selüloz, aljinat, agar, karragenan v.s) kullanılmaktadır. Alg tutuklamasında genellikle aljinat ve karragenan gibi doğal polimerler kullanılmaktadır ⁽³¹⁾.

1.6. Tutuklanmış Mikroalglerle Ağır Metal Adsorpsiyonu

Atık sulardaki metal kontaminasyonu önemli bir çevre sorunudur. Bu kirliliği gidermek amacıyla, tutuklanmış mikroalglerin kullanılması ile ilgili bir çok araştırma mevcuttur. Wilkinson ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada (1990) serbest ve tutuklanmış *Chlorella emmersonii* kullanılarak Hg birikimi tayin edilmiştir ⁽³²⁾. Onikinci günün sonunda, ortamda bulunan Hg'nin %90'nın adsorbe edildiği bulunmuştur. Tutuklanmış alglerin serbest alglere göre adsorpsiyon oranının daha fazla olduğu saptanmıştır ⁽³³⁾.

Chlorella homosphaera hücreleri aljinatta tutuklanarak Cd, Zn ve Au'nun adsorpsiyonu başarıyla gerçekleştirilmiştir ⁽³⁴⁾.

Co, Zn ve Mn'in *Chlorella salina* hücrelerinin aljinata tutuklanması ile adsorpsiyonun gerçekleştiği rapor edilmiştir ⁽³⁵⁾.

Tutuklanmış *Anabaena* ve *Chlorella*'nın Cu, Ni ve Fe gibi ağır metal iyonlarının biosorpsiyonunda büyük potansiyele sahip oldukları saptanmıştır ⁽³¹⁾. Tam ve arkadaşları (1998) aljinata tutuklanmış *Chlorella vulgaris* ile Cu'nun biosorpsiyonunu saptamak için yaptıkları çalışmada, hücre yoğunluğunun artışına bağlı olarak metal adsorpsiyonunun arttığı bulunmuştur ⁽³⁶⁾.

1.7. Adsorpsiyon mekanizması

Atom iyon veya moleküllerin bir katı yüzeyde tutulmasına adsorpsiyon, bu tutulan taneciklerin yüzeyden ayrılmasına desorpsiyon, katıya adsorplayıcı, katı yüzeyinde tutulan maddeye ise adsorplanan denir⁽³⁷⁾. Gazlar için adsorpsiyon, 1773'de Scheele tarafından, çözeltiler için ise adsorpsiyon 1785 yılında Lowitz tarafından gözlenmiştir. Günümüzde ise adsorpsiyonun bir çok doğal, fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemde önemli bir olay olduğu bilinmektedir⁽¹⁷⁾.

Adsorbent yüzeyinde moleküller arasındaki kuvvetlerin denkleşmemiş olmasından adsorpsiyon ileri gelmektedir.

Sabit basınçta ve sabit sıcaklıkta kendiliğinden olduğundan dolayı, adsorpsiyon serbest enerjisi ΔG yani adsorpsiyon sırasındaki serbest entalpi değişimi daima eksi işaretlidir. Gaz veya sıvı ortamında daha düzensiz olan tanecikler katı yüzeyinde tutunarak daha düzenli hale geldiğinden, adsorpsiyon entropisi ΔS yani adsorpsiyon sırasındaki entropi değişimi de daima eksi işaretlidir. Adsorpsiyon serbest entalpisi ve adsorpsiyon entropisinin daima eksi işaretli olması

$$\Delta H = \Delta G + T\Delta S \quad (1)$$

eşitliği uyarınca adsorpsiyon entalpisi ΔH 'nin yani adsorpsiyon sırasındaki entalpi değişiminin eksi işaretli olmasını gerektirmektedir. Adsorpsiyon ısı adı verilen adsorpsiyon entalpisinin eksi işaretli olması, adsorpsiyon olayının daima ısı veren yani ekzotermik olduğunu göstermektedir. Adsorpsiyon ısı

adsorplanan tanecikler ile katı yüzeyindeki doymamış kuvvetler arasındaki etkileşimlerden doğmaktadır⁽³⁷⁾.

1.8 Adsorpsiyon izotermi

Adsorpsiyon bir denge tepkimesine benzer ve çözeltide kalan çözünenin derişimiyle yüzeyde tutulan çözünen derişimi arasında kimyasal potansiyelleri eşitleninceye kadar sürer. Adsorpsiyon dengesi oluştuktan sonra, adsorplanan maddenin çözelti fazındaki derişimi sabit kalmaktadır⁽³⁸⁾.

Bir çözeltiden adsorbentler ile adsorplanan madde miktarı, adsorplanan maddenin derişimi ve sıcaklığının bir fonksiyonudur. Denge durumunda, çözeltide sabit sıcaklıkta kalan çözünen derişimine karşı, birim adsorblayıcı ağırlığında, adsorplanan madde miktarı grafiğe geçirilerek adsorpsiyon izotermi elde edilmektedir⁽³⁹⁾. Adsorpsiyon izotermine matematiksel olarak ifade eden başlıca 3 model vardır⁽¹⁷⁾.

1.8.1 Langmuir modeli

Langmuir modeli, homojen yüzeyler üzerinde adsorpsiyona uygulanmaktadır. Adsorblayıcı üzerinde aynı enerjiye sahip sabit sayıda aktif bölge vardır ve adsorpsiyon enerjisi sabittir. Adsorpsiyon tek tabakalıdır ve maksimum adsorpsiyon, adsorblayıcı yüzeyine bağlanan moleküllerin doymuş bir tabaka oluşturduğu andaki adsorpsiyonla ifade edilmektedir⁽⁴⁰⁾.

Bu model aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$q_d = (C_o - C_d) / m \quad (2)$$

$$q_d = Q_o K C_d / (1 + K C_d) \quad (3)$$

bu denklemde ;

q_d : Dengede birim sorbent ağırlığı başına adsorplanan miktar (mg adsorplanan / g adsorplayıcı).

C_o : Başlangıç çözünen derişimi (mg /L)

C_d : dengede çözeltide kalan çözünen derişimi (mg /L)

m : Sorbentin çözeltideki derişimi (g/L)

K : Enerji (adsorpsiyon net entalpisi) ile ilgili bir sabit (adsorpsiyon sabiti)

Q_o : Yüzeyde tam bir tek tabaka oluşturmak için sorbentin birim ağırlığında adsorplanan miktar (mg / gm.o.)

