

**FARKLI *KLEBSIELLA* TÜRLERİ İLE SİYANÜR
BİYOYIKIMININ ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF CYANIDE BIODEGRADATION BY
DIFFERENT *KLEBSIELLA* STRAINS**

NERMİN HANDE AVCIOĞLU

Doç. Dr. İŞİL SEYİS BİLKAY

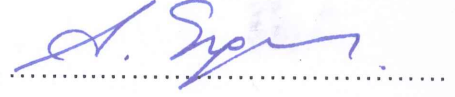
Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü
DOKTORA TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2015

NERMİN HANDE AVCIOĞLU'nun hazırladığı "Farklı *Klebsiella* Türleri ile Siyanür Biyoyıkımının Araştırılması" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

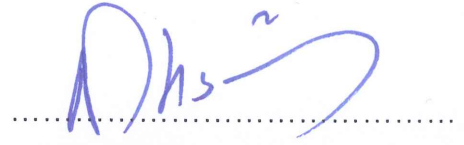
Prof. Dr. Aysun ERGENE
Başkan



Doç. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY
Danışman



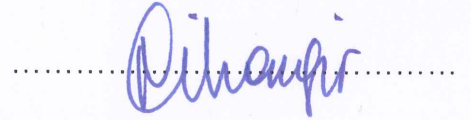
Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ
Üye



Prof. Dr. Güven URAZ
Üye



Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından DOKTORA TEZİ olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma SEVİN DÜZ
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Sevgili Annem, Babam, Eşim ve Ece'me,

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanması durumunda ilgili eserler bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversitede veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

21/12/2015



NERMİN HANDE AVCIOĞLU

ÖZET

FARKLI *KLEBSIELLA* TÜRLERİ İLE SİYANÜR BİYYOYIKIMININ ARAŞTIRILMASI

Nermin Hande AVCIOĞLU

Doktora, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY

Aralık 2015, 106 Sayfa

Bu çalışmada, farklı *Klebsiella* türleri (*K. ornithinolytica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. rhinoscleromatis* ve *K. terrigena*) ile siyanür biyoyikımı amaçlandı. Bu bağlamda öncelikle 5 farklı *Klebsiella* türüne ait çeşitli suşların siyanür biyoyikım oranları karşılaştırıldı ve bu türlerin en verimli siyanür biyoyikımını gerçekleştiren suşları belirlendi. *K. ornithinolytica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. rhinoscleromatis* ve *K. terrigena* türleri arasında en yüksek siyanür biyoyikım oranlarının sırasıyla %74,83, %95,28, %98,27, %73,01 ve %68,88 olduğu bulundu. %90'ın üzerinde siyanür biyoyikımı yapan türler olan *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* çalışmanın devamında kullanılmak üzere seçildi. Her iki *Klebsiella* türünün de siyanür içeren ortamda ilk 24 saat sonunda %70'in üzerinde siyanür biyoyikımı yaptıkları saptandı. Siyanür biyoyikımı için uygun fizyolojik koşullar *K. pneumoniae* türü için 0,5 mM potasyum siyanür konsantrasyonunda, pH 7'de, 25°C'de, 150 rpm çalkalama hızında, 3 gün, *K. oxytoca* türü için ise, 0,5 mM potasyum siyanür konsantrasyonunda, pH 7'de, 30°C'de, 100 rpm çalkalama hızında, 5 gün olarak belirlendi. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile potasyum hekzasiyanoferat (II) trihidratın ve sodyum ferrosiyanoür dekahidratın biyoyikıma uğratıldığı ve söz konusu siyanür biyoyikım oranlarının *K. pneumoniae* için sırasıyla %84, %87,5 ve *K. oxytoca* için ise %87,5 ve %78,5 olduğu bulundu.

Çalışmada incelenen diğer bir siyanür kaynağı olan potasyum tetrasiyanonikelat (II) hidratın ise *K. pneumoniae* türü ile biyoyıkıma uğratılmadığı, *K. oxytoca* türü ile ise %27 oranında biyoyıkıma uğratıldığı belirlendi. Siyanür ile kirlenmiş alanlarda bulunabilecek değişen konsantrasyonlardaki (0,1 mM, 0,25 mM ve 0,5 mM) farklı iyonların (magnezyum, nikel, kobalt, demir, kalsiyum, krom, arsenik, bakır ve çinko) siyanür biyoyıkımına etkisi incelendiğinde, *K. oxytoca* türünün iyonların tüm konsantrasyonlarında, *K. pneumoniae* türünün ise 0,5 mM bakır konsantrasyonu dışında diğer iyonların tüm konsantrasyonlarında siyanür biyoyıkımı yaptıkları belirlendi. *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae*'nin karışık kültürünün siyanür biyoyıkımını %86 oranında gerçekleştirdiği gözlemlendi. Siyanür biyoyıkım ortamına tekrar siyanür kaynağı ilavesi sonucunda her iki *Klebsiella* türünün de siyanür ilavesinden sonraki 24 saatte %50'nin üzerinde biyoyıkım yaptıkları, *K. pneumoniae* ile 6. günde, *K. oxytoca* ile ise 7. günde %100 siyanür biyoyıkımının gerçekleştirildiği belirlendi. *Klebsiella* kültür süpernatantlarının siyanür biyoyıkımına etkisi araştırıldığında ise *K. pneumoniae* kültür süpernatantının 3 günde, *K. oxytoca* kültür süpernatantının ise 2 günde siyanürü %80'in üzerinde biyoyıkıma uğrattıkları gözlemlendi. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* kültür süpernatantları ile %100 siyanür biyoyıkımının ise sırasıyla 5. ve 4. günde gerçekleştirebildiği belirlendi. Çalışmanın son aşamasında, *Klebsiella* türlerinin atık su ve toprak örneklerindeki siyanürü biyoyıkım oranları incelendi. Elektro-kaplama atık suyunda bulunan siyanürü *K. pneumoniae* kültürü ve kültür süpernatantının sırasıyla %99 ve %98 oranında biyoyıkıma uğrattığı, *K. oxytoca* kültürü ve kültür süpernatantının ise sırasıyla %100 ve %99 oranında biyoyıkıma uğrattığı belirlendi. Metal kaplama suyundaki siyanürün ise *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* kültürleri ile sırasıyla %95 ve %69 oranında biyoyıkıma uğratıldığı saptandı. Son olarak, 6 mg/kg siyanür içeren topraktaki siyanürün *K. pneumoniae*'nin kültürü ile %72 oranında biyoyıkıma uğratıldığı belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, atık su, toprak, siyanür biyoyıkımı.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF CYANIDE BIODEGRADATION WITH DIFFERENT *KLEBSIELLA* STRAINS

Nermin Hande AVCIOĞLU

Doctor of Philosophy, Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Işıl SEYİS BİLKAY

December 2015, 106 Pages

In this study, cyanide biodegradation with different *Klebsiella* species (*K. ornithinolytica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. rhinoscleromatis* and *K. terrigena*) was aimed. In this respect, initially, cyanide biodegradation ratios of some strains belonging different *Klebsiella* species were compared and the most efficient cyanide degrading strains were determined. Among *K. ornithinolytica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. rhinoscleromatis* and *K. terrigena* species, the highest cyanide biodegradation ratios were found as 74.83%, 95.28%, 98.27%, 73.01% and 68.88%, respectively. *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* species, which degraded cyanide above 90%, were selected to be studied in the rest of this study. It is determined that both of these *Klebsiella* species degraded cyanide above 70% after 24 hours. The optimal physiological conditions for cyanide biodegradation were determined as 0.5 mM of potassium cyanide concentration, pH 7, 25°C, 150 rpm rotation speed, 3 days for *K. pneumoniae* species and 0.5 mM potassium cyanide concentration, pH 7, 30°C, 100 rpm rotation speed, 5 days for *K. oxytoca* species. It was detected that, potassium hexacyanoferrate (II) trihydrate and sodium ferrocyanide dehydrate were degraded by *K. pneumoniae* and also *K. oxytoca* and the biodegradation ratios for these cyanide sources were 84%, 87,5% for *K. pneumoniae*, 87.5% and 78.5% for *K. oxytoca*, respectively. Potassium tetracyanonickelate (II) hydrate, which is another cyanide source studied in this

study, was found not to be degraded by *K. pneumoniae* species and was found to be degraded by *K. oxytoca* species with a ratio of 27%. When the effect of variable concentrations (0.1 mM, 0.25 mM and 0.5 mM) of different ions (magnesium, nickel, cobalt, iron, calcium, chrome, arsenic, copper and zinc), which may be observed in polluted areas, are investigated it is determined that *K. oxytoca* degrades cyanide in all concentrations of ions and as for *K. pneumoniae* it degrades all concentrations of ions except 0.5 mM concentration of copper. It is observed that, mixed culture of *K. oxytoca* and *K. pneumoniae* degrade cyanide with a ratio of 86%. As a result of additional cyanide source supplement into the cyanide biodegradation medium, it is determined that, 24 hours after the addition of cyanide, both *Klebsiella* species degrade cyanide above 50% and 100%, cyanide biodegradation is achieved on the 6th day with *K. pneumoniae* and on the 7th day with *K. oxytoca*. When the effects of culture supernatants of *Klebsiella* species on cyanide biodegradation is investigated, it is observed that the culture supernatant of *K. pneumoniae* biodegraded cyanide in 3 days and the culture supernatant of *K. oxytoca* biodegraded cyanide in 2 days above 80%. It is determined that 100% cyanide biodegradation with the culture supernatants of *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* occurred on the 5th and 4th days, respectively. In the last part of this study, biodegradation ratios of *Klebsiella* species on cyanide containing waste water and soil samples were investigated. It is found that, in electroplating waste water *K. pneumoniae* culture and its culture supernatant biodegraded cyanide with ratios of 99% and 98%, respectively, as for *K. oxytoca* culture and its culture supernatant degraded the same sample with ratios of 100% and 99%, respectively. It is determined that cyanide in metal plating waste water was biodegraded by *K. pneumoniae* and *K. oxytoca* cultures with ratios of 95% and 69%, respectively. Lastly, it is determined that cyanide, in 6 mg/kg cyanide-containing soil was degraded by *K. pneumoniae* culture with a ratio of 72%.

Keywords: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, waste water, soil, cyanide biodegradation.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve doktora öğrenimim ve tez çalışmalarım boyunca, engin bilgi ve deneyimleri ile bana öncülük eden, manevi desteğini her zaman yanımda hissettiğim değerli hocam ve tez danışmanım Doç. Dr. Işıl SEYİS BİLKAY'a,

Tez çalışması boyunca bilgi ve deneyimleriyle yanımda olan ve tezin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocalarım Prof. Dr. Nilüfer AKSÖZ ve Prof. Dr. Güven URAZ'a,

Yüksek lisans ve doktora çalışmam boyunca bilgi ve deneyimleriyle yanımda olan ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Nilüfer CİHANGİR'e,

Tez çalışması boyunca bilgi ve tecrübesiyle çalışmaya katkı sağlayan ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Okan BİLKAY'a,

Varlıkları, gülen yüzleri ve manevi destekleriyle her an yanımda olan sevgili arkadaşlarım Araş. Gör. Dr. Neslihan İDİL, Araş. Gör. Sezen BİLEN ÖZYÜREK, Araş. Gör. Sinem DİKEN GÜR ve Araş. Gör. Gülcan ŞAHAL'a,

Tüm öğrenim hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle beni bir an bile yalnız bırakmayan, karşılaştığım her zorlukta destekleriyle her daim yanımda olan sevgili annem Şengül ÜRKMEZ ve sevgili babam Ahmet Mustafa ÜRKMEZ'e,

Desteğiyle yanımda olduğunu her an hissettiren sevgili kardeşim Emre ÜRKMEZ ve gülüşünde enerji bulduğum canım yeğenim Yağız Ege ÜRKMEZ'e,

Çalışmam sırasında sonsuz sevgi ve anlayışıyla yanımda olan, karşılaştığım her zorlukta çözüm bulan, fedakârlıkla bana her an destek veren sevgili hayat arkadaşım, canım eşim Orçun AVCIOĞLU'na,

Hayatıma girdiği günden beri bana şans, başarı ve mutluluk getiren hayat güneşim, meleğim, biricik kızım Ece AVCIOĞLU'na

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım...