Langmuir denkleminin 2 doğrusal şekli aşağıda verilmiştir.

$$C_d/q_d = 1/KQ_o + C_d/Q_o \quad (4)$$

ve

$$1/q_d = 1/Q_o + (1/KQ_o)(1/C_d) \quad (5)$$

Çok küçük adsorpsiyon miktarı için, yani $KC_d \ll 1$ ise, özgül adsorpsiyon çözeltideki adsorplananın son derişimi ile orantılıdır ve doğrusal bir adsorpsiyon bağıntısı ile elde edilir. Bu durumda,

$$q_d = Q_o K C_d \quad (6)$$

elde edilir. Adsorpsiyonun fazla olduğu durumlarda, $KC_d \gg 1$ ise ,

$$q_d = Q_o \text{ dir }^{(5)}. \quad (7)$$

1.8.2 Freundlich modeli

Freundlich modeli heterojen yüzeyler üzerinde adsorpsiyona uygulanmaktadır. Bu model aşağıdaki formülle gösterilmektedir.

$$q_d = K_f (C_d)^{1/n} \quad (8)$$

bu denklemde,

K_f : Adsorpsiyon kapasitesi

n : Adsorpsiyon şiddeti

Freundlich modelinin doğrusallaştırılması ile;

$$\ln q_d = \ln K_f + (1/n) \ln C_d \quad (9)$$

Eşitliği elde edilir

1.8.3 Brunauer-Emmett-Teller(BET) modeli

Bir adsorbentin karakterizasyonun da kullanılan önemli parametrelerden biri adsorbentin yüzey alanıdır. İlk defa Brunauer-Emmett-Teller çok tabakalı adsorpsiyon için pratik olarak uygulanabilen bir izoterm denklemini geliştirdiler. BET izotermi ile gözenekli bir katının spesifik yüzey alanını tayin etmek mümkündür. Bu BET izotermine esas uygulamasını oluşturmaktadır ⁽²⁸⁾.

$$q_d = (BC_d Q_0) / [(C_s - C_d) + (B+1)(C_d/C_s)] \quad (10)$$

Bu denklemde,

C_s : çözünenin doymuluk derişimi (mg/L)

B : yüzeyde iç etkileşme enerjisini belirten bir sabit

1.9. Adsorpsiyona etki eden faktörler

Suda yaşayan canlılar üzerine, atık sularda bulunan ağır metal iyonları (civa, krom, bakır, nikel, kurşun, kadmiyum, demir, vb) toksik etki yaparlar. Bu tür metal iyonları ortamdaki indirgeme/yükseltgeme ve nötralizasyonu takiben çöktürme yoluyla ayrılabilirdikleri gibi organizmaların yüzeyine adsorpsiyon (biyosorpsiyon) ile birikerek ortamdaki uzaklaştırılabilir. Hemen bütün organizmaların yüzeyi negatif yüklü olduklarından, pozitif yüklü metal iyonlarını (Cu^{2+} , Ni^{2+} , $\text{Cr}^{3+}/\text{Cr}^{6+}$, Cd^{2+} , $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$, Pb^{2+}) adsorbe etme yeteneğine sahiptirler ⁽⁴¹⁾. Bazı organizmalar metal iyonlarını hücre içine alarak vakuollerde biriktirirler.

Metal iyonlarının yapıya girmesindeki ilk işlem, metal hücre duvarı veya zarı arasındaki etkileşimin sonucunda oluşmaktadır. Prokaryotlar ve ökaryotların dış yüzeyleri, metal ile tepkimeye girebilecek protein ve çeşitli karbonhidratlardan oluşmaktadır ⁽⁴²⁾.

Metal iyonlarının biyosorpsiyonunda kullanılan organizmaların yüzey alanı büyük ve negatif yüklü olmalıdır. Bu sebepten dolayı biyosorpsiyonda algler ve küfler daha etkili olmakla birlikte bakteriler ve mayalar kullanılmaktadır ^(42,43,44).

Metal iyonlarının adsorpsiyonu iki basamakta gerçekleşir. İlk basamak yüzeyde fiziksel adsorpsiyon ya da iyon değişimidir. Bu basamak çok hızlı olup, mikroorganizma metal iyonu ile temasa girdikten kısa bir süre sonra yaklaşık 3-10 dakika da denge oluşmaktadır. Metal adsorpsiyonunda ikinci basamak kimyasal adsorpsiyonla gerçekleşir ve daha yavaştır. Bu

basamakta metal alınımların kompleks oluşturma ve/veya mikro çökelmeyle olmaktadır ^(15,41,45).

Özer ve arkadaşları (1996,1997) Cu^{2+} iyonlarının *Cladophora crispata*'ya adsorpsiyonun da başlangıç pH'sının önemli bir parametre olduğunu, Cu^{2+} iyonları ile alg arasındaki en iyi etkileşimin pH=4.5'da gerçekleştiğini ve daha düşük ve yüksek pH değerlerinde adsorpsiyon hızlarının azaldığını belirlemişlerdir ^(40,45).

Adsorpsiyon kinetiğini ve dengedeki adsorbent miktarını etkileyen parametrelerin başlıcaları : Yüzey alanı, adsorbentin cinsi, metal iyonlarının yükü ve özellikleri, yüzey özellikleri, pH, sıcaklık, adsorbent ve metal iyon derişimleri ve diğer iyonların cins ve derişimleridir.

Temel fizikokimyasal parametreler Co, Cu, Hg ve Ag gibi metalik elementlerin biyolojik uzaklaştırılmasında önemli bir role sahiptir ⁽²³⁾. Au^{3+} , Ag^+ , Hg^{2+} ve UO_2^{2+} gibi bazı metaller kuvvetli bağlanırken, Sr^{2+} metal iyonu daha zayıf olarak bağ yapar ⁽⁴⁶⁾.

Sıcaklığın artmasıyla birlikte biyolojik uzaklaştırma ile alge çoğu metal iyonunun bağlanması da artmaktadır ⁽⁴⁷⁾.

Biyolojik uzaklaştırma işlemini etkileyen en önemli parametre pH'tır. Alglerin kullanımıyla çeşitli toksik metallerin uzaklaştırılması için optimal pH değerleri Tablo 1.1'de verilmiştir.

Tablo 1.1. Metal uzaklaştırılmasında kullanılan optimum pH değerleri

Metal iyonu	Optimal pH	Alg türleri	Referans No
Cu(II)	>5.0	<i>Chlorella vulgaris</i>	(47)
Cu(II)	5.0	<i>Chlorella vulgaris</i>	(48)
Cu(II)	6.5	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	(49)
Cu(II)	5.0	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	(48)
Cd(II)	7.0	<i>Scenedesmus obliquus</i>	(50)
Cd(II)	>5.0	<i>Chlorella vulagaris</i>	(47)
Hg(II)	3-7	<i>Chlorella vulagaris</i>	(47)
Hg(II)	6.0	<i>Scenedesmus obliquus</i>	(50)
Zn(II)	>5.0	<i>Chlorella vulgaris</i>	(47)
Cr(III)	>5.0	<i>Chlorella vulgaris</i>	(46)
Cr(III)	3.9	<i>Chlorella vulgaris</i>	(51)

Biyolojik uzaklaştırma için optimal pH, kullanılan alg tipi ve diğer şartlara bağlıdır. Örneğin Pb^{2+} yüksek pH da bağlanırken, Cr(VI) düşük pH da bağlanır.