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvii
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİ.....	3
2.1. Siyanürün Tarihçesi.....	3
2.2. Siyanürün Genel Özellikleri.....	3
2.3. Siyanür Çeşitleri.....	4
2.4. Siyanür Kaynakları.....	5
2.4.1. Biyotik (Antropojenik) Kaynaklar.....	5
2.4.2. Abiyotik (Çevresel) Kaynaklar.....	6
2.5. Doğadaki Siyanür Döngüsü.....	9
2.6. Siyanürün Canlılar Üzerine Etkisi.....	11
2.7. Siyanür Bileşiklerinin Arıtımı.....	13
2.7.1.Siyanürün Biyolojik Yıkımında Mikroorganizmaların Rolü.....	15
2.8. Çalışmada Kullanılan <i>Klebsiella</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	18
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	20
3.1. Çalışmada Kullanılan <i>Klebsiella</i> Türleri.....	20
3.2. <i>Klebsiella</i> Türlerinin Saklanması.....	20
3.3. Mikroorganizmaların Ekim ve Üretim Koşulları.....	20
3.3.1. Zenginleştirme Besiyerine Ekim ve Üretim.....	20
3.3.2. Siyanürlü Besiyerine Ekim ve Üretim.....	20
3.3.3. Kültürlerde Üremenin Ölçülmesi.....	21
3.4. Siyanür Biyoyıkımının Ölçülmesi.....	21
3.4.1. Siyanür Miktarının Ölçülmesi.....	21
3.4.2. Amonyak Miktarının Ölçülmesi.....	21
3.5. Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Mikroorganizmaların Seçimi.....	21

3.6. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımını Etkileyen Uygun Fizyolojik Koşulların Araştırılması	22
3.6.1. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımının İnkübasyon Süresine Göre Değişiminin Araştırılması	22
3.6.2. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanürün Farklı Konsantrasyonlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması.....	22
3.6.3. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Başlangıç pH Değerinin.....	22
3.6.4. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Sıcaklık Değerinin Araştırılması	23
3.6.5. Çalkalamalı ve Statik İnkübasyon Koşullarının <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması	23
3.7. Farklı Siyanür Kaynaklarının <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Biyoyıkımının Araştırılması	23
3.8. Üretim Ortamına İlave Edilen Farklı İyonların Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması	24
3.9. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Karışık Kültürünün Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması	24
3.10. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımında Tekrar Siyanür Kaynağı Eklenmesinin Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması.....	24
3.11. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültür Süpernatantlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması.....	25
3.12. Hazırlanan Atık Sulardaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Biyoyıkımının Araştırılması	25
3.12.1. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması	25
3.12.2. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültür Süpernatantları ile Biyoyıkımının Araştırılması.....	27
3.13. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Biyoyıkımının Araştırılması.....	27
3.13.1. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması.....	27

3.13.2. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültür Süpernatantları ile Biyoyıkımının Araştırılması	28
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	29
4.1. Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Mikroorganizma Suşlarının Seçimi.....	30
4.2. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımını Etkileyen Uygun Fizyolojik Koşulların Araştırılması.....	33
4.2.1. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımının İnkübasyon Süresine Göre Değişiminin Araştırılması	34
4.2.2. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanürün Farklı Konsantrasyonlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması.....	36
4.2.3. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Başlangıç pH Değerinin Araştırılması.....	40
4.2.4. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Sıcaklık Değerinin Araştırılması	43
4.2.5. Çalkalamalı ve Statik İnkübasyon Koşullarının <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması.....	47
4.3. Farklı Siyanür Kaynaklarının <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Biyoyıkımının Araştırılması	50
4.4. Üretim Ortamına İlave Edilen Farklı İyonların Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması	54
4.5. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Karışık Kültürünün Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması	58
4.6. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Siyanür Biyoyıkım Ortamına Tekrar Siyanür Kaynağı Eklenmesinin Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması.....	61
4.7. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültür Süpernatantlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması.....	63
4.8. Hazırlanan Atık Su ve Toprak Örneklerinde <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Türleri İle Siyanür Biyoyıkımının Araştırılması.....	67
4.8.1. Atık Sulardaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Biyoyıkımının Araştırılması	67
4.8.1.1. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması	68

4.8.1.2. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültür Süpernatantları ile Biyoyıkımının Araştırılması.....	76
4.8.2. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> ile Biyoyıkımının Araştırılması.....	83
4.8.2.1. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması.....	83
4.8.2.2. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> Kültür Süpernatantları ile Biyoyıkımının Araştırılması.....	88
5. YORUM.....	94
KAYNAKLAR.....	97
ÖZGEÇMİŞ.....	105

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Siyanojen canlılar	5
Çizelge 2.2. Siyanürün kullanıldığı sanayi kolları ve kullanılan siyanür çeşitleri.....	6
Çizelge 2.3. Siyanürün çevreye bulaşma kaynakları	8
Çizelge 2.4. Siyanür bileşiklerinin arıtımında kullanılan yöntemler ve siyanür bileşiklerinin arıtımında kullanılabilirlikleri	14
Çizelge 2.5. Siyanür biyoyıkımında kullanılan bazı bakteri ve funguslar.	18
Çizelge 3.1. Elektro-kaplama sanayi atık su içeriği.....	26
Çizelge 3.2. Metal-kaplama sanayi atık su içeriği	26
Çizelge 3.3. Altın çıkarma sanayi atık su	26

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. HCN'ün moleküler şekli.....	3
Şekil 2.2. Siyanür çeşitleri.....	4
Şekil 2.3. Antropojenik siyanür döngüsü.....	10
Şekil 2.4. Amigladin'in HCN'e dönüşümü	12
Şekil 2.5. Siyanürün vücuttaki detoksifikasyonu	13
Şekil 2.6. Çeşitli siyanür biyoyıkım yolları	16
Şekil 2.7. <i>Klebsiella sp.</i> 'nin elektron mikroskop görüntüsü	19
Şekil 4.1. Farklı <i>K. ornithinolytica</i> suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları	31
Şekil 4.2. Farklı <i>K. pneumoniae</i> suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları	31
Şekil 4.3. Farklı <i>K. oxytoca</i> suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları.....	32
Şekil 4.4. Farklı <i>K. rhinoscleromatis</i> suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları	32
Şekil 4.5. İnkübasyon süresinin <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	34
Şekil 4.6. <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımında değişen inkübasyon sürelerinde oluşan amonyak miktarları	35
Şekil 4.7. İnkübasyon süresinin <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	35
Şekil 4.8. <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımında değişen inkübasyon sürelerinde oluşan amonyak miktarları.....	36
Şekil 4.9. Potasyum siyanür konsantrasyonunun <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	38
Şekil 4.10. <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımında değişen potasyum siyanür konsantrasyonlarında oluşan amonyak miktarları.....	38
Şekil 4.11. Potasyum siyanür konsantrasyonunun <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	39

Şekil 4.12. <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımında değişen potasyum siyanür konsantrasyonlarında oluşan amonyak miktarları.....	39
Şekil 4.13. Farklı başlangıç pH değerlerinin <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	41
Şekil 4.14. <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımında değişen başlangıç pH değerlerinde oluşan amonyak miktarları.	42
Şekil 4.15. Farklı başlangıç pH değerlerinin <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	42
Şekil 4.16. <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımında değişen başlangıç pH değerlerinde oluşan amonyak miktarları	43
Şekil 4.17. Farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinin <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	45
Şekil 4.18. <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımında farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinde oluşan amonyak miktarları.	45
Şekil 4.19. Farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinin <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.....	46
Şekil 4.20. <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımında farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinde oluşan amonyak miktarları	46
Şekil 4.21. Çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi	48
Şekil 4.22. <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımında çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarda oluşan amonyak miktarları.....	48
Şekil 4.23. Çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.	49
Şekil 4.24. <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımında çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarda oluşan amonyak miktarları.....	49
Şekil 4.25. Farklı siyanür kaynaklarının <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımına etkisi.....	52
Şekil 4.26. <i>K. pneumoniae</i> ile farklı siyanür kaynaklarını biyoyıkıma uğratılması sonucu oluşan amonyak miktarları..	52
Şekil 4.27. Farklı siyanür kaynaklarının <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımına etkisi.	53
Şekil 4.28. <i>K. oxytoca</i> ile farklı siyanür kaynaklarını biyoyıkıma uğratılması sonucu oluşan amonyak miktarları	53

Şekil 4.29. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımına etkisi.	55
Şekil 4.30. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların varlığında <i>K. pneumoniae</i> 'nin üreme miktarları	56
Şekil 4.31. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımına etkisi.	57
Şekil 4.32. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların varlığında <i>K. oxytoca</i> 'nin üreme miktarları	58
Şekil 4.33. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> türleri ve <i>K. pneumoniae</i> - <i>K. oxytoca</i> karışık kültürü ile siyanür biyoyıkımı	59
Şekil 4.34. <i>K. pneumoniae</i> ve <i>K. oxytoca</i> türleri ve <i>K. pneumoniae</i> - <i>K. oxytoca</i> karışık kültürü ile siyanür biyoyıkımı sonucu oluşan amonyak miktarları	60
Şekil 4.35. <i>K. pneumoniae</i> ile siyanür biyoyıkımında tekrar siyanür kaynağı eklenmesinin siyanür biyoyıkımına etkisi	62
Şekil 4.36. <i>K. oxytoca</i> ile siyanür biyoyıkımında tekrar siyanür kaynağı eklenmesinin siyanür biyoyıkımına etkisi.	63
Şekil 4.37. Farklı konsantrasyonlardaki <i>K. pneumoniae</i> 'nin steril kültür süpernatantları ile siyanür biyoyıkımının inkübasyon süresine göre değişimi.....	64
Şekil 4.38. Farklı konsantrasyonlardaki <i>K. oxytoca</i> 'nin steril kültür süpernatantları ile siyanür biyoyıkımının inkübasyon süresine göre değişimi.....	65
Şekil 4.39. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ile biyoyıkımı	70
Şekil 4.40. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. oxytoca</i> ile biyoyıkımı	70
Şekil 4.41. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün koşullar altında <i>K. pneumoniae</i> – <i>K. oxytoca</i> karışık kültürü ile biyoyıkımı.....	71
Şekil 4.42. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ile biyoyıkımı	72
Şekil 4.43. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. oxytoca</i> ile biyoyıkımı	72

Şekil 4.44. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> – <i>K. oxytoca</i> karışık kültürü ile biyoyıkımı.....	73
Şekil 4.45. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ile biyoyıkımı	74
Şekil 4.46. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün <i>K. oxytoca</i> ile biyoyıkımı.....	75
Şekil 4.47. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> – <i>K. oxytoca</i> karışık kültürü ile biyoyıkımı..	75
Şekil 4.48. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> 'nin kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.....	77
Şekil 4.49. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. oxytoca</i> 'nin kültür süpernatanı ile biyoyıkımı	78
Şekil 4.50. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> – <i>K. oxytoca</i> karışık kültürünün kültür süpernatanı ile biyoyıkımı	78
Şekil 4.51. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> 'nin süpernatanı ile biyoyıkımı	79
Şekil 4.52. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. oxytoca</i> 'nin süpernatanı ile biyoyıkımı.....	80
Şekil 4.53. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> – <i>K. oxytoca</i> karışık kültürünün kültür süpernatanı ile biyoyıkımı	80
Şekil 4.54. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> 'nin süpernatanı ile biyoyıkımı	82
Şekil 4.55. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün <i>K. oxytoca</i> 'nin süpernatanı ile biyoyıkımı	82
Şekil 4.56. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> – <i>K. oxytoca</i> karışık kültürünün süpernatanı ile biyoyıkımı.....	83
Şekil 4.57. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ile biyoyıkımı.....	85

Şekil 4.58. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün <i>K. oxytoca</i> ile biyoyıkımı.....	85
Şekil 4.59. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> - <i>K. oxytoca</i> 'nın karışık kültürü ile biyoyıkımı	86
Şekil 4.60. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> ile biyoyıkımı.....	87
Şekil 4.61. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün <i>K. oxytoca</i> ile biyoyıkımı.....	87
Şekil 4.62. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> – <i>K. oxytoca</i> karışık kültürü ile biyoyıkımı	88
Şekil 4.63. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> 'nin kültür süpernatanı ile biyoyıkımı	89
Şekil 4.64. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün <i>K. oxytoca</i> 'nın süpernatanı ile biyoyıkımı.	90
Şekil 4.65. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> - <i>K. oxytoca</i> karışık kültürünün süpernatanı ile biyoyıkımı	90
Şekil 4.66. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> 'nin kültür süpernatanı ile biyoyıkımı	91
Şekil 4.67. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün <i>K. oxytoca</i> 'nın kültür süpernatanı ile biyoyıkımı	91
Şekil 4.68. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün <i>K. pneumoniae</i> - <i>K. oxytoca</i> karışık kültürünün kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.....	91

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Ag	Gümüş
As	Arsenik
C	Karbon
°C	Santigrat Derece
Ca	Kalsiyum
Cd	Kadmiyum
CN	Siyanür
Co	Kobalt
Cr	Krom
Cu	Bakır
Fe	Demir
g/L	Gram/Litre
H	Hidrojen
H ₂ O	Su
Hg	Civa
KCN	Potasyum siyanür
mg	Miligram
mg/L	Miligram/L
mM	Milimolar
µg/L	Mikrogram/Litre
Mg	Magnezyum
Mn	Mangan
N	Azot
NaCN	Sodyum siyanür
nm	Nanometre
NH ₄	Amonyak
Ni	Nikel
Pb	Kurşun
SCN	Tiyosiyanat

Sel
TCN
UV
Zn

Selenyum
Tetrasiyanonikelat
Ultraviyole
Çinko

Kısaltmalar

ATCC	Amerikan Tipi Kültür Koleksiyonu (American Type Culture Collection)
BHI	Beyin Kalp İnfüzyon (Brain Heart Infusion)
Kox	<i>Klebsiella oxytoca</i>
Kp	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Ko	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>
Kox+Kp / Kp+Kox	<i>Klebsiella oxytoca</i> ve <i>Klebsiella pneumoniae</i> 'nin karışık kültürü
Kr	<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>
Kt	<i>Klebsiella terrigena</i>
LB	Luria Bertani
OD	Optik Dansite
SAD	Kuvvetli Asitte Çözünebilen Siyanür (Strong acid dissociable cyanide)
v/v	Hacim/Hacim
WAD	Zayıf Asitte Çözünebilen Siyanür (Weak acid dissociable cyanide)

1.GİRİŞ

Yeryüzünde organik ve inorganik bileşikler formunda bulunan siyanür, doğal ve çevresel kaynaklar vasıtasıyla ekosisteme ulaşmakta ve canlılara hızla etki eden toksik bir radikal olarak tanımlanmaktadır [1]. Bazı bitki, mikroorganizma ve hayvanlar tarafından doğal olarak da üretilmekte olan siyanürün miktarı, endüstriyel faaliyetler, yangınlar ve sigara dumanı gibi çevresel etkenler vasıtasıyla toprak ve suya karışan siyanür miktarı ile kıyaslandığında, çevresel etkenlerin oluşturduğu siyanür kirliliğinin canlılar açısından çok daha tehlikeli boyutlara ulaşabildiği gözlenmektedir [2]. Zira doğaya çoğunlukla HCN ve CN⁻ iyonu şeklinde verilen siyanürün metal iyonlarıyla hızla bağ yapması sonucunda farklı toksisite ve stabilitede bileşiklerin oluştuğu bilinmektedir [3, 4]. Söz konusu maddenin oluşturduğu bu kompleks bileşiklerin canlılar üzerindeki etkisi oldukça tehlikelidir. Siyanür, sitokrom oksidaz c'nin ve diğer bazı metaloproteinlerin inhibitörü olup, kanda bulunan methemoglobine geri dönüşümsüz bir şekilde bağlanarak etkinlik göstermektedir. Oksijen varlığına rağmen oksijenin vücutta taşınamaması sonucunda, vücut oksijen havuzunda boğulmakta ve kanın dokulara oksijen geçişini sağlayamaması ile hipoksik şok ve hatta ölüm meydana gelebilmektedir. Bu bağlamda, bilhassa endüstriyel kaynaklardan doğaya ulaşan siyanürün, çevreden etkin yöntemler kullanılarak uzaklaştırılması canlılar açısından büyük önem taşımaktadır [5, 6, 7, 8].