2. MATERYAL VE YÖNTEM

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Aljinat, Bakır sülfat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), **Kalsiyum klorür** (CaCl_2), **Sodyum nitrat** (NaNO_3), **Potasyum hidrojen fosfat** (K_2HPO_4), **Magnezyum sülfat** ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), **Citric acid** ($\text{HOC}(\text{CO}_2\text{H})(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$), **Ferric ammonium citrate** ($(\text{NH}_4)_2\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), **Na₂- EDTA** (Selecton B), **Disodyum karbonat** (Na_2CO_3) SigmaChemical Company (St. Louis, USA) firmasında;

Hidroklorik asit (HCl), **Bakır standartı** Merck AG (Darmstadt) firmasından; çalışmalarda kullanılan tüm kimyasallar, analitik saflıkta temin edildi.

2.1.2. Kullanılan Cihazlar

Çalkalamalı inkibatör (Heidolph, Unimax 1010), pH metre (Hanna, pH 211), Elektronik terazi (And GR-120 model), Atomik Adsorpsiyon Spektrofotometre (GBC 933), Etüv (Nüve İnkübatör), Çoklu karıştırıcı (Velp Scientifica), SEM (JEOL Model JMS 5600)

2.2. Yöntem

2.2.1. Mikroorganizma

Çalışmalarda, temin edilen Cyanophyta grubuna ait mikroalg *Synechocystis aquatilis* kullanılmıştır. Organizmanın üretimi için sıvı BG-11 besiyeri kullanıldı ⁽⁵²⁾.

2.2.2. *Synechocystis aquatilis*'in Ca-aljinata tutuklanması

2.0 g aljinat (*Macrosytia pyrifera*, high viscosity, Sigma, Chem.Co.,USA) distile su içerisinde çözüldü ve 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj edilerek 3 kez yıkanan alg kültürü ile karıştırıldı. Karışım, sürekli karıştırılan 100mM CaCl₂ çözeltisi içerisinde pastör pipetiyle damlatılarak alg içeren aljinat kürelerinin oluşması sağlandı. Alg içeren küreler damlatıldığı CaCl₂ çözeltisi içerisinde 1 saat karıştırıldı. Hazırlanan küreler, deneylerde kullanılmak üzere 5 mM CaCl₂ içinde +4°C'de saklandı. Alg içeren kürelerin bir kısmı ayrıldı ve 98 °C 'de 10 dakika kaynatılarak tutuklanmış alglerin inaktif formu elde edildi. Boş aljinat küreleri ile tutuklanmış aktif ve inaktif alg içeren aljinat küreleri 50°C 'de 1 gece kurutulup, tartılarak tutuklanmış örneklerin kuru ağırlık tayini yapıldı.

2.2.3. Cu²⁺ İyonu İçeren Biyosorpsiyon Ortamlarının Hazırlanması

Farklı konsantrasyondaki Cu²⁺ stok çözeltisi, CuSO₄.7H₂O'dan hazırlandı. Başlangıç konsantrasyonunun Cu²⁺ iyonunun adsorpsiyonuna etkisinin araştırıldığı çalışmalarda 20-400 ppm arasında hazırlanmış Cu²⁺ çözeltisi kullanıldı. pH'nın biosorpsiyon oranına etkisinin saptandığı çalışmalarda ise 100 ppm Cu²⁺ çözeltisiyle çalışmalar yapıldı.

2.2.4. Deney Düzeneginin Hazırlanması

Adsorpsiyon çalışmaları için, 100 ml Cu²⁺ çözeltisi , 250 ml'lik erlenmayer olacak şekilde hazırlanan örnekler, sabit sıcaklık ve karıştırma hızına sahip inkübatörde Ca-aljinata tutuklanmış aktif ve ısıyla inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* ile 21°C 'de, 200 rpm döngüsel çalkalama hızında muamele edildi. Başlangıç Cu²⁺ konsantrasyonunun adsorpsiyona etkisinin araştırıldığı çalışmalarda, 20-400 ppm arasında hazırlanmış Cu²⁺ çözeltisi, pH'nın biyosorpsiyona etkisinin incelendiği çalışmalarda ise pH:1.0-6.0 arasında hazırlanmış 100 ppm Cu²⁺ çözeltisi kullanıldı.

2.2.5. Analitik İşlemler

Sıvı ortamlarda Cu²⁺ iyonunun biyosorpsiyonu kesikli sistemlerde çalışıldı. Uygulanan inkübasyon periyotlarından sonra (90 dakika) biyosorbentlerden sıvı faz ayrıldı ve bu fazdaki Cu²⁺ iyonlarının konsantrasyonu GBC Atomik Adsorpsiyon Spektrofotometre cihazı

kullanılarak tayin edildi. Cu^{2+} iyonları için çalışılan dalga boyu 222,6 nm 'dir. Kullanılan cihaz periyodik olarak standart Cu^{2+} solüsyonu ile kalibre edildi.

2.2.6. SEM Çalışması

Boş aljinat küreleri ile tutuklanmış aktif ve ısı ile inaktive edilmiş mikroalg içeren aljinat küreleri vakum altında ince bir altın ile kaplandı ve elektron mikroskobu ile tarandı.

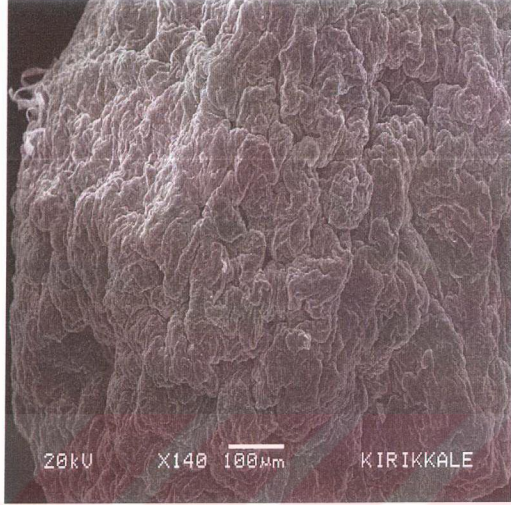


3. ARAŞTIRMA BULGULARI

3.1. Aljinata Tutuklanmış Biyosorbent özelliği

Çalıőmalarımızda sulu ortamlardan Cu^{2+} 'ın uzaklaştırılması için Ca-aljinat içerisine tutuklanmış *Synechocystis aquatilis* kullanıldı. Elektron Mikroskop fotoğrafı çekimleri için rnekler, Bölüm 2.2.6.'de verildiği Şekilde hazırlanandı. Boş aljinat küresi ve *Synechocystis aquatilis* tutuklanmış aljinat küresi fotoğrafları Şekil 3.1(A) ve (B) 'de verilmiştir.