Siyanürün çevreden uzaklaştırılmasında fiziksel, kimyasal ve biyolojik arıtım yöntemleri kullanılmaktadır [9]. Kimyasal arıtım yöntemleri ile siyanür arıtımında, toksik madde detoksifikasyonu hızla gerçekleştirilmesine rağmen, arıtım sürecinde kullanılan tehlikeli kimyasalların varlığı, ekstra ekipman ihtiyacı, yüksek maliyet ve arıtım sonucu ortamda oluşan toksik son ürünlerin ilave arıtıma ihtiyaç duyulması gibi etkenler söz konusu yöntemleri dezavantajlı yöntemler olarak karşımıza çıkarmaktadır. Buna karşın, biyolojik yöntemler siyanürün toksik olmayan ürünlere kadar yıkımını sağlamakta, düşük maliyetli ve çevre dostu olmaları nedeniyle tercih edilen yöntemler arasında yer almaktadırlar [6, 7, 10]. Bu bağlamda, günümüzde toprak ve sudaki siyanürün gideriminde mikroorganizmalar aracılığıyla yapılan biyoremediasyon geniş kullanım alanına sahiptir. Yerinde (in situ) ve yerinde yapılmayan (ex-situ) biyoremediasyon yöntemlerinin kullanımı ile toprağın

ve diğ er doç al çevrelerin toksik maddelerden arındırılması mümkün olmaktadır [11].

Literatürde farklı bakteri ve fungus suşları ile siyanürün biyoyıkımı incelenmiştir. Biyoyıkımda kullanılan suşlar arasında *Alcaligenes sp.* [12], *Agrobacterium sp.* [13, 14], *Azotobacter sp.* [15], *Bacillus sp.* [16, 17, 18, 19], *Burkholderia sp.* [20], *Chromobacterium sp.* [21], *Citrobacter sp.* [21], *Escherichia sp.* [22], *Pseudomonas sp.* [8] cinslerine ait bazı bakteriyal türler ve *Fusarium sp.* [3, 23, 24, 25, 26], *Gloeocercospora sp.* [21], *Leptosphaeria sp.* [21], *Penicillium sp.* [21], *Rhizopus sp.* [27], *Cryptococcus sp.* [28] cinslerine ait bazı fungal türler yer almaktadır. Günümüzde gittikçe artan endüstriyel üretim işlemleri sonucunda oluşan siyanürlü atıkların artışı da göz önüne alınarak siyanür biyoyıkımında kullanılabilir olacak etkin suşların belirlenmesi için çalışmalar halen devam etmektedir.

Bu çalışmada farklı *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımındaki etkinliklerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu bağlamda, 5 farklı *Klebsiella* türüne ait farklı suşların siyanür biyoyıkımındaki etkinlikleri incelenerek (*K. ornithinolytica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. rhinoscleromatis* ve *K. terrigena*) söz konusu suşlar arasında siyanürün biyoyıkımını etkin şekilde gerçekleştiren *Klebsiella* türleri belirlendi. Seçilen *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımındaki uygun fizyolojik koşulları incelenerek yorumlandı. *Klebsiella* türlerinin siyanür içeren atık ortamlarında bulunabilecek farklı siyanür kaynaklarını biyoyıkıma uğratma oranları araştırıldı. Buna ek olarak, endüstriyel atık sularda bulunabilecek değişen konsantrasyonlardaki farklı iyonların varlığında da *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımı incelendi. *Klebsiella* türlerinin biyoremediasyon süreçlerinde kullanılabilirliklerinin belirlenmesi amaçıyla söz konusu suşların yalnız kültürlerinin değil kültür süpernatanlarının da biyoyıkımdaki etkinlikleri araştırılarak yorumlandı. Siyanür biyoyıkım ortamına başlangıç konsantrasyonu kadar ilave siyanür kaynağının siyanür biyoyıkımına etkisi saptandı. Çalışmamızın son aşamasında ise, siyanür içeren farklı atık su (elektro-kaplama, metal-kaplama ve altın çıkarma) ve topraklı ortamlar laboratuvarda hazırlanarak *Klebsiella* türlerinin kültür ve kültür süpernatanlarının atık su ve topraktaki siyanürü biyoyıkım oranları belirlendi.

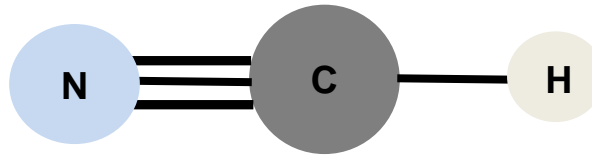
2. GENEL BİLGİ

2.1. Siyanürün Tarihçesi

Siyanür ilk kez 1782 yılında İsveçli Bilim adamı C.W. Scheele tarafından prusya mavisinin keşfedilmesiyle bulunmuş ve 1786 yılında C.W. Scheele'in laboratuvar kazası sonucunda söz konusu maddenin buharını solumasıyla ölümüne neden olmuştur. Bu talihsiz olayın yaşanmasını takiben siyanürün yüksek derecede ölümcül özelliğinin keşfedilmesi ile bu madde Napolyon III'ün Fransa - Prusya savaşında kullandığı önemli bir kimyasal ajan haline gelmiştir. II. Dünya savaşı sırasında Nazilerin içerisinde %40 HCN bulunduran Zyklon B'yi pek çok sivil vatandaşın ve askerin esir alındığı kamplarda ölüm maddesi olarak kullanmaları, siyanürün kimyasal silah olarak yaygınlaşmasına neden olmuştur [29]. Bunu takiben 1980'lerde İran-İrak savaşında da kullanıldığı bilinen siyanürün, sağlık alanındaki ilk illegal uygulaması ise İspanya'da tetraplajik bir hastaya KCN muamelesi ile ötanazi yapılması olarak tarihe geçmiştir. Günümüzde kimyasal ajan olarak kullanımı yasak olan bu maddenin, canlılar üzerinde toksik, mutajenik ve karsinojenik etkileri yadsınamayacak ölçüde fazladır [30].

2.2. Siyanürün Genel Özellikleri

Primitif evrenin oluşumunda önemli rol oynayan siyanür; karbon ve azot atomunun üçlü bağ yapmasıyla oluşmakta ve çevrede çoğunlukla renksiz gaz veya az miktarda sıvı halde gözlenen HCN (hidrojen siyanür) formunda bulunmaktadır (Şekil 2.1) [9, 31].



Şekil 2.1. HCN'ün moleküler şekli.

Organik ve inorganik formları da bulunan siyanürün, biyotik ve abiyotik etkenler aracılığıyla çevreye ulaştığı belirtilmektedir [9, 32]. Söz konusu maddenin oluşturduğu kompleks bileşiklerin toksine benzer etki yaratmaları nedeniyle canlılar üzerinde oldukça ciddi denilecek ölçüde zarar verdikleri bilinmektedir [1, 4, 6, 7]. Doğada en sık rastlanan formları olan HCN, KCN ve NaCN arasında yüksek

derecede toksik olarak nitelendirilen HCN, en öldürücü olanıdır [10, 32, 33]. HCN'le kısa süre maruz kalma ile hızlı soluma, titreme ve diğer nörolojik etkiler meydana gelirken, uzun süre maruz kalma ile kilo kaybı, tiroid fonksiyonlarında bozulma, sinir harabiyeti ve hatta ölüm görülebilmektedir. Söz konusu madde ile deri teması sonucunda ise ağırlı yara ve iritasyon görüldüğü belirtilmektedir [9].

2.3. Siyanür Çeşitleri

Endüstriyel ve antropojenik kaynaklardan toprak ve suya karışarak önemli sağlık problemlerine yol açan ve oldukça toksik bir madde olarak bilinen siyanür; doğada katı, sıvı ve gaz formlarında bulunmaktadır (Şekil 2.2). Laboratuvar ölçeğinde arıtımın gerçekleştirilmesi amacıyla çalışmalarda sıklıkla kullanılan siyanür formu ise potasyum siyanürün de içerisinde yer aldığı katı siyanür bileşikleridir [9, 34]. Sodyum, potasyum ve kalsiyumun siyanür tuzları suda hızla serbest siyanüre dönüştüklerinden toksisiteyi çevre korunması çalışmalarında dikkat çeken önemli bir parametredir [10].

Siyanür, toprak tarafından hızla adsorbe edilmekte ve yeraltı sularına ulaşması sonucunda ise bu alanlarda bulunan Fe, Cu, Ni ve Zn gibi metal iyonlarıyla ve organik bileşiklerle kompleks oluşturarak basit ve kompleks siyanür tuzları ve bileşikleri meydana getirmektedir. Söz konusu kompleks bileşiklerin toksisite ve stabiliteleri kompleks oluşturdukları metal iyonlarına bağlı olarak değişmektedir. Metal-siyanür kompleksleri serbest siyanürden daha az toksik olmalarına rağmen bu bileşiklerin ayrışmasıyla oluşan serbest siyanürün oldukça toksik etkilere neden olduğu bilinmektedir [3, 5, 9, 10, 27, 35].



Şekil 2.2. Siyanür çeşitleri [34].

2.4. Siyanür Kaynakları

2.4.1. Biyotik (Antropojenik) Kaynaklar

Siyanür; invazif veya korunma metaboliti olarak bakteri, alg, fungus ve bitkilerce üretilen doğal bir bileşiktir (Tablo 2.1) [1, 9]. Bitkilerin etilen sentezi sırasında oluşturdukları siyanür bileşikleri, siyanolipit ve siyanoglikozit yapısında doğaya salınmaktadır. Yapılan araştırmalarda bitkilerin söz konusu maddeleri üretme nedenlerinin herbivor ve patojenlere karşı savunma mekanizması olduğu belirtilmektedir [34]. Buna ek olarak, siyanürün katabolik proteinlerin aktif demir siyanür komplekslerinin bir bölümü olarak da oluştuğu görülmektedir [1, 36].

Siyanojen canlılar arasında bazı bakteri ve funguslar da yer almaktadır. *Chromobacterium violaceum* ATCC 53434'ün, Gram pozitif bakteriler üzerinde etkili bir antibiotik olan aerosiyanidin ürettiği belirtilmektedir. *Trichoderma harzianum* tarafından üretilen homotallin II ise bazı funguslar, gram pozitif ve gram negatif bakteriler üzerinde etkili olan geniş spektrumlu bir maddedir. Söz konusu siyanojen bileşiklerin canlılar tarafından üretimi besin kıtlığı ve diğer olumsuz fizyolojik koşullar altında canlılara avantaj sağlamaktadır. Hayvanlar arasında ise Arthropoda grubunda savunma amaçlı olarak siyanür biyosentezi yapıldığı görülmektedir. Buna karşın bazı böceklerde feromon benzeri çiftleşme davranışını kontrol eden siyanojen bileşiklerin varlığına da rastlanmıştır (Çizelge 2.1) [32].

Çizelge 2.1. Siyanojen canlılar [37, 38, 39, 40].

Bakteri	Fungus	Alg	Hayvan	Bitki
<i>A. nidulans</i>	<i>Clitocybe sp.</i>	<i>C. vulgaris</i>	Çıyan	Acıbadem Alıç
<i>B. pyocyaneus</i>	<i>M. oreades</i>	<i>N. muscorum</i>	Güve	Bambu Bezelye
<i>C. violaceum</i>	<i>Pholiota sp.</i>		Kelebek	Elma Fasülye
<i>P. chloropsis</i>	<i>Polyporus sp.</i>		Kırankatlılar	Kayısı Mısır
<i>P. aureofaciens</i>	<i>Tricholoma sp.</i>		Kırkayak	Şalgam Şeftali

Çizelge 2.1. Siyanojen canlılar (Devam ediyor) [37, 38, 39, 40].