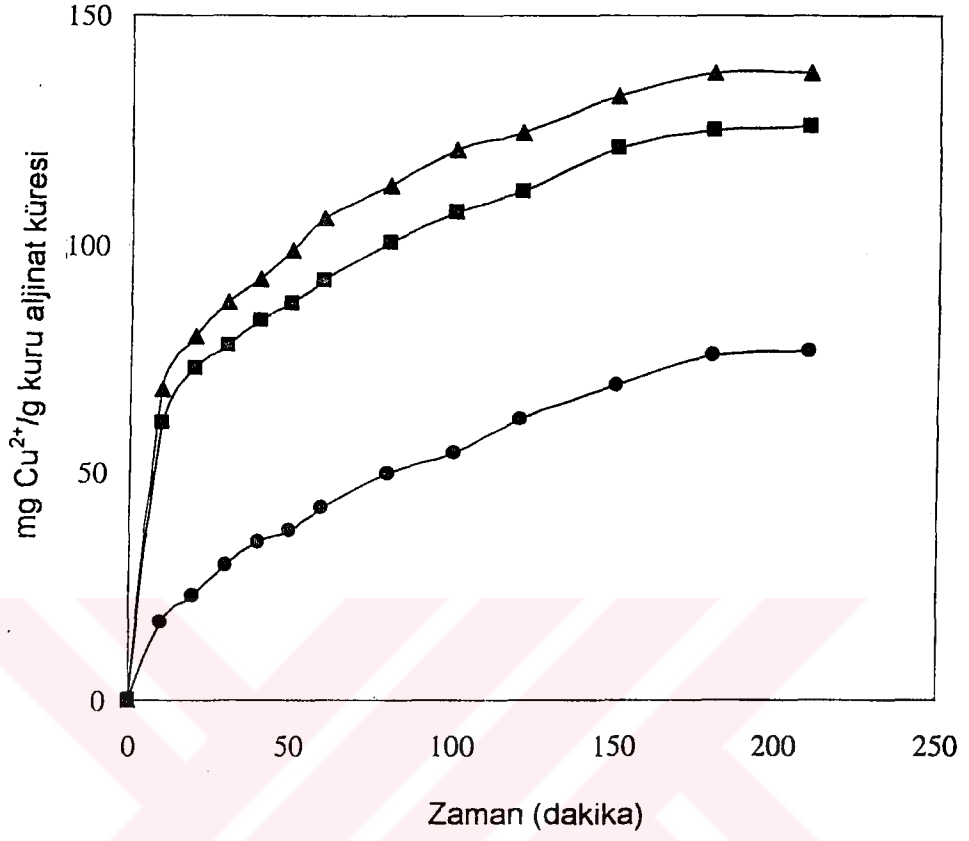
Şekil 3.1. Boş aljinat küresi (A) ve *Synechocystis aquatilis* tutuklanmış aljinat küresi (B)

3.2. Cu²⁺ Biyosorpsiyonuna Zamanın Etkisi

Cu²⁺ biyosorpsiyonuna zamanın etkisini belirlemek amacıyla, öncelikle *Synechocystis aquatilis* Bölüm 2.2.2.'de anlatıldığı şekilde aljinat içerisine tutuklandı. Bölüm 2.2.4.'de belirtilen deney düzeneği hazırlandı. Atomik adsorpsiyon Spektrofotometre (AAS) ile yapılan ölçümler sonucu elde edilen sonuçlar Şekil 3.2.'de verilmiştir.

3.3. Biyosorpsiyona pH'nın Etkisi

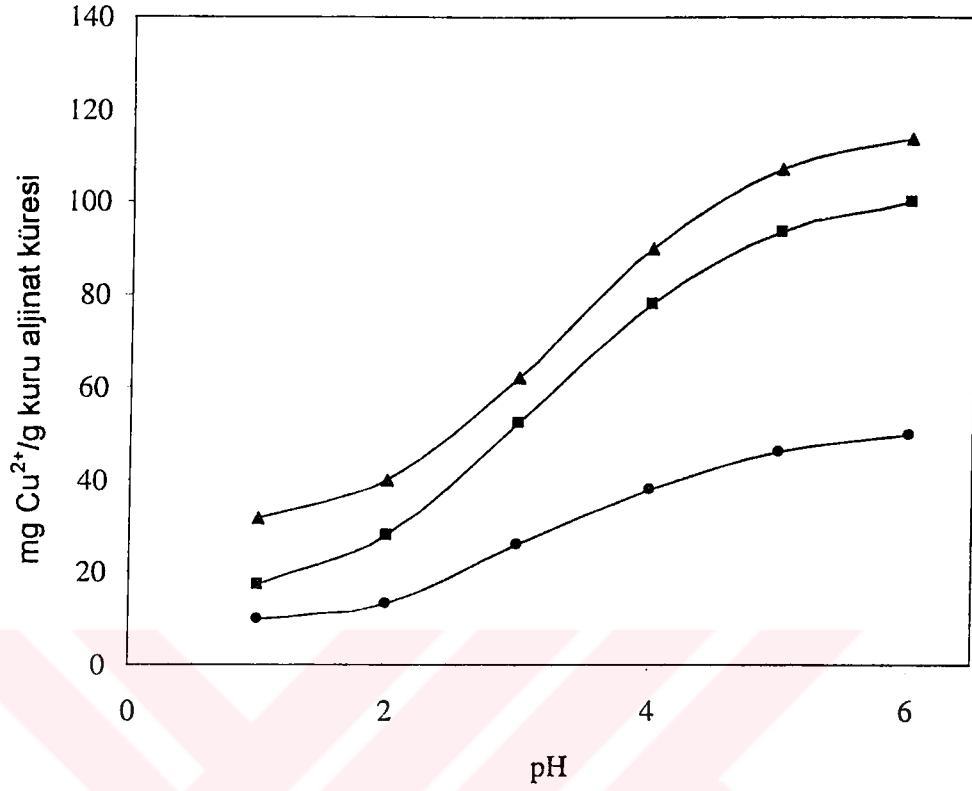
Boş küre, tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis*' in Cu²⁺ iyonlarının adsorpsiyonuna farklı pH'ların etkisinin denendiği çalışmadaki reaksiyon koşulları bölüm 2.2.4 de verildiği şekilde hazırlanmıştır. 100 ppm Cu²⁺ içeren çözeltilerin pH'ları pH:1.0-60 arasında ayarlanmıştır. Atomik Adsorpsiyon Spektrofotometre (AAS) ile yapılan ölçümler sonucu elde edilen sonuçlar Şekil 3.3.'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Cu²⁺ biyosorpsiyonuna zamanın etkisi.