Bakteri	Fungus	Alg	Hayvan	Bitki
<i>P. aeruginosa</i>				Vişne
<i>P. fluorescens</i>				Keten tohumu

2.4.2. Abiyotik (Çevresel) Kaynaklar

Başta madencilik, boya ve sentetik fiber üretimi, petrol rafinasyonu ve tarımsal ürünlerin işlenmesi gibi endüstriler olmak üzere pek çok endüstriyel süreçte siyanür türevleri kullanılmakta ve üretim sonucunda da yüksek konsantrasyonlarda siyanür içeren atıklar oluşmaktadır (Çizelge 2.2) [3, 20, 41]. Madencilik uygulamalarında altın ve gümüşün zenginleştirilmesi sırasında siyanidasyon uygulamasında yüksek oranda metal-siyanür bileşiklerinin oluşması, ekosistem açısından tehlikeli boyutlara ulaşabilmektedir [32, 42]. Buna ek olarak, acıbadem ve manyok gibi bitkiler içeriklerinde yüksek oranda siyanojen glikozit içerdiklerinden söz konusu bitkilerin işlendiği sanayi kollarından da yüksek konsantrasyonlarda siyanürlü atığın doğaya verildiği belirtilmektedir [20].

Çizelge 2.2. Siyanürün kullanıldığı sanayi kolları ve kullanılan siyanür çeşitleri [43].

Kullanım Alanı	Siyanür Bileşikleri
Yapıştırıcı	Amonyum tiyosiyanat
Çimento stabilizatörü	Kalsiyum siyanür
Elektro-kaplama	Potasyum/sodyum siyanür, nikel siyanür, gümüş siyanür, baryum siyanür, çinko siyanür, hidrojen siyanür, siyanojen klorür, civa potasyum siyanür
Yangın söndürücü	Potasyum ferrosiyandır
Buharla dezenfeksiyon, zehirleyici gaz, pestisit, insektisit, parazitizit	Siyanojen klorür, siyanojen bromür, çinko siyanür, bakır siyanür, kalsiyum siyanür, hidrojen siyanür, amonyum tiyosiyanat

Çizelge 2.2. Siyanürün kullanıldığı sanayi kolları ve kullanılan siyanür çeşitleri (Devam ediyor) [43].

Kullanım Alanı	Siyanür Bileşikleri
Madencilik	Sodyum siyanür, malononitril, siyanojen bromür, baryum siyanür, kalsiyum siyanür, ferrosiyanür
Petrol	Malononitril, propionitril
Fotoğrafçılık	Ferrosiyanür, civa siyanür, hidrojen siyanür
Farmasötik	Ferrosiyanür, propionitril, amonyum tiyosiyanür
Pigment, boya, mürekkep, kişisel ürünler	Ferrosiyanür, ferrosiyanür, ferrik ferrosiyanür, malononitril, civa siyanür, bakır siyanür
Asfalt	Sodyum ferrosiyanür, ferrik ferrosiyanür, potasyum ferrosiyanür
Roket ve füze ateşleyici, sentetik fiber, akrilik fiber, naylon, sentetik lastik	Malononitril, adiponitril, siyanojen bromür, siyanojen klorür, hidrojen siyanür, amonyum tiyosiyanür
Şarap	Potasyum ferrosiyanür

Siyanürün madencilik ve elektro-kaplama gibi endüstriyel kollar aracılığıyla arıtılmadan doğaya verilmesinin önemli çevresel sorunlara neden olduğu bilinmektedir. 2000 yılında 100.000m³ siyanür içeren atık suyun Tisza nehrine verilmesi, ekosistem açısından büyük zarara yol açarak pek çok canlının ölümüne sebep olan önemli bir siyanür kirlenmesi olarak tarihe geçmiştir [1].

Endüstriyel atık sular beraberlerinde içerdikleri nikel, bakır ve çinko gibi metaller nedeniyle de ekosistem için zararlıdır. Zira serbest siyanür oldukça reaktif olduğundan metallerle hızla bağ yapmakta ve siyanürün giderimini zorlaştırmaktadır [3, 4, 5, 6, 44]. Siyanürün söz konusu metallerle oluşturduğu komplekslerin siyanürün toksisitesini elemine etmediği göz önüne alındığında, siyanürlü atıkların ortama verilmeden önce arıtılmasının ekosistem açısından önemi yadsınamaz ölçüdedir [4].

Dünya çapında yıllık siyanür tüketiminin yaklaşık 1,5 milyon ton ve endüstriyel süreçlerden çevreye siyanür salınımının ise yılda yaklaşık 14 milyon kg olduğu göz önüne alındığında çevredeki siyanür kirliliğinin geldiği tehlikeli boyutu tahmin etmek zor değildir [34]. Siyanürün sadece çevresel kaynak olarak endüstriyel işlemlerle değil bunun yanı sıra çeşitli kazalar sonucunda da çevreye bulaştığı ve canlılar üzerindeki etkisinin değişen siyanür konsantrasyonlarına bağlı olarak katlanarak arttığı belirtilmektedir (Çizelge 2.3). Evsel kullanım, tedavi ya da endüstriyel kullanım amaçlı olarak pek çok sentetik siyanojen madde üretilmektedir. Bu maddeler arasında süksinonitril, asetonitril, malononitril, propionitril ve sodyum nitropurisit yer almaktadır. Bunun yanı sıra yangında nitrojen içeren bileşiklerin yanmasıyla önemli bir zehir olan HCN'ün havaya salındığı belirtilmektedir [9].

Sağlık alanında antineoplastik ajan olarak laetril (amigdalin) kullanımı sonucunda, amigdalin intestinal β -glukosidaz ile parçalanmakta ve açığa çıkan HCN insanlar üzerinde zehirleyici etki yaratmaktadır. Anti-hipertansif ajan olan sodyum nitropurisit ve antidepresant olan süksinonitrilin birarada kullanımlarının da sekonder olarak siyanür zehirlenmesine yol açabildikleri belirtilmektedir [29]. Tarımsal olarak ise herbisitlerin (bromoxynil) ve fungusitlerin kullanımı sonucunda çevreye siyanür bulaşmaktadır. Bromoxynil'in tekrarlayan kullanımı sonucunda tarımsal alanda siyanür miktarının 0,33 μ g/L'ye kadar ulaştığı ve zamanla yağmur ve diğer çevresel etmenler sonucunda yer altı sularına kadar ilerlediği bilinmektedir [32].

Çizelge 2.3. Siyanürün çevreye bulaşma kaynakları [9].

Yangınların yol açtığı duman	Poliüretan, poliakrilonitril, naylon, reçine, plastik gibi maddelerin yanarak kömürleşmesi Araba, uçak, gemi kazaları
Endüstriyel faaliyetler	Plastik üretimi, boyama sanayi, fotoğrafçılık ve basım, pestisitlerin ve rodentisitlerin yanması, sentetik lastik üretimi, metal cilalanması, derinin tabaklanması, elektro-kaplama.

Çizelge 2.3. Siyanürün çevreye bulaşma kaynakları (Devam ediyor) [9].

İlaçlar	Sodyum nitropurisit, laetril, süksinonitril
Diğer kaynaklar	Sigara dumanı, fenilsiklidin sentezi, tırnak cilası çıkarıcılarının yutulması, terörist saldırıları, kimyasal savaş, cinayet, idam.

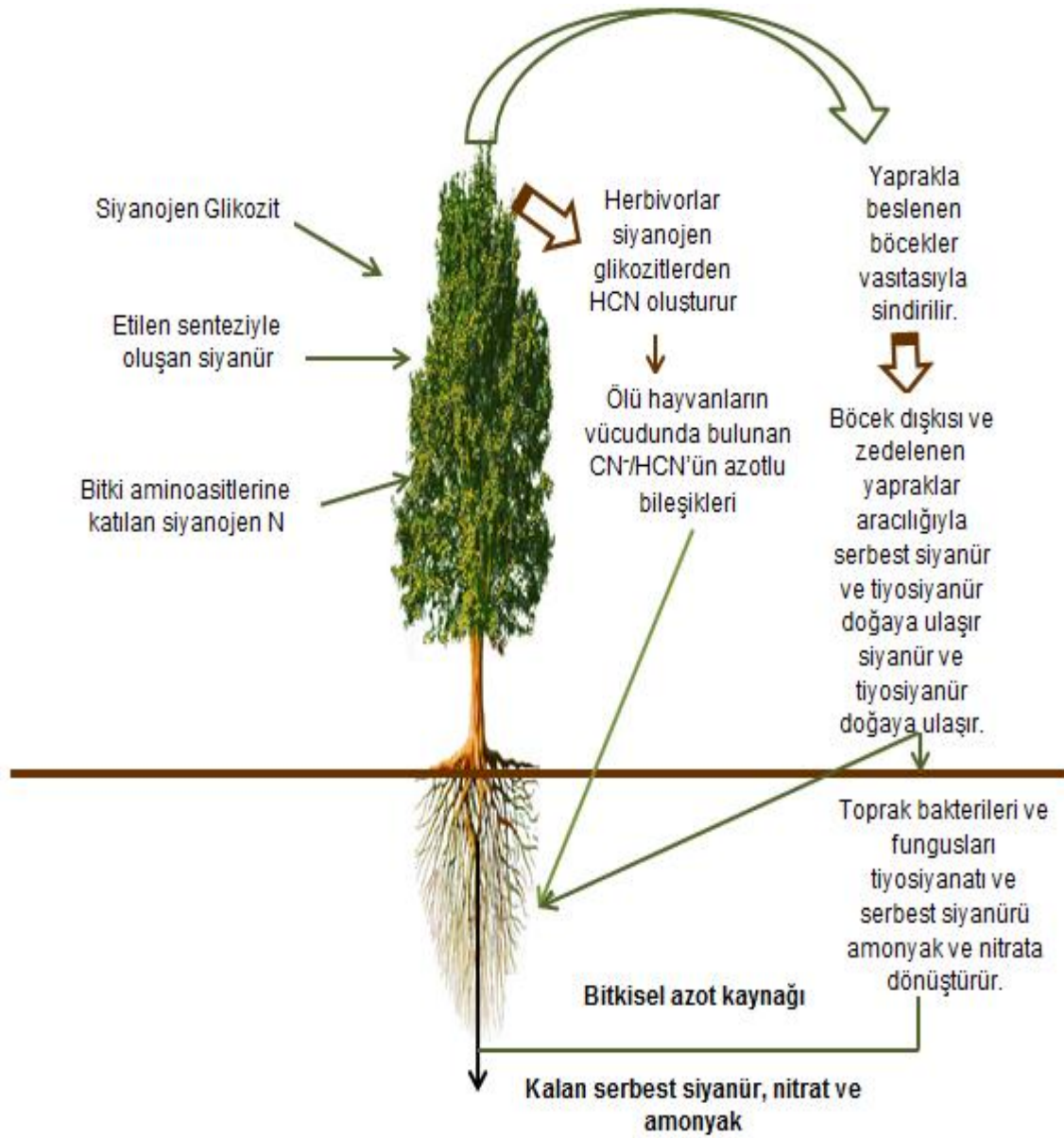
2.5. Doğadaki Siyanür Döngüsü

Antropojenik ve çevresel etmenler aracılığıyla toprak ve suya ulaşan siyanürün doğal yaşam üzerinde toksik etki yaratmaması için konsantrasyonunun, canlıları etkilemeyecek düzeyde olması gerekmektedir. Bu bağlamda çeşitli kuruluşlarca doğal ortamlarda bulunabilecek maksimum siyanür miktarları belirlenmiştir. A.B.D. Çevre Koruma Ajansı (EPA- Environmental Protection Agency) içme suyu ve sucul yaşamda bulunabilecek total siyanür miktarlarını sırasıyla 200ppb ve 50ppb, Almanya ve İsviçre yüzey suyunda bulunabilecek siyanür miktarını 0,01mg/L, kanalizasyonda bulunabilecek siyanür miktarını 0,5mg/L, Meksika ve Hindistan siyanürlü atıkların içerebileceği siyanür miktarını 0,2mg/L olarak belirlemiştir [9]. Dolayısıyla bu değerlerin üzerinde siyanürlü atık oluşturulmasının canlılar üzerinde toksik etki yaratacağı bilindiğinden siyanür içeren atıkların arıtımının yapıldıktan sonra çevreye deşarj edilmesi gerekmektedir.

Endüstriyel atıklar çoğunlukla 0,01-10mg/L total siyanür içermektedir. Ancak elektro-kaplama ve metal-kaplama gibi siyanürün üretim süreçlerinde de kullanıldığı sanayi kollarından deşarj edilen atıkların çok daha fazla miktarda siyanür içerebildiği bilinmektedir. Kirlenmemiş sularda bulunabilecek maksimum siyanür miktarının 0,001-0,05mg/L olabileceği düşünüldüğünde endüstriyel atıklar vasıtasıyla doğaya ulaşan siyanür miktarının çok daha yüksek olduğu görülmektedir [9].

Siyanür doğal ve çevresel etmenler vasıtasıyla üretilir, çeşitli yollarla taşınır ve yine çevresel etmenlerin varlığıyla da fiziksel ve kimyasal dönüşüme uğratılır. Bu bağlamda, serbest siyanür ve metal-siyanür komplekslerinin içerisinde buldukları sucul ortamın pH, sıcaklık ve redoks potansiyeline bağlı olarak ayrışabildiği belirtilmektedir. Endüstriyel atıklar vasıtasıyla sucul ortama ulaşan

siyanürlü atıkların ortam pH'sındaki ani değişime bağlı olarak çözünürlüğünün değişebildiği, metal-siyanür bileşiklerinin ise UV ve gün ışığı altında ayrışabildiği bilinmektedir. Bunun yanı sıra, metal-siyanür bileşikleri ortamda demir iyonunun bulunmasına bağlı olarak asidik koşullar altında presipite olmaktadır. Ayrıca siyanür biyoyıkım yolu ile de siyanür ortamdan uzaklaştırılmaktadır [45]. Tüm bu ayrışma yolları göz önünde bulundurularak siyanürlü atıkların doğaya minimum düzeyde verilmesinin canlılar açısından önemi göz önünde bulundurulmalı ve konu ile ilgili çalışmalara gereken önem verilmelidir. Siyanürün doğadaki döngüsü Şekil 2.3'de gösterilmektedir.