- : Boş aljinat küresi; ■: aljinata tutuklanmış canlı *Synechocystis aquatilis* ▲: aljinata tutuklanmış ısı ile inaktif edilmiş *Synechocystis aquatilis*'

(Sıcaklık=25°C, başlangıç Cu²⁺ iyonu konsantrasyonu=100 ppm)



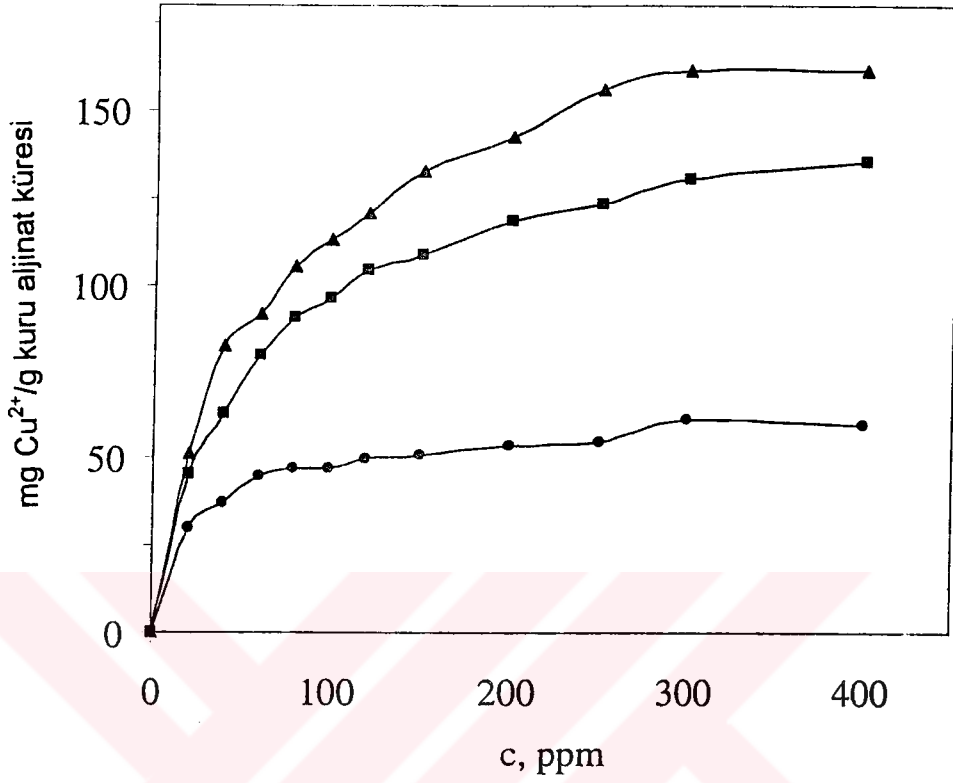
Şekil 3.3. *Synechocystis aquatilis*'in Cu²⁺ iyonu biyosorpsiyonuna pH'nın etkisi. ●: Boş aljinat küresi; ■: aljinata tutuklanmış canlı *Synechocystis aquatilis* ▲: aljinata tutuklanmış ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis*'

Sıcaklık=25°C, Başlangıç Cu²⁺ iyonu konsantrasyonu=100 ppm, Biyosorpsiyon zamanı=90 dakika.

3.4. Başlangıç Konsantrasyonunun Biyosorpsiyona Etkisi

Cu^{2+} biyosorpsiyonuna başlangıç konsantrasyonunun etkisini belirlemek amacıyla, öncelikle *Synechocystis aquatilis* Bölüm 2.2.2.'de anlatıldığı şekilde aljinat içerisine tutuklandı. Reaksiyon koşulları bölüm 2.2.4'de verildiği şekilde hazırlanmıştır. Çalışılan konsantrasyon aralıkları 20-400 ppm olarak seçildi. Adsorpsiyon Spektrofotometre (AAS) ile yapılan ölçümler sonucu elde edilen sonuçlar Şekil 3.4.'de verilmiştir.

Tablo 3.1, 3.2 ve 3.3'de boş aljinat küresi, canlı *Synechocystis aquatilis* içeren aljinat küreleri ve ısı ile inaktive edilmiş tutuklanmış *Synechocystis aquatilis'* in farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda gözlenen adsorpsiyon verimleri gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Başlangıç konsantrasyonunun biyosorpsiyona etkisi.

- : Boş aljinat küresi; ■: aljinata tutuklanmış canlı *Synechocystis aquatilis* ▲: aljinata tutuklanmış ısı ile inaktif edilmiş *Synechocystis aquatilis*

(Sıcaklık=25°C, pH=5.0, Biyosorpsiyon zamanı=90 dakika)

Tablo 3.1. Farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda boş aljinat kürelerinin adsorpsiyon verimi

C_0 (ppm)	C_{ads} (ppm)	Verim (%)
20	12	60
40	15	37.5
60	18	30
80	18	22.5
100	18	18
120	20	17
150	20	13.3
200	21.5	10.75
250	22	8.8
300	24.5	8.1
400	24	6

Tablo 3.2. Farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda tutuklanmış canlı *Synechocystis aquatilis* aljinat kürelerinin adsorpsiyon verimi

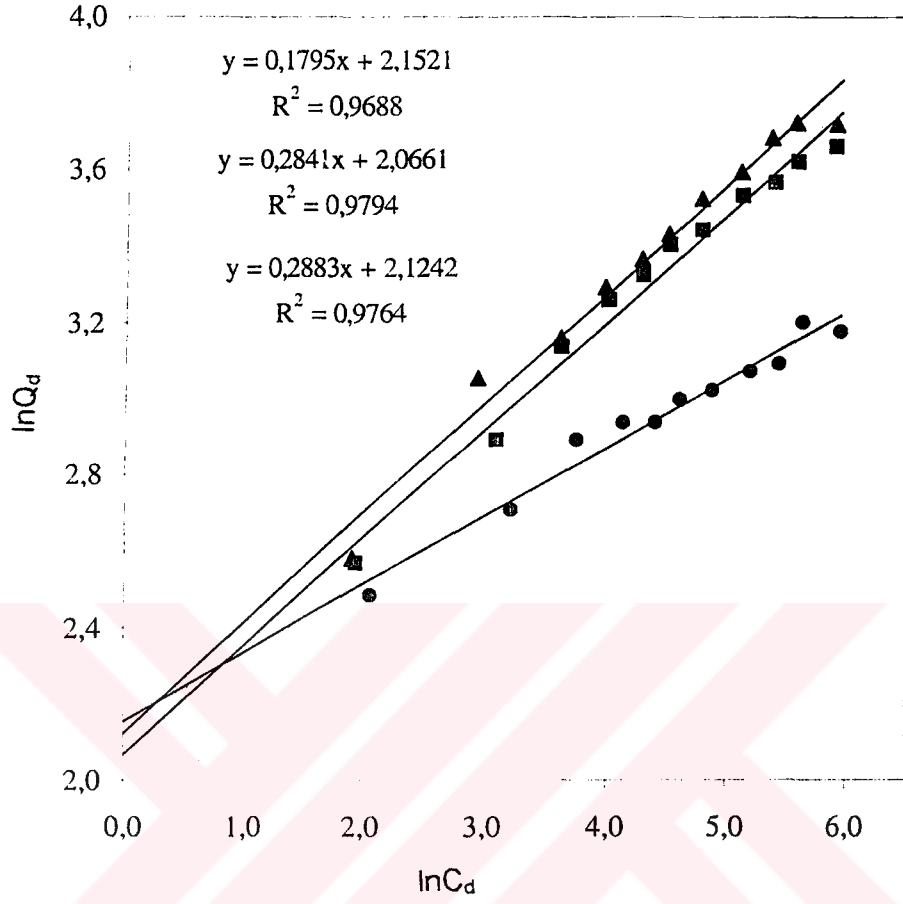
C_0 (ppm)	C_{ads} (ppm)	Verim (%)
20	13	65
40	18	45
60	23	39
80	26	33
100	28	28
120	30	25
150	31	21
200	34	17
250	35.5	14.2
300	37.5	12.5
400	39	9

Tablo 3.3. Farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda tutuklanmış ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* aljinat kürelerinin adsorpsiyon verimi

C_0 (ppm)	C_{ads} (ppm)	Verim (%)
20	13.2	66
40	21.2	53
60	23.5	40
80	27	34
100	29	29
120	31	26
150	34	23
200	36.5	18.5
250	40	16
300	41.5	13.5
400	41.4	10.5

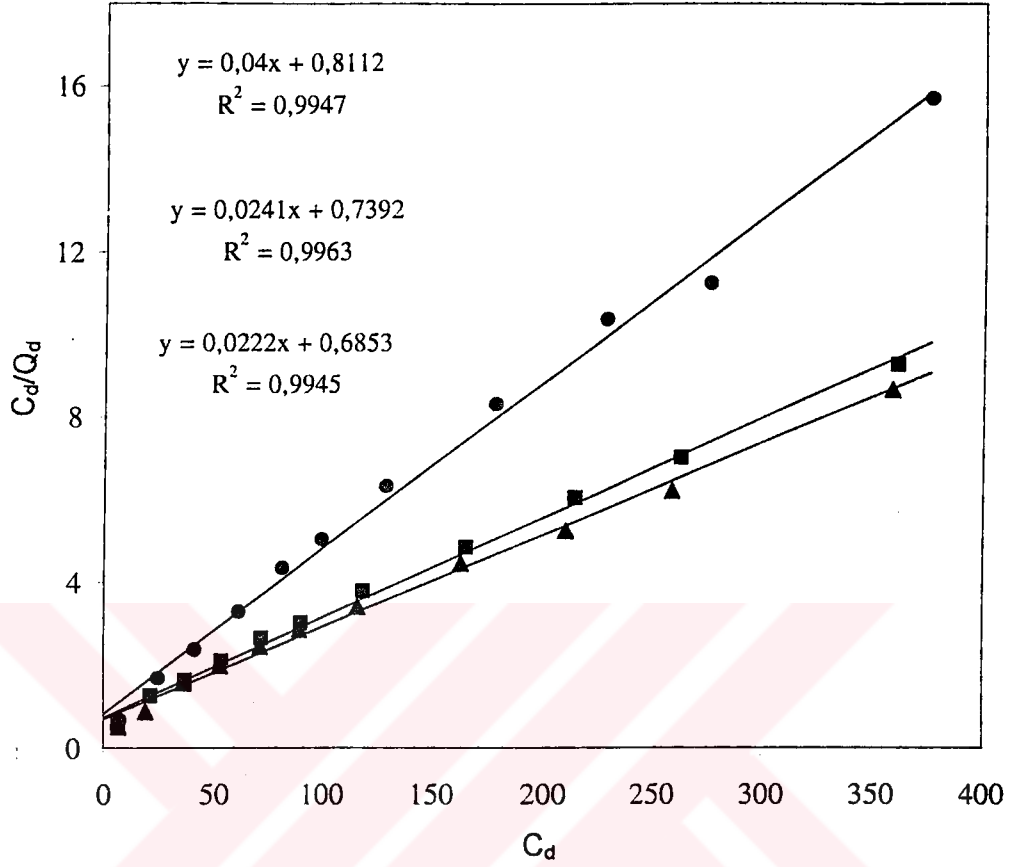
3.5. Adsorpsiyon İzotermi

Çalışmamızda, Bölüm 1.8.1 ve 1.8.2 'de anlatılan Langmuir ve Freundlich'in adsorpsiyon izotermi denendi. Bu amaçla, optimum çalışma şartlarında *Synechocystis aquatilis*'in Cu^{2+} iyonlarını adsorplama kapasitesi ve şiddetini belirlemek amacıyla sabit mikroorganizma derişiminde başlangıç iyonu derişimlerini değiştirerek deney yapıldı ve dengede birim adsorplayıcı kütlesinde adsorplanan metal miktarı (y : ppm Me/g alg) ile ortamda kalan metal iyonu derişimleri (C_1 : ppm) hesaplanarak; Freundlich ve Langmuir adsorpsiyon modellerine uygunluğu test edildi. Şekil 3.5.'de Freundlich adsorpsiyon modeline göre elde edilen adsorpsiyon izotermi ve Şekil 3.6.'da Langmuir adsorpsiyon modeline göre elde edilen adsorpsiyon izotermi verilmiştir.



Şekil 3.5. Farklı Cu^{2+} iyonlarının boş küre, canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* tutuklanmış aljinat küreleri ile adsorpsiyonunda Freundlich adsorpsiyon modeline göre elde edilen adsorpsiyon izotermeleri

- : Boş aljinat küresi; ■: aljinata tutuklanmış canlı *Synechocystis aquatilis* ▲: aljinata tutuklanmış ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis*'



Şekil 3.6. Farklı Cu^{2+} iyonlarının boş küre, canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* tutuklanmış aljinat küreleri ile adsorpsiyonunda Langmuir adsorpsiyon modeline göre elde edilen adsorpsiyon izotermi

●: Boş aljinat küresi; ■: aljinata tutuklanmış canlı *Synechocystis aquatilis* ▲: aljinata tutuklanmış ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis*

4. TARTIŞMA

Aljinat suda çözünebilen doğal bir polimer olduğundan ve kalsiyum içerisinde hidrojel oluşturabildiğinden mikroorganizmaların ve enzimlerin tutuklanmasında kolaylıkla kullanılmaktadır. Bu şekilde tutuklanan mikroorganizmaların adsorpsiyon işlemlerinde tekrar tekrar kullanılma şansı vardır. Şekil 3.1a ve 3.1b de boş aljinat küresi ve *Synechocystis aquatilis* tutuklanmış aljinat küresinin elektron mikroskop fotoğrafları yer almaktadır. Örnekler, Bölüm 2.2.7'de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. Şekil 3.1b'de aljinat içerisine tutuklanmış mikroalgler açıkça görülmektedir. Organizmalar aljinat küresinin her tarafına homojen şekilde dağılmıştır. Yüzeyde görülen mikroorganizmalar Cu^{2+} iyonlarının biyosorpsiyonunu başarıyla gerçekleştirmektedir. Kuru ağırlık olarak bir aljinat küresi içerisinde 0.001 g *Synechocystis aquatilis* tutuklanmıştır.