Şekil 2.3. Antropojenik siyanür döngüsü [45].

2.6. Siyanürün Canlılar Üzerine Etkisi

Antropojenik kaynaklar vasıtasıyla üretilen miktardan çok daha fazla miktarda endüstriyel atık sularla doğaya ulaşan siyanürün canlılar üzerindeki toksisitesi formuna, konsantrasyonuna, canlı çeşidine ve alınış yoluna bağlı olarak farklılık göstermektedir [29]. İnsanlar tarafından siyanür; deri ya da göz ile temas sonucunda ve sindirim ve solunum yolu ile alınmaktadır. %2'lik siyanür içeren bir solüsyonun bile sindirim vasıtasıyla vücuda alınmasının öldürücü doz olabildiği belirtilmektedir [46]. Vücuda giren siyanür, metaloenzimler ve diğer enzimlerin karbonil grupları, koenzimleri ve substratlarına bağlanarak işlev görmelerini engeller [29]. Buna ek olarak siyanürün bazı enzimlerin kofaktörleri olan demir, bakır ve manganla oluşturduğu kompleksler de canlılardaki metabolik aktivitelerin engellenmesinde önemli rol oynamaktadır [47].

Bilinen en toksik ve öldürücü kimyasallardan biri olan siyanürün toksisitesi hakkında bilinen en temel 3 mekanizma şu şekilde gerçekleşir;

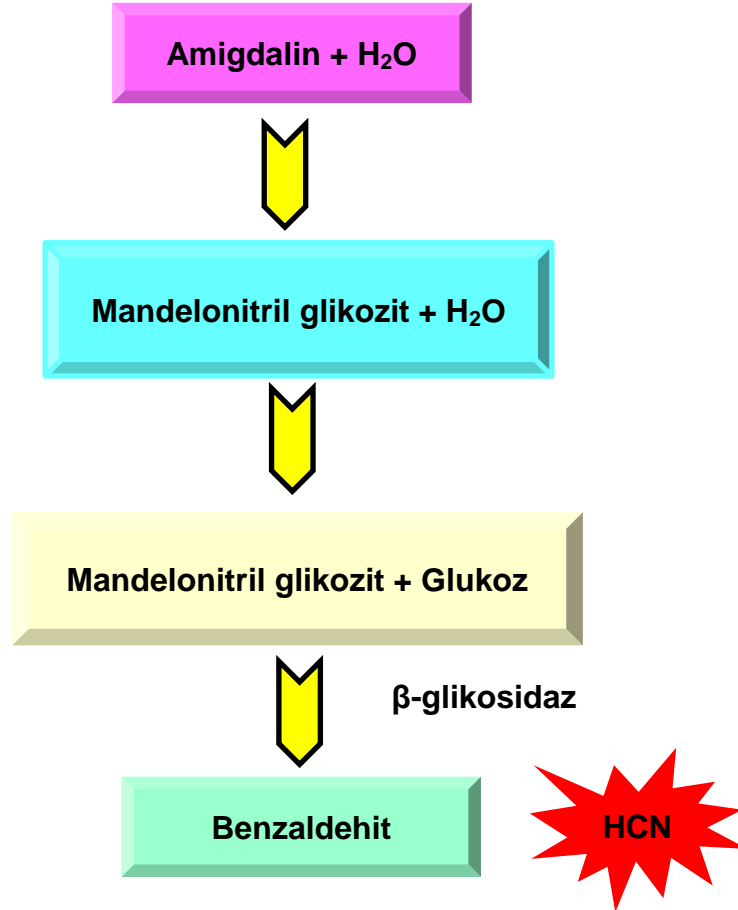
- a) Sitokrom oksidaz'ın da içerisinde bulunduğu metaloenzimlerin aktif bölgeleriyle siyanürün di/trivalent metal kompleksleri oluşturması,
- b) Nitril çeşitleri oluşturmak için enzim katalizi sırasında Schiff bazlı ürünler oluşturması,
- c) Metabolik keto grupları ile siyanohidrin oluşturması [4, 48].

Siyanür; sitokrom oksidaz c'nin aktif bölgesindeki demir atomuna bağlanarak canlılarda hücre sel hipoksiyaya neden olmaktadır. Memeliler ve diğer canlılarda oksijenin kullanılabilmesi için anahtar rolü oynayan sitokrom oksidaz'ın oksijene elektron iletiminin siyanür varlığında bozulması sonucunda hücredeki oksidatif metabolizmanın ve fosforilasyonun inhibisyonu görülmektedir [7, 18, 29, 44, 49].

Siyanürün oral yoldan alımı ile adsorpsiyon hızla meydana gelmekte ve toksik etkiler dakikalar içerisinde görülmeye başlamaktadır. Ağız yoluyla alınan siyanür tuzlarının midedeki hidroklorik asit ile etkileşmesi sonucunda HCN oluşur. Yağda ve suda hızla çözüldüğü bilinen HCN'ün ayrışarak CN⁻ iyonunun serbest hale geçmesi sonucunda CN⁻ vücut hücrelerince hızla absorbe edilir ve solunum, gastrointestinal mukoza, deri ve göze kadar ilerler. Absorpsiyonu takiben siyanürün hacimsel olarak %40'ının tüm vücuda dağıldığı, bu miktarın ise %60'ının plazma proteinlerine bağlandığı gözlenmektedir. Siyanürün ağızla alımı

durumunda beyin, kalp, kan, böbrek, mide duvarı ve karaciğere kadar ulaştığı belirtilmektedir. Memelilerde rondonaz enzimi vasıtasıyla hızla detoksifiye edilen bu maddenin enzimatik transsülfirasyonu ile tiyosiyanat (SCN) oluşumu gözlenmektedir. Söz konusu siyanür bileşiğinin vücuttan atılımı ise idrar yolu ile gerçekleşmektedir [29]. Detoksifikasyonun gerçekleştirilemediği durumlarda baş ağrısı, çarpıntı, mide-bağırsak bozuklukları, kulakta uğultu, görme bozukluğu ve psikoz meydana geldiği bildirilmiştir [50].

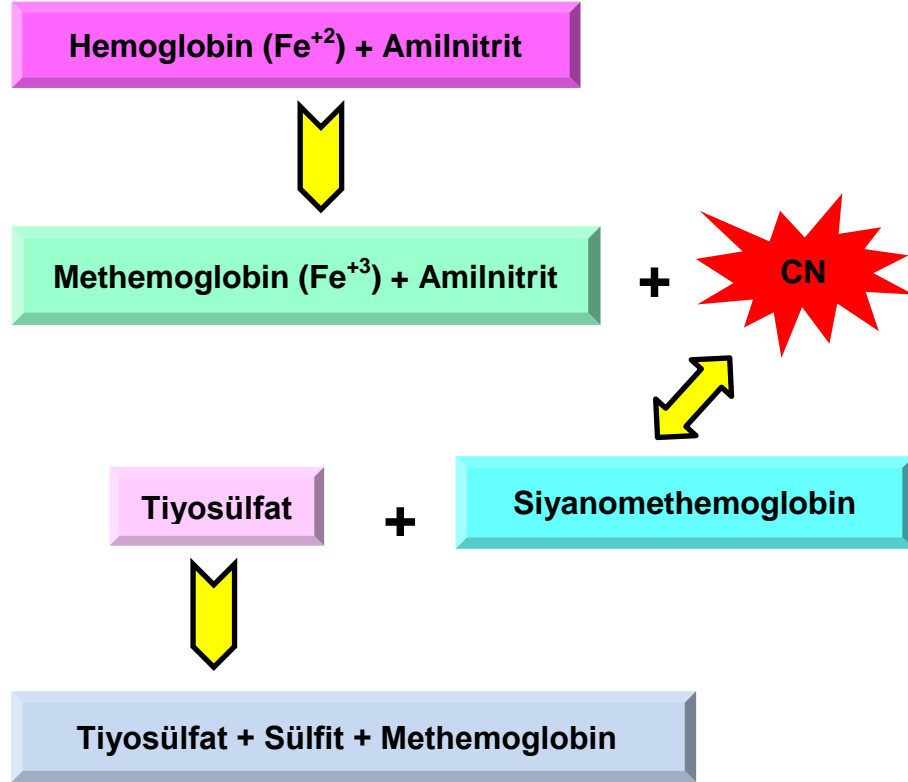
Elma, şeftali, kayısı, kiraz ve erik gibi meyvelerin çekirdeklerinde bulunan amigdalinin tüketimiyle de HCN oluşumu ve siyanür zehirlenmeleri gözlenebilmektedir (Şekil 2.4).



Şekil 2.4. Amigladin'in HCN'e dönüşümü [50].

Sindirim sistemi vasıtasıyla gerçekleşen siyanür zehirlenmesinde midenin yıkanması ve amil nitril veya sodyum nitril uygulaması yapılmaktadır. Bu bağlamda hastaya verilen amil nitril ile methemoglobin oluşumu tetiklenmektedir. Siyanürün methemoglobine ilgisi sitokrom oksidaz c'ye olan ilgisinden çok daha fazladır. Bunun sonucunda siyanür ile methemoglobin bağlanır ve siyanomethemoglobin

oluşur. Tiyosiyanat açığa çıkar ve oluşan tiyosiyanat idrarla vücuttan atılır (Şekil 2.5) [50].



Şekil 2.5. Siyanürün vücuttaki detoksifikasyonu [50].

Siyanür doğada serbest olarak bulunan metallerle de kompleks bileşikler oluşturarak söz konusu metallerin canlılar tarafından kullanımını engellemektedir. Bu durumda, bakteriyel çoğalma için spesifik metal alım sistemlerinin varlığı gerekmektedir. Siyanür içeren ortamlarda yaşamlarını sürdüren canlıların siyanürden etkilenmeyen metabolizmalarının olması söz konusu ortamlarda siyanürden etkilenmeden yaşamlarını sürdürebilmeleri için oldukça önemlidir. Bu bağlamda, bitkiler için alternatif oksidaz, bakteriler için ise sitokrom insensitif oksidaz sistemlerinin ve siyanür varlığında siyanüre dirençli enzim sentezinin siyanürlü ortamlara adaptasyonda kullanıldığı bildirilmiştir [1, 3].

2.7. Siyanür Bileşiklerinin Arıtımı

Çevrenin korunması amacıyla siyanür içeren atıkların ekosisteme verilmeden önce arıtmalarının yapılması gerekmektedir [20]. Günümüzde siyanür içeren atık sular; fiziksel (membran filtrasyonu, elektro ve ters osmoz, zeolit ve iyon değişim rezinleri, aktif karbon üzerine adsorpsiyon), kimyasal (alkalin klorinasyon,

ozonizasyon, nemli hava oksidasyonu vb.) ve biyolojik yöntemler kullanılarak arıtılmaktadır [4, 44, 51, 52]. Siyanür arıtımında kimyasal yöntemlerin kullanılmasının dezavantajları kompleks metal bileşiklerinin arıtımının yapılamaması, arıtımda klor ve sodyum hipoklorit gibi zararlı kinyasalların kullanılıyor olması, maliyetin yüksek olması, ekstra ekipman ihtiyacı, istenmeyen toksik yan ürünlerin oluşumu ve bu toksik yan ürünlerin gideriminde ekstra arıtıma ihtiyaç duyulmasıdır [18, 47, 49]. Fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler ve söz konusu yöntemlerin siyanür bileşiklerinin arıtımında kullanılabilirlikleri Çizelge 2.4'te gösterilmektedir.

Çizelge 2.4. Siyanür bileşiklerinin arıtımında kullanılan yöntemler ve siyanür bileşiklerinin arıtımında kullanılabilirlikleri [9].

Arıtım yöntemi	Ek				
	arıtıma ihtiyaç	Serbest CN	Tiyosiyanat	WAD CN	SAD CN
Biyolojik oksidasyon/ Biyodegradasyon	-	+	+	+	+
Alkali klorinasyon	+	+	+	+	-
Hidrojen peroksit	+	+	-	+	Az
SO ₂ /Hava prosesi	-/+	+	Az	+	+
Ozonizasyon	+	+	+	+	-
Anodik oksidasyon	+	+	+	+	-
Elektrodiyaliz	-	+	+	+	+
Ters osmoz	-	+	+	+	+
Elektroliz	+	-	-	Az	Az
Hidroliz/ Distilasyon	+	+	-	-	-
Asidifikasyon/ Buharlaştırma	Bazen	+	Az	+	Az
Flotasyon	Çoğunlukla	+	Çok az	Çoğunlukla	Az

Çizelge 2.4. Siyanür bileşiklerinin arıtımında kullanılan yöntemler ve siyanür bileşiklerinin arıtımında kullanılabilirleri (Devam ediyor) [9].

Arıtım yöntemi	Ek				
	arıtıma ihtiyaç	Serbest CN	Tiyosiyanat	WAD CN	SAD CN
Rezin	Biraz	Biraz	Biraz	+	+
Katalitik oksidasyon	+	+	+	+	Biraz
Caro asidi	Biraz	+	+	+	Biraz
Fotoliz	+	+	+	+	+
Demir siyanür presipitasyonu	Çoğunlukla	Çoğunlukla	Az	+	+
Aktif karbon	Biraz	-	Biraz	Çoğunlukla	+

(WAD: Weak acid dissociable cyanide - Zayıf Asitte Çözünebilen Siyanür; SAD: Strong acid dissociable cyanide - Kuvvetli Asitte Çözünebilen Siyanür)

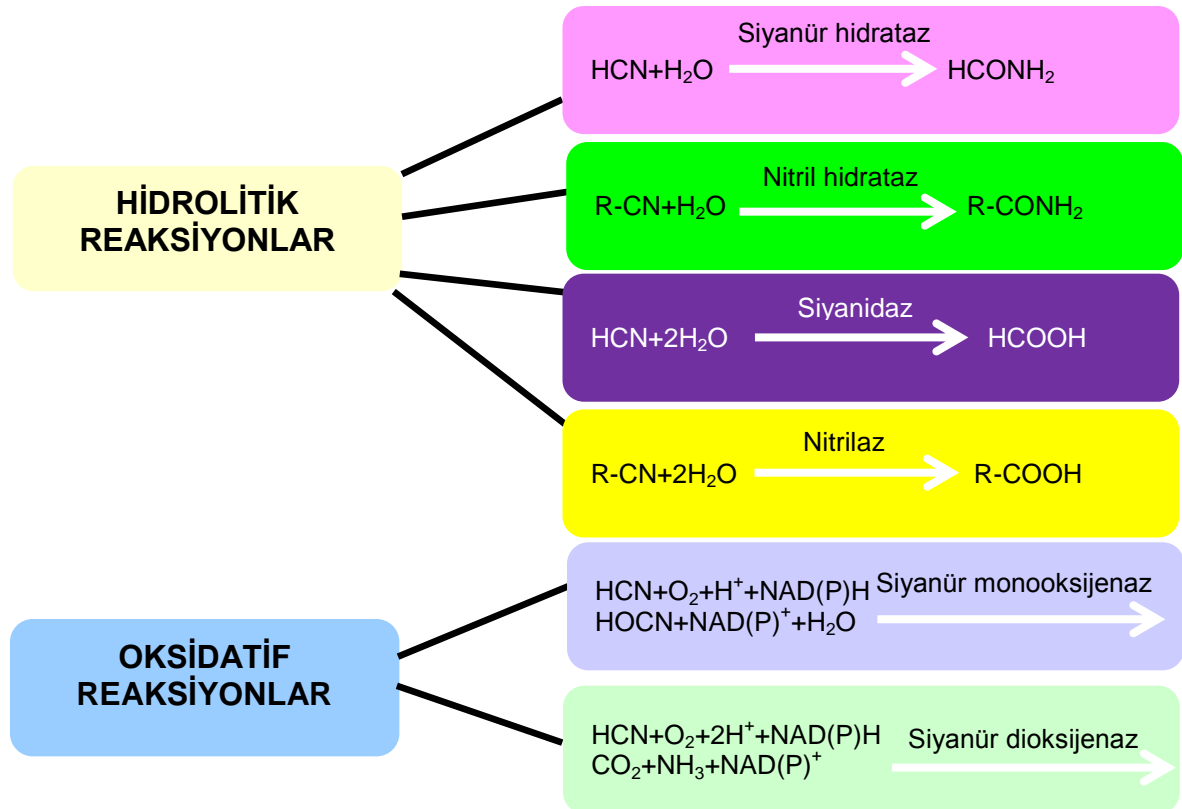
Siyanür arıtımının biyolojik yöntemler kullanılarak yapılması yeni toksik ürünlerin oluşumuna neden olmaması açısından çevre dostu uygulamalar olarak avantaj sağlamaktadır [6, 7, 52]. Bu bağlamda pek çok mikroorganizmanın siyanürü metabolize ettiği bilinmekte ve biyolojik arıtım teknolojilerinin geliştirilmesi için siyanür biyoyıkımındaki potent suşların belirlenmesi amacıyla çalışmalar devam etmektedir.

2.7.1. Siyanürün Biyolojik Yıkımında Mikroorganizmaların Rolü

Siyanür ve siyanojen bileşikler (serbest siyanür, tiyosiyanat, metal siyanür vb.) kültür ortamında bulunan çeşitli bakteriler ve diğer mikroorganizmalar aracılığıyla çoğunlukla karbon ve azot içeren bileşiklere dönüştürülmektedir [37]. Söz konusu dönüşüm çeşitli fizikokimyasal koşulların etkisi altında gerçekleşmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda bazı siyanür bileşiklerinin nötral pH'da diğerlerinin ise alkali hatta asidik pH'larda mikroorganizmalar aracılığıyla yıkıma uğratılabildiği gözlenmiştir [54, 55]. Söz konusu yıkım esnasında ortamda bulunan oksijenin siyanür yıkımıyla doğrudan bir ilişkisinin olmaması, anaerobik koşullar altında da siyanür biyoyıkımının gerçekleşmesini olanaklı hale getirmektedir. Buna ek olarak siyanür yıkımında ortamda siyanür kaynağının dışında glukoz gibi basit şekerler ya

da asetat, şeker kamışı melası ve fenol gibi karbon kaynaklarının bulunmasının mikroorganizmaların azot kaynağı olarak kullandıkları siyanürün yanı sıra aynı zamanda karbon kaynakları olarak da bu maddeleri kullanarak daha fazla üremelerine ve bu bağlamda da siyanür biyoyıkımının daha verimli yapılmasına olanak sağlamaktadır [20, 56].

Biyoyıkım sucul ve karasal ortama deşarj edilen kimyasalların ortandan uzaklaştırılmasında kullanılan etkin bir yöntemdir. Biyoyıkım; toksik maddenin biyolojik olarak metabolize edilmesi, biyomasa adsorpsiyon, organik bileşikler ile meydana gelen kimyasal reaksiyonlar vasıtasıyla gerçekleştirilebilir [44]. Bu bağlamda, immobilize ve non-immobilize pek çok mikroorganizmanın toksik maddelerin gideriminde kullandıkları bilinmektedir [8]. Toksik maddeler içerisinde yer alan siyanürün de mikroorganizmalar kullanılarak biyoyıkımında 4 farklı enzimatik yolun bulunduğu belirtilmektedir. Bunlar; hidrolitik, oksidatif, redüktif, yerdeğıştirme/transfer yollarıdır. Söz konusu enzimatik basamaklar arasında siyanür biyoyıkımında en çok kullanılan enzimlerin bulunduğu biyoyıkım yolları hidrolitik ve oksidatif reaksiyonlardır (Şekil 2.6). Bazı organizmalarda birden fazla enzimatik yolun tek bir mikroorganizmada yer alabildiğı görülmektedir [9, 31].



Şekil 2.6. Çeşitli siyanür biyoyıkım yolları [34].

Hidrolitik yolda bulunan siyanür hidrataz ve nitril hidrataz enzimleri spesifik bir substrat varlığında işlev görerek direkt olarak karbon hidrojen üçlü bağı kırarak ve formamit oluşuna neden olmaktadır. Nitrilaz ve siyanidaz ise karboksilik asite dönüşümü katalizlemektedir. Oksidatif yolun enzimleri olan siyanür monooksijenaz ve siyanür dioksijenazın, siyanürün oksijenolitik dönüşümünü katalizledikleri belirtilmektedir (Şekil 2.6).

Bir diğer siyanür yıkım yolu olan redüktif yol ise anaerobik koşullar altında gerçekleşir. Bu yolun tek enzimi olan nitrogenaz HCN'ü metan ve amonyağa katalizlediği bilinmektedir. Diğer enzimatik yollardan farklı olan yerine geçme/transfer yolunda mikroorganizmanın siyanürü asimile etmesi ve siyanürün ekstra azot kaynağı olarak kullanılması gerçekleşmektedir. Siyanürü asimile eden mikroorganizma kendini bu maddenin toksijenitesine karşı korumuş olur. Bu yolu katalizleyen enzimler ise rodonaz ve merkaptopiruvat sülfürtransferazdır. Son olarak sentez yolunda da β -siyanoalanin sentaz, γ -siyano- α -aminobütirik asit sentaz enzimleri ile siyanür asimilasyonunu gerçekleştirilir [31, 34].

Mikroorganizmaların siyanür yıkımı spesifik substratlarla (serbest siyanürler, tiyosiyanatlar vb.) indüklenmekte ve mikroorganizmaların sahip oldukları çeşitli enzimatik yollar ve ortam koşullarının etkisiyle yıkım gerçekleştirilmektedir [25, 34]. Mikroorganizmalar aracılığıyla siyanürün biyoyıkımının gerçekleştirilmesi için öncelikle siyanürle kontamine olan çevrede mikroorganizmaların fizyolojik ve metabolik olarak yaşamlarını sürdürebilmeleri gerekmektedir [32]. Bu bağlamda ortam pH'sı, sıcaklığı, ortamda oksijen varlığı ya da yokluğu, siyanür dışında farklı azot kaynaklarının varlığı ve metal iyonları gibi çeşitli kontaminantların varlığı siyanür biyoyıkımını etkileyen başlıca faktörler olarak karşımıza çıkmaktadır [31]. Siyanür, mikroorganizmalar tarafından biyoyıkıma uğratılarak, toksik olmayan ürünlere kadar yıkılmakta ve kısa sürede az maliyet ile arıtım gerçekleştirilmektedir. Sonuç olarak siyanürün format, formamit ve hatta amonyak ve karbondioksit kadar yıkımı gerçekleşmektedir [57]. Bu bağlamda günümüzde siyanür biyoyıkımı için pek çok mikroorganizmanın kullanıldığı bilinmektedir (Çizelge 2.5).

Çizelge 2.5. Siyanür biyoyıkımında kullanılan bazı bakteri ve funguslar.

Bakteri	Fungus
<i>A. xyloxidans subs. denitrificans</i> [12]	<i>C.guilliermondii</i> [21]
<i>A. radiobacter, S. siuri, P. diminuta</i> [13]	<i>C. humicola</i> [28]
<i>A. tumefaciens</i> [14]	<i>F. lateritium</i> [26, 54]
<i>A. vinelandii</i> [15]	<i>F. oxysporum</i> [3, 25]
<i>B. nealsonii</i> [30]	<i>F. solani</i> [24, 53]
<i>B. pumilus</i> [17]	<i>F. solani- T. polysporum</i> (karışık kültür) [23]
<i>B. stearothermophilus</i> [16]	<i>F. oxysporum – S. thermophilum-</i> <i>P. miczynski</i> (konsorsiyum) [23]
<i>Bacillus sp.- Klebsiella sp.-</i> <i>Pseudomonas sp.</i> (konsorsiyum) [57]	<i>G. sorghi</i> [21]
<i>B. safensis. – B. licheniformis –</i> <i>B. tequilensis</i> (konsorsiyum) [60]	<i>L. maculans</i> [21]
<i>B. cepacia</i> [20]	<i>P. miczynski</i> [21]
<i>Citrobacter sp.- Pseudomonas sp.</i> (karışık kültürü) [4]	<i>R. arrhizus</i> [27]
<i>K. oxytoca</i> [5, 6, 7]	<i>Rhizopus oryzae</i> [21]
<i>K. pneumoniae – Ralstonia sp.</i> [74]	<i>S. loti</i> [21]
<i>Paracoccus sp.</i> [70]	<i>S. obliquus</i> [61]
<i>Pseudomonas sp.</i> [42]	<i>S. thermophilum</i> [21]
<i>P. fluorescens</i> [10, 44, 63, 64, 65, 66, 67]	<i>Trichoderma sp.</i> [59]
<i>P. nonliquifaciens</i> [21]	<i>T. polysporum</i> [21]
<i>P. pseudoalcaligenes</i> [1]	<i>T. harzianum</i> [58]
<i>P. residovorans</i> [69]	
<i>P. stutzeri</i> [62]	
<i>P. stutzeri- B. subtilis</i> (karışık kültür) [48]	
<i>P. putida</i> [8]	
<i>P. putida, P. stutzeri, Pseudomonas sp.</i> [68]	
<i>Rhodococcus sp.</i> [49, 73]	
<i>S. marcescens</i> [47, 71]	
<i>S. odorifera</i> [72]	

2.8. Çalışmada Kullanılan *Klebsiella* Cinsinin Genel Özellikleri

Klebsiella cinsi üyeleri *Enterobacteriaceae* familyası içerisinde yer alan gram negatif, kapsüllü, fakültatif anaerobik özellik gösteren, optimal üreme sıcaklıkları 37°C ve optimal üreme pH'ları ise 7 olan mikroorganizmalardır. Kuruluğa dirençli

olan *Klebsiella* türleri, +4°C'de aylarca yaşayabilmesine rağmen 55°C'de kısa sürede ölmektedirler [75].