Cu^{2+} konsantrasyonu sabit tutularak (100 ppm) değişen zaman aralıklarında Cu^{2+} biyosorpsiyon oranı belirlendiği çalışmalarda, çalışılan zaman aralığı 10-300 dakika olarak seçildi. Şekil 3.2 'de zamana bağlı Cu^{2+} biyosorpsiyon değerleri verilmiştir. Aljinat küresine tutuklanmış ve inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis*'in Cu^{2+} iyonu biyosorpsiyon oranı, tutuklanmış inaktive edilmemiş göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Doygunluk seviyesi üç saatte saptanmış olmasına rağmen başlangıçtaki biyosorpsiyon oranının hızlı olduğu saptanmıştır. İlk 10 dakikada %50 Cu^{2+} iyonunun adsorbe edildiği, 60 dakikada %75 ve 100 dakikada %85 oranında Cu^{2+} iyonu adsorbe edildiği belirlenmiştir.

Arıcan ve arkadaşlarının (2002) yaptıkları çalışmada, aktif çamur kullanılarak nikel adsorpsiyonunda 100. dakikada dengeye ulaşıldığı saptanmıştır. ⁽⁵³⁾

Blanco ve arkadaşları (1999) çalışmalarında Cyanophyta *Phormidium laminosum* tutuklayarak ağır metal uzaklaştırmasını gerçekleştirmişlerdir. Bakır adsorpsiyonu için dengeye ulaşma zamanını 100 dakika olarak saptamışlardır. ⁽⁵⁴⁾

Boş küre, tutuklanmış canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis*'in Cu^{2+} iyonlarının adsorpsiyonuna farklı pH'ların etkisinin denendiği çalışmalarda, pH:5,0'te biyosorpsiyon oranının maksimum olduğu gözlemlendi (Şekil 3.3). pH 6,0'nın üstündeki pH değerlerinde Cu^{2+} çözeltisinde çökme oluştuğu için çalışmada pH 6,0 üzerindeki pH değerleri denenemedi.

pH değerinin artmasına bağlı olarak gözlenen Cu^{2+} iyonunun adsorpsiyonunda meydana gelen artış, alg yüzeyinin OH iyonu adsorpsiyonu ile daha fazla negatif yük yoğunluğuna sahip olması ve böylece pozitif yüklü Cu^{2+} iyonlarının elektrostatik etkileşmelerle daha kolay adsorplanması ile oluşmaktadır. pH: 6.0 'da adsorplanan miktarda gözlemlenen sabitleşme, Cu^{2+} iyonlarının hidrolize uğramasına bağlanabilir.

Gardae-Torresday ve arkadaşlarının (1998) tutuklanmış *Synechococcus* PCC 7942 ile yaptıkları çalışmada, maksimum adsorpsiyonunun pH: 5.0 'de gerçekleştiği belirtilmiştir. ⁽⁵⁵⁾

Çetinkaya ve arkadaşları (1999) *Scenedesmus obliquus* ve *Chlorella vulgaris* ile ağır metallerin uzaklaştırılması çalışmasında da, Cu^{2+} iyonlarının

maksimum adsorpsiyonu için uygun pH değerini, pH 5.0 olarak bulmuşlardır

(56)

Cu^{2+} biyosorpsiyonuna başlangıç konsantrasyonunun etkisini belirlemek amacıyla yapılan çalışmaların elde edilen sonuçları Şekil 3.4'te gösterilmiştir. Boş aljinat küresi için 100 ppm'den sonra adsorpsiyon oranında kaydadeğer bir değişiklik gözlenmemiştir. Canlı *Synechocystis aquatilis* içeren aljinat kürelerinin biyosorpsiyon kapasiteleri ısı ile inaktive edilmiş tutuklanmış *Synechocystis aquatilis*'e kıyasla daha düşük bulunmuştur.

Adsorplanan madde ve çözücünün özellikleri, adsorpsiyonu etkileyen önemli parametrelerden birisidir. Çözünmüş madde çözücü sistemine ne kadar kuvvetle bağlanmışsa, yüzeye tutunma eğilimi o kadar az olmaktadır. Tablo 3.1, 3.2 ve 3.3'de boş aljinat küresi, canlı *Synechocystis aquatilis* içeren aljinat küreleri ve ısı ile inaktive edilmiş tutuklanmış *Synechocystis aquatilis* in farklı Cu^{2+} iyonu konsantrasyonunda gözlenen adsorpsiyon verimleri gösterilmiştir. Tablolardan da görüldüğü gibi, başlangıç Cu^{2+} iyonu konsantrasyonu arttıkça adsorplama verimi düşmektedir.

Optimum çalışma şartlarında *Synechocystis aquatilis*'in Cu^{2+} iyonlarını adsorplama kapasitesi ve şiddetini belirlemek amacı ile sabit mikroorganizma derişiminde başlangıç iyonu derişimlerini değiştirerek yapılan deneylerde dengede birim adsorplayıcı kütesinde adsorplanan metal miktarı (y : ppm Me/g alg) ile ortamda kalan metal iyonu derişimleri (C_1 : ppm) hesaplanarak; Freundlich ve Langmiur adsorpsiyon modellerine uygunluğu test edildi. Freundlich adsorpsiyon izoterminden elde edilen, K_f

ve $1/n$ 'nin büyüklüğü atıksudaki metal iyonlarının mikroorganizmalarla ne kadar kolaylıkla uzaklaştırılabileceğini gösterir. K_f , biyosorbentin kapasitesinin bir ölçüsüdür. $1/n$ ise adsorpsiyon kapasitesi üzerine derişimin etkisini gösterir. n 'nin 1'den küçük değerlerinde yüzey tabakası arasındaki kuvvetler birbirini çekerler; 1'den büyük değerlerinde ise bu kuvvetler birbirlerini iterler. Şekil 3.5'te farklı Cu^{2+} iyonlarının boş küre, canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* tutuklanmış aljinat küreleri ile adsorpsiyonunda Freundlich adsorpsiyonuna göre elde edilen adsorpsiyon izotermi gösterilmiştir. İnaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* kürelerinin K_f ve n değerleri ile adsorpsiyon kapasitesinin, canlı *Synechocystis aquatilis* içeren aljinat küreleri ve boş aljinat kürelerine göre daha fazla olduğu saptanmıştır.

Langmuir adsorpsiyon izoterminden elde edilen Q_0 değerinin y (dengede birim adsorbent kütlesinde adsorblanan metal miktarı) değerinden büyük olması ağır metal iyonlarının mikroorganizma yüzeyine tek tabakalı bağlandığının bir göstergesidir.

En uygun adsorpsiyon koşullarında elde edilen adsorpsiyon izoterminden (pH:5.0, T:25 °C, karıştırma hızı: 200 rpm,) farklı konsantrasyonlardaki Cu^{2+} iyonlarının boş küre, canlı ve ısı ile inaktive edilmiş *Synechocystis aquatilis* tutuklanmış aljinat kürelerine adsorpsiyonunun Langmuir izotermine daha iyi uyduğu saptanmıştır.