Şekil 2.7. *Klebsiella* sp.'nin elektron mikroskop görüntüsü [76]

Klebsiella cinsi içerisinde *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. ozanae*, *K. rhinoscleromatis*, *K. planticola*, *K. ornithinolytica*, *K. terrigena* ve *K. granulomatis* türleri yer almaktadır. Genellikle insanlarda gastrointestinal sistemin normal flora elemanı olarak bulunan bu bakteri genusunun, omurgalılar, kuşlar, sürüngenler ve hatta böceklerin normal florasında da yer aldığı belirtilmektedir [77, 78]. Normal flora elemanı olmakla birlikte söz konusu bakteri cinsinin başta bakteremi olmak üzere pnömoni, üriner sistem ve diğer sistemlerde enfeksiyon etkeni olan fırsatçı patojen olduğu da bilinmektedir. Bunun yanısıra, *Klebsiella* sp. cinsi üyelerinin kontamine toprak ve atık sulardan da izole edilebildiği görülmektedir [79, 80]. Literatürde, *Klebsiella* türleri ile yapılmış azo boya giderim çalışmaları, fenol, heksahidro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazin, organoklorlü insektisitler, aromatik aminler ve daha bir çok toksik maddenini gideriminin yapıldığı çalışmalar bulunmaktadır [79, 80, 81, 82]. Toksik ve kompleks maddelerin gideriminde sahip olduğu farklı enzim sistemleriyle aktif rol oynayan *Klebsiella* türlerinin biyoyıkım çalışmalarındaki önemi yeni toksik madde giderimlerinde kullanımlarının belirlenmesiyle gittikçe artmaktadır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Çalışmada Kullanılan *Klebsiella* Türleri

Çalışmada Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Anabilim Dalı Kültür Koleksiyonu Laboratuvarı'nda bulunan 5 farklı *Klebsiella* türüne ait suşlar kullanıldı. Bu bağlamda 20 *Klebsiella ornithinolytica*, 17 *Klebsiella pneumoniae*, 6 *Klebsiella oxytoca*, 3 *Klebsiella rhinoscleromatis* ve 1 *Klebsiella terrigena* suşu çalışmaya dâhil edilerek, söz konusu suşlar siyanür biyoyıkım oranları açısından değerlendirildi.

3.2. *Klebsiella* Türlerinin Saklanması

Çalışmada kullanılan *Klebsiella* suşları %10 gliserol içeren Brain Heart İnfüzyon (BHI – Beyin Kalp İnfüzyon) sıvı besiyerine ekilerek 37°C'de, 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde, 24 saat inkübe edildi. Elde edilen kültürler -20°C'de saklandı. 1 ay arayla pasajlama gerçekleştirildi.

3.3. Mikroorganizmaların Ekim ve Üretim Koşulları

3.3.1. Zenginleştirme Besiyerine Ekim ve Üretim

Çalışmada kullanılan *Klebsiella* suşlarının önkültürasyonu için Luria Bertani (LB) sıvı besiyeri kullanıldı. LB sıvı besiyerine ekilen *Klebsiella* suşları 37°C'de, 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde, 16 saat üretildi.

3.3.2. Siyanürlü Besiyerine Ekim ve Üretim

Klebsiella suşlarının siyanür biyoyıkım oranlarının belirlenmesi amacıyla potasyum siyanürlü besiyeri (g/L olarak: 5 glukoz, 0,5 KH₂PO₄, 0,5 K₂HPO₄, 0,05 MgSO₄) hazırlanarak ortam pH'sı 6,5 olarak ayarlandı [10]. Söz konusu besiyeri otoklavda 121°C'de 15 dakika sterilizasyona tabii tutuldu. Sterilizasyon işleminin tamamlanmasından ardından potasyum siyanür çözeltisi steril 0,45 µM'lık selüloz asetat filtre (Millipore) kullanılarak steril edildi ve temel besiyerine ilave edildi. LB sıvı besiyerinde üretilmiş olan mikroorganizma kültüründen alınarak (OD=1,0), 1:10 (v:v) oranında potasyum siyanürlü besiyerine ekildi. *Klebsiella* suşlarının üretimi 35°C'de, 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 5 günde gerçekleştirildi.

3.3.3. Kùltùrlerde Üremenin Ölçülmesi

LB ve siyanürlü besiyerlerinde inkübasyon süreci tamamlanan *Klebsiella* suşlarının üreme miktarları 600 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede (Shimatzu-UV 1700) köre karşı okundu.

3.4. Siyanür Biyoyıkımının Ölçülmesi

3.4.1. Siyanür Miktarının Ölçülmesi

Siyanür biyoyıkım oranlarının saptanması amacıyla potasyum siyanürlü besiyerinde üretilen *Klebsiella* kùltürleri, 4000 rpm'de 5 dakika santrifüj (Eppendorf Centrifuge 5417R) edilerek süpernatantları alındı. Siyanür miktarı Fisher ve Brown [83] tarafından önerilen pikrik asit yöntemi ile spektrofotometrik olarak ölçüldü. Reaksiyon tüplerine 1 ml süpernatant, 1 ml 0,5 M Na₂CO₃ ve 1 ml %1'lik pikrik asit çözeltisi ilave edilerek, kaynar suda 5 dakika tutuldu. Karışıma 12 ml distile su ilave edilerek tüpler 30 dakika suda bekletildi. Kontrol olarak ekim yapılmamış olan siyanürlü besiyeri kullanıldı. Değerler 520 nm'ye ayarlanmış olan spektrofotometrede (Shimatzu-UV 1700) köre karşı okundu. Siyanür biyoyıkımı % değer olarak hesaplandı.

3.4.2. Amonyak Miktarının Ölçülmesi

Klebsiella türlerinin siyanür biyoyıkımı sonucu oluşturdukları amonyak miktarlarının belirlenmesi amacıyla potasyum siyanürlü besiyerinde üretilen kùltürün, 4000 rpm'de 5 dakika santrifügasyonu sonrası süpernatantı alındı. Greenberg et. al. [84] tarafından önerilen nesslerizasyon yöntemi ile üretim ortamında oluşan amonyak miktarı spektrofotometrik olarak ölçüldü. Reaksiyon tüplerine, 1 ml süpernatant, 1 ml distile su ve 0,005 ml EDTA ilave edilerek iyice karıştırıldı. Karışıma 0,4 ml nessler reaktifi (g/L olarak: 100 HgI₂, 70 KI, 160 NaOH) eklenerek oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi. Değerler 425 nm'ye ayarlanmış olan spektrofotometrede (Shimatzu-UV 1700) köre karşı okundu. Amonyaka karşı çizilen standart eğri kullanılarak biyoyıkım ortamında oluşan amonyak miktarı (mg/L) hesaplandı.

3.5. Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Mikroorganizmaların Seçimi

Çalışmada kullanılan farklı türlere ait *Klebsiella* suşları siyanür biyoyıkım oranları açısından değerlendirilmeleri amacı ile siyanürlü besiyerine ekilerek 35°C'de, 150 rpm hızındaki çalkalamalı inkübatörde, 5 gün üretildi. Inkübasyon sonrası

Klebsiella suşları ile siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü. Siyanür biyoyıkımında etkin suşlar belirlenerek, söz konusu suşların tanımlaması 16S ribozomal RNA analizi ile Refgen Gen Araştırmaları ve Biyoteknoloji Ltd. Şti. tarafından yapıldı.

3.6. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımını Etkileyen Uygun Fizyolojik Koşulların Araştırılması

3.6.1. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımının İnkübasyon Süresine Göre Değişiminin Araştırılması

İnkübasyon süresinin *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyıkımı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla çalışmada kullanılan siyanürlü besiyerine *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ayrı ayrı ekildi. *Klebsiella* suşları 35°C'de, 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde üretildi. Kültür ortamından 24 saatte bir örnek alınarak, siyanür biyoyıkımı, oluşan amonyak miktarı ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü. Her iki *Klebsiella* türü için de biyoyıkım ortamındaki siyanürün tamamen bittiği gün inkübasyon süresi olarak belirlendi.

3.6.2. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanürün Farklı Konsantrasyonlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Farklı potasyum siyanür konsantrasyonlarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyıkımı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla 0,25 mM – 2 mM arasında değişen konsantrasyonlarda potasyum siyanür içeren temel besiyerlerine *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ayrı ayrı ekildi. İnkübasyon, 35°C'de, 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde *K. pneumoniae* ile 3 gün, *K. oxytoca* ile 5 günde gerçekleştirildi. İnkübasyon sonrası kültür ortamlarında *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ile siyanür biyoyıkımı, oluşan amonyak miktarları ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.6.3. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Başlangıç pH Değerinin Araştırılması

Üretim ortamının başlangıç pH değerinin *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyıkımı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla pH 3,0 ile 10 arasında değişen pH'larda hazırlanan potasyum siyanürlü besiyerine *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ayrı ayrı ekildi. İnkübasyon 35°C'de, 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde *K. pneumoniae* ile 3 gün, *K. oxytoca* ile 5 günde gerçekleştirildi.

İnkübasyon sonrası kültür ortamlarında siyanür biyoyikımı, oluşan amonyak miktarları ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.6.4. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyikımı İçin Uygun Sıcaklık Değerinin Araştırılması

İnkübasyon sıcaklık değerinin *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyikımı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla siyanürlü besiyerine *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ayrı ayrı ekildi. *K. pneumoniae* 25 - 50°C arasında değişen inkübasyon sıcaklıklarında, 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörlerde 3 gün, *K. oxytoca* ise 25 - 50°C arasında değişen inkübasyon sıcaklıklarında 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörlerde, 5 gün üretildi. İnkübasyon sonrası kültür ortamlarında siyanür biyoyikımı, oluşan amonyak miktarları ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.6.5. Çalkalamalı ve Statik İnkübasyon Koşullarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyikımına Etkisinin Araştırılması

Çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyikımı üzerine etkisinin araştırılması amacıyla siyanürlü besiyerlerine *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ayrı ayrı ekildi. *K. pneumoniae* 25°C'de ve 0 - 200 rpm arasında değişen çalkalama hızlarındaki inkübatörlerde 3 gün, *K. oxytoca* ise 30°C'de ve 0 - 200 rpm arasında değişen çalkalama hızlarındaki inkübatörlerde 5 gün üretildi. İnkübasyon sonrası kültür ortamlarındaki siyanür biyoyikımı, oluşan amonyak miktarları ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.7. Farklı Siyanür Kaynaklarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Biyoyikımının Araştırılması

Farklı siyanür kaynaklarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile biyoyikımının araştırılması amacıyla çalışmada kullanılan temel besiyerine 0,5 mM konsantrasyonda farklı siyanür kaynakları (potasyum tetrasiyanonikelat (II) hidrat, potasyum hekzasiyanoferat (II) trihidrat ve sodyum ferrosiyanoür dekahidrat) ayrı ayrı ilave edildi. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının söz konusu ortamlara ekilmelerinin ardından, *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* inoküle edilen biyoyikım ortamı ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. İnkübasyon sonrası kültür

ortamlarında siyanür biyoyıkımı, oluşan amonyak miktarları ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.8. Üretim Ortamına İlave Edilen Farklı İyonların Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Üretim ortamına ilave edilen farklı iyonların *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyıkımına etkisinin araştırılması amacıyla siyanürlü besiyerine değişen konsantrasyonlarda (0,1 mM, 0,25 mM ve 0,5 mM) farklı iyonlar (magnezyum, kobalt, nikel, demir, kalsiyum, krom, arsenik, bakır ve çinko) ilave edildi. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının bu ortamlara ekimlerinin ardından, *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. İnkübasyon sonrası kültür ortamlarında siyanür biyoyıkımı, oluşan amonyak miktarları ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.9. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Karışık Kültürünün Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

K. pneumoniae ve *K. oxytoca* karışık kültürünün siyanür biyoyıkımına etkisinin araştırılması amacıyla siyanürlü besiyerine her iki türe ait suş 1:1 (v/v) oranında ekildi. Karışık kültürler *K. pneumoniae* için belirlenen optimal üretim koşulları olan 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün ve *K. oxytoca* için belirlenen optimal üretim koşulları olan 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün ayrı ayrı üretildi. İnkübasyon sonrası kültür ortamlarında siyanür biyoyıkımı, oluşan amonyak miktarları ve suşların üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.10. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımında Tekrar Siyanür Kaynağı Eklenmesinin Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

K. pneumoniae ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyıkımının gerçekleştiği kültür ortamına tekrar siyanür kaynağı ilavesinin siyanür biyoyıkımına olan etkisinin araştırılması amacıyla siyanürlü besiyerine *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ayrı ayrı ekildi. *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün

üretildi. İnkübasyon sürecinin tamamlanmasının ardından kültür ortamlarına başlangıç konsantrasyonu kadar (0,5 mM) potasyum siyanür ilave edilerek *K. pneumoniae* inoküle edilen biyoyıkım ortamı 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde ve *K. oxytoca* inoküle edilen biyoyıkım ortamı ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde üretilmeye devam edildi. 24 saatte bir üretim ortamlarından örnek alınarak kültür ortamlarında siyanür biyoyıkımı ölçüldü.

3.11. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültür Süpernatantlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

K. pneumoniae ve *K. oxytoca* türlerinin steril kültür süpernatantlarının siyanür biyoyıkımına etkisinin araştırılması amacıyla siyanürlü besiyerine *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ayrı ayrı ekildi. *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. İnkübasyon sürecinin tamamlanmasının ardından kültürlerin 4000 rpm'de 5 dakika santrifügasyonu sonrası kültür süpernatantları alındı. Söz konusu süpernatantlar 0,45 µM'lık steril selüloz asetat filtreyle (Millipore) steril edildi. Siyanür biyoyıkım besiyerlerine %10, %20, %30, %40 ve %50 oranlarında steril kültür süpernatantları ayrı ayrı ilave edildi. *K. pneumoniae*'nin kültür süpernatantının ilave edildiği biyoyıkım ortamı 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde, *K. oxytoca*'nin kültür süpernatantının ilave edildiği biyoyıkım ortamı ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde inkübasyona tabii tutuldu. 24 saatte bir biyoyıkım ortamlarından örnek alınarak, siyanür biyoyıkımı ölçüldü.