KAYNAKLAR

1. C. Huang and H.H. Chiu , Wat.Sci.Tech.,30(3),245-253, (1994).
2. D. Khummongkal, G.S. Canterfor and C. Fryer Biotech. and Bioeng., 24,2643-2660,(1982).
3. S. Capelo, M.F. Vilhane, M.L.S.S Gonçalves, and M.A. Sampayo, Wat. Res., 27 (10), 1563-1568. (1993).
4. G.W. Garnham, G.A. Codd, and G.M. Gadd, Applied Microb. And Biotech., 37 (5), 679-684 (1992)
- 5.T. Kirk, Stemple, CCAB.97, (1997)
6. L.R. Drake and G.D. Rayson, Analytical Chemistry News and Features, 68 (1), 22a-27a. (1996)
7. A. Kapoor , T. Viraraghavan, D.R. Cullimore, Biores Technol; 70: 95-104, (1999)
8. D. Mittar, P.K. Khanna, S.S. Marwaha, J.F. Kennedy, J Chem. Tech Biotechnol;26: 1139-1145, (1992)
9. S. Okino, K. Wasaki, O. Yagi, H. Tanaka,.Biotechnol Lett.;22:783-788, (2000).
10. N. Sağlam, R. Say, A. Denizli, S. Patir, M.Y. Arica, Process Biochem.; 34.725-730, (1999)
11. R.H. Crist, J.R. Martin, D. Carr, J.R. Watson, H.J. Clarke, Environ sci technol.; 28:1851866,(1994).
12. W. Jianlong, N. Horan, E. Stentiford, Q. Yi, Process Biochem, , 35, 465-469 (2000).

13. Z. Aksu, T. Kutsal, TUBİTAK, Bilim ve Teknik Dergisi, Eylül,91-93, (1997).
14. Z. Aksu, T. Kutsal, Environmental Tech.,11, 979-987 (1990).
- 15.Z. Aksu, Y. Sağ, T. Kutsal, Doğa-Tr.J.of Eng and Env. Sci. 16, 73-80 (1990).
- 16.Z. Aksu, Y. Sağ, M. Nourbakhsh, T. Kutsal, Doğa-Türk Mühendislik ve Çevre Bilimleri Dergisi (1994).
- 17.M. Nourbakhsh, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara, 3-18, 31-35, (1991).
- 18.F. Şimşekcan, Y. Sağ, Z. Aksu, T. Kutsal, Bilim ve Teknik Dergisi, 91-92, (1997).
- 19.G.M. Gadd, Biotechnology:Biosorption. Chemistry and Industry, 421-426, (1990).
- 20.S. Maeda, T. Skaguchi, İntroduction to Applied Phycology, Academic Publishing, The Hague pp.109-136 (1990).
- 21.L.C. Brierley, Geomicrobiology J., 8.201-223 (1990).
22. V. Majidi, J.A. Holcombe, J. Analytical Atomic Spectrometry 4, 439-442 (1989).
23. B. Volesky, Z.R. Holan, Biotechnol. Proc., 11, 235-250 (1995).
- 24.A. Kapoor, T. Viraraghavan, Biores. Technol., 61, 221-227 (1995)
25. E. Fourest, J.C. Roux, Appl. Microbiol. Biotechnol., 37, 339-403 (1992).
26. W.E. Wild, J.R. Benemann, Biotech. Adv., 11, 781-783 (1993).
- 27.J.L. Gardea, K.J. Torresday, J.H. Tiemann, J.A. Gonzales, M.S. Herring, Solvent. Extr. İon Exch. 14, 119 (1994).

28. Z. Aksu, T. Kutsal, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 52, 109-118 (1991).
29. N. Kuyucak, B. Volesky, *Biotechnology and Bioengineering*, 33, 823-831 (1989).
30. T. Danışman, Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale, Haziran, (2002).
31. N. Mallick, L.C. Rai, *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 10, 439-443 (1994).
32. S.C. Wilkinson, K.H. Goulding, P.K. Robinson, *J. Apply. Phycol.*, 2, 223-230 (1990).
33. P.K. Robinson, J.Q. Reeve, K.H. Goulding, *Biotechnol. Lett.*, 10, 17-20 (1989).
34. A.C.A da Costa, S.F.G. Leite, *Bitechnol. Lett.*, 13, 559-562 (1991).
35. G.W. Graham, G.A. Codd, G.M. Gadd, *Environ. Sci. Tech.*, 26, 1764-1770 (1992).
36. N.F.Y. Tam, Y.S. Wong, C.G. Simpson, Springer-Verlag and Landes Bioscience, 17-35 (1998).
37. Y. Sarıkaya, *Fizikokimya*, Gazi Büro Kitabevi, 1. Baskı, Ankara, 633-637, 640-647 (1993).
38. Y. Sağ, Hacettepe Üniversitesi, Doktora Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Müh. Ana Bilim Dalı, 5-11, 28-29, 41-43 (1993).
39. F. Şengül, Y.E. Küçükgül, *Çevre Mühendisliğinde Fiziksel Kimyasal Temel İşlemler ve Süreçler*, Müh. Mimarlık Fak. Yayın Bürosu, İzmir, 162-165 (1998).

40. A. Özer, D. Özer, H.İ. Ekiz, Z. Aksu, T. Kutsal, A. Çağlar, Doğa-Tr. J.of Eng.and Env. Sci., 21, 183-188 (1997).
41. B. Wehrheim, M. Wettern, Applied Microb. And Biotech., 41(6), 725-728, (1994).
42. C. Huang, H.H. Chiu, Wat. Sci. Tech., 30(3), 245-253 (1994).
43. A.B. Norberg, H. Persson, Biotech. and Bioeng., 26, 239-245, (1984).
44. J.S. Chang, J. Hong, Biotech. and Bioeng., 44, 999-1006, (1994).
45. Z. Aksu, D. Özer, H.İ. Ekiz, T. Kutsal, A. Çağlar, Env. Tech., 17(2), 215-220 (1996).
46. G.W. Bedell, D.W. Darnall, CRC Press. Boca Raton, Florida (1990).
47. B. Greene, G.W. Bedell, Introduction to Applied phycology, Academic Publishing, The Hague pp-109-136, (1990).
48. H.B. Xue, L. Sigg, Wat. Res. 24, 1129-1136, (1990).
49. J.M. Hassett, J.C. Jennett, J.E. Smith, App. Env. Microbiol. 41, 1097-1106, (1981).
50. J. Sneddon, C.P. Pappas, American Environ. Lab. Pp. 9-13, (1991).
51. J. Chang and S. Hong, J. Biotech. and Bioeng., 44, 999-1006, (1994).
52. R. Rippka, Methods of Enzymology, 167, 3-27, (1988).
53. B. Arıcan, C.F. Gökçay, U. Yetiş, Process Biochemistry, 37, 1307-1315, (2002).
54. A. Blanco, B. Sanz, M.J. Llama, J.L. Sera, Journal of Biotechnology, 69, 227-240, (1999).
55. J.L. Gardea-Torresdey, J.L. Arenas, N.M.C. Francisco, K.J. Tiemann, R. Webb, Journal of Hazardous, 1, (1998)

56.G.Dönmez ,Çetinkaya, Z. Aksu, A. Öztürk, T. Kutsal, *Process Biochemistry*, 34 , 885-892, (1999)