3.12. Hazırlanan Atık Sulardaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Biyoyıkımının Araştırılması

3.12.1. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması

Elektro-kaplama sanayi, metal-kaplama sanayi ve altın çıkarma sanayi atık su içerikleri laboratuvar ortamında hazırlanarak, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* – *K. pneumoniae* kültürlerinin atık su ortamlarında bulunan siyanürü steril ve steril olmayan koşullar altında biyoyıkım oranları araştırıldı (Çizelge 3.1, Çizelge 3.2 ve Çizelge 3.3). Hazırlanan atık su ortamlarına *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* kültürleri edildi. *K. pneumoniae* 25°C'de

150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültürleri ise 30°C’de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. İnkübasyon sonrası *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* – *K. pneumoniae* kültürlerinin siyanür biyoyıkımları ve üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

Çizelge 3.1. Elektro-kaplama sanayi atık su içeriği (mg/L) [85].

İyon	mg/L
Ag	1,2
Cd	1,2
Cr	7,0
Cu	4,5
Ni	4,1
Pb	0,6
Zn	4,2
CN	5,0

(Ag: Gümüş, Cd: Kadmiyum, Cr: Krom, Cu: Bakır, Ni: Nikel, Pb: Kurşun, Zn: Çinko, CN: Siyanür)

Çizelge 3.2. Metal-kaplama sanayi atık su içeriği (mg/L) [85].

İyon	mg/L
Ag	0,43
Cd	0,69
Cr	2,77
Cu	3,38
Ni	3,98
Pb	0,69
Zn	2,61
CN	1,2

(Ag: Gümüş, Cd: Kadmiyum, Cr: Krom, Cu: Bakır, Ni: Nikel, Pb: Kurşun, Zn: Çinko, CN: Siyanür)

Çizelge 3.3. Altın çıkarma sanayi atık su içeriği (mg/L) [85].

İyon	mg/L
As	10,0
Cd	0,02
Cr	0,1
Cu	400,0
Fe	40,0
Hg	0,05
Mn	20,0
NH ₄	50,0

Çizelge 3.3. Altın çıkarma sanayi atık su içeriği (mg/L) (Devam ediyor) [85].

İyon	mg/L
Ni	10,0
Pb	0,1
Sel	6,0
Ag	2,0
Zn	100,0
CN	1000,0
TCN	2000,0

(As: Arsenik, Cd: Kadmiyum, Cr: Krom, Cu: Bakır, Fe: Demir, Hg: Civa, Mn: Mangan, NH₄: Amonyak, Ni: Nikel, Pb: Kurşun, Sel: Selenyum, Ag: Gümüş, Zn: Çinko, CN: Siyanür, TCN: Tetrasiyanonikelat)

3.12.2. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültür Süpernatları ile Biyoyıkımının Araştırılması

Bölüm 3.12.1’de anlatıldığı şekilde hazırlanan steril ve steril olmayan atık su ortamlarında *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* – *K. pneumoniae* kültür süpernatlarının siyanürü biyoyıkım oranları araştırıldı. *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatları Bölüm 3.11’de anlatıldığı şekilde hazırlanarak, atık su ortamlarına inoküle edildi. *K. pneumoniae*’nin kültür süpernatını içeren ortam 25°C’de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültür süpernatlarını içeren ortamlar ise 30°C’de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün inkübe edildi. İnkübasyon sonrası biyoyıkım ortamlarındaki siyanür miktarları ve üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.13. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Biyoyıkımının Araştırılması

3.13.1. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması

6 mg/kg ve 240 mg/kg siyanür içeren steril ve steril olmayan topraklı ortamlar laboratuvarda hazırlanarak, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* kültürlerinin siyanürü biyoyıkım oranları araştırıldı. Hazırlanan ortamlara *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* kültürleri ekildi. *K. pneumoniae* 25°C’de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* – *K. pneumoniae* kültürleri ise 30°C’de 100 rpm çalkalama

hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. İnkübasyon sonrası biyoyıkım ortamlarındaki siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

3.13.2. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültür Süpernatantları ile Biyoyıkımının Araştırılması

Bölüm 3.12.2'de anlatıldığı şekilde hazırlanan steril ve steril olmayan toprak ortamlarında, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* kültür süpernatantlarının siyanürü biyoyıkım oranları araştırıldı. Kültür süpernatantları Bölüm 3.11'de anlatıldığı şekilde hazırlanarak, toprak içeren biyoyıkım ortamlarına ilave edildi. *K. pneumoniae* kültür süpernatantı 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* – *K. pneumoniae* kültür süpernatantları ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün inkübasyona tabii tutuldu. İnkübasyon sonrası biyoyıkım ortamlarındaki siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarları spektrofotometrik olarak ölçüldü.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Hücrel metabolizmanın potent inhibitörü olan siyanür, sahip olduğu mutajenik ve karsinojenik etkiler nedeniyle dikkat çekici bir kimyasal madde olarak karşımıza çıkmaktadır [8]. Bu denli zararlı olan siyanürün çeşitli endüstriyel süreçlerde de kullanılıyor olması, canlıların siyanürlü bileşiklerle karşı karşıya kalma olasılığını arttırmaktadır. Zira arıtılmadan doğaya deşarj edilen siyanürlü bileşikler, atık sularda yaygın olarak gözlenmektedir. Söz konusu suların alıcı ortamlara deşarj edilmesiyle toprağa ulaşan siyanürün, toprağın kimyasal yapısını değiştirdiği ve yeraltı sularına da karışarak canlılar üzerinde ölümcül olabilen etkiler yarattığı bilinmektedir [48]. Siyanür doğada canlıların protein fonksiyonları için önemli olan geçiş metalleriyle kompleks oluşturarak farklı stabilite ve toksisitede bileşiklerin oluşumunu tetiklemektedir. Bu bağlamda bazı canlılar için gerekli olan metallerin kullanımı, siyanürün oluşturduğu metal siyanür bileşikleri nedeniyle engellenmektedir [1].

Günümüzde nüfus artışına bağlı olarak endüstriyel faaliyetlerde de artış olduğu göz önüne alındığında, üretim sonucu oluşan siyanürlü atık miktarındaki artış da kaçınılmazdır. Dolayısıyla siyanürlü bileşikler içeren atıkların deşarj edilmeden önce ön arıtmalarının yapılması, ön arıtımın yetersiz kaldığı koşullarda ise çevreye ulaşan siyanürün tespit edilerek miktarının azaltılması ekosistem açısından oldukça önemlidir.

Siyanür arıtımında fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Biyolojik yöntemler, fiziksel ve kimyasal yöntemlere kıyasla ucuz ve çevre dostu uygulamalar olmaları nedeniyle, günümüzde dikkatleri siyanür biyoyıkımını gerçekleştiren canlılar, özellikle de mikroorganizmalar üzerine çekmiştir. Siyanür biyoyıkımı yapabilen mikroorganizmaların kullanımıyla maliyetin düşürülmesi ve toksik olmayan son ürünlerin oluşumu sonucu çevrenin korunması mümkün olmaktadır [10, 17, 27]. Bu bağlamda siyanürün biyoyıkımında kullanılacak potent suşların saptanması çevre ve insan sağlığının korunması açısından büyük önem taşımaktadır.

Literatürde bakteri, fungus, alg ve bitkiler gibi pek çok canlı sistemle siyanür bileşiklerinin biyoyıkımı araştırılmıştır [10, 37]. Halen günümüzde de siyanür bileşiklerini biyoyıkıma uğratma potansiyeline sahip alternatif mikroorganizmaların

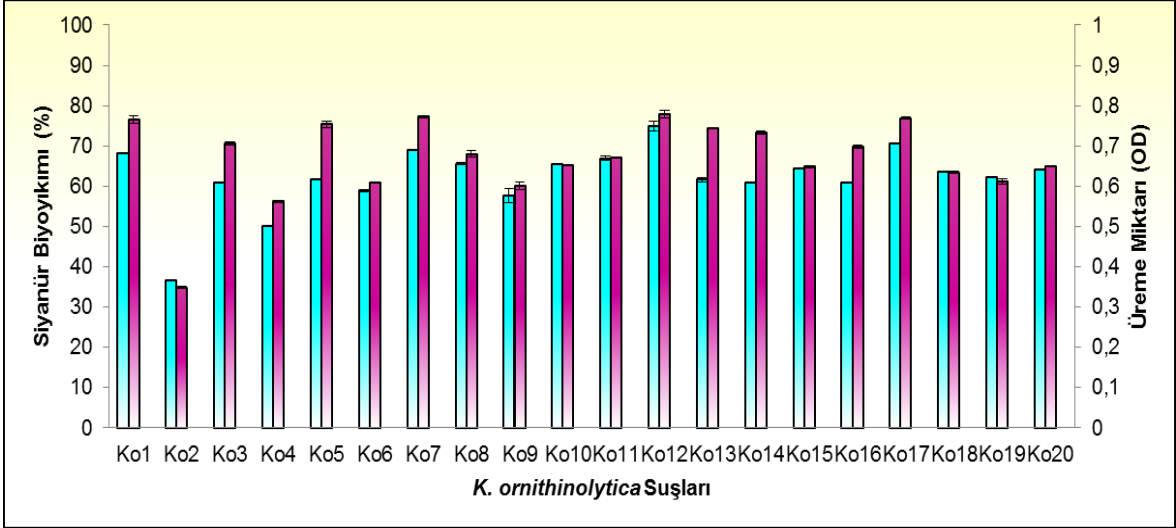
saptanması için araştırmalar devam etmektedir [30, 47, 49, 57]. Çalışmamızda farklı *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımındaki etkinlikleri incelendi.

4.1. Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Mikroorganizma Suşlarının Seçimi

Bilinen en toksik ve ölümcül kimyasallardan biri olan ve hücre metabolizmasının potent inhibitörleri olarak bilinen serbest siyanür ve siyanür bileşikleri endüstriyel süreçlerde kullanılan ya da endüstriyel süreç sonucunda oluşan önemli kirleticiler olarak karşımıza çıkmaktadır [86]. Söz konusu bileşiklerin biyokatalizörler kullanılarak biyoyıkıma uğratılması ile toksik maddelerin ucuz ve hızlı bir şekilde toksik olmayan son ürünlere biyoyıkımı gerçekleştirilmiş olmaktadır [17, 27, 46].

Literatürde, *Burkholderia cepacia* [20], *Pseudomonas putida* [8], *Agrobacterium tumefaciens* SVTS 1 [14], *Pseudomonas fluorescens* [10], *Klebsiella oxytoca* [5, 6, 7], *Bacillus pumilus* C1 [17], *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT 5344 [1] gibi çeşitli bakteriler ve *Fusarium oxysporum* N-10 [3], *Rhizopus oryzae* [21] ve *Trichoderma sp.* [59] gibi çeşitli funguslar siyanür biyoyıkımları açısından değerlendirilerek biyoyıkımdaki etkinlikleri belirlenmiştir.

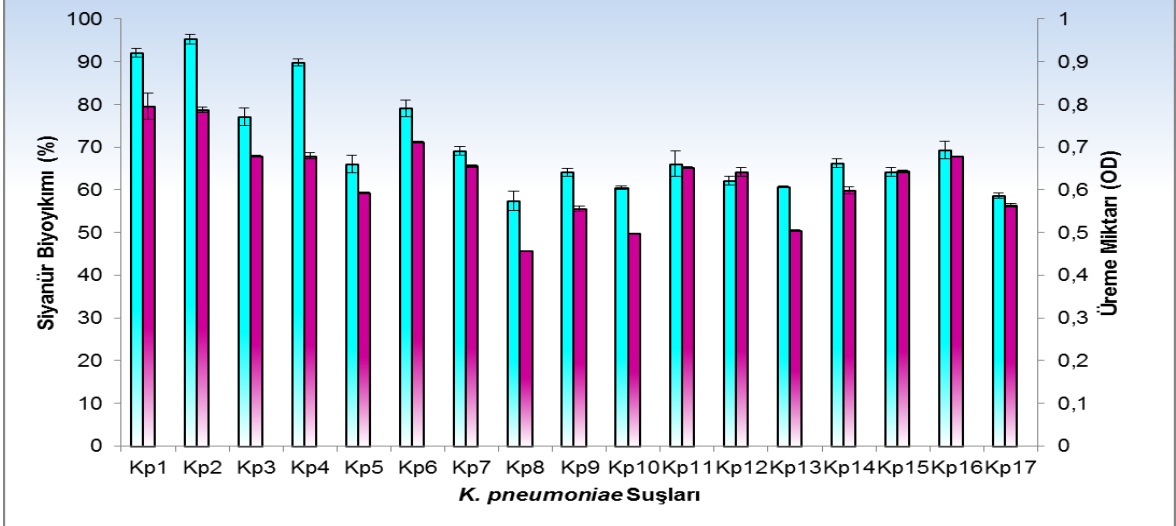
Çalışmamızda *Klebsiella ornithinolytica*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella rhinoscleromatis* ve *Klebsiella terrigena* suşları potasyum siyanür biyoyıkım oranları açısından değerlendirildi. Siyanür biyoyıkımında en etkin suşların *K. ornithinolytica* türü içerisinde Ko12 (%74,83), *K. pneumoniae* türü içerisinde Kp2 (%95,28), *K. oxytoca* türü içerisinde Kox1 (%98,27), *K. rhinosecleromatis* türü içerisinde Kr2 (%73,01) olduğu ve *K. terrigena* türünün ise %68,88 oranında biyoyıkım yaptığı gözlendi. *K. ornithinolytica* türüne ait suşların %80'inin, *K. pneumoniae* türüne ait suşların %88'inin, *K. oxytoca* türüne ait suşların %83'nn, *K. terrigena* ve *K. rhinoscleromatis* türlerine ait suşların ise tamamının %60'ın üzerinde siyanür biyoyıkımı gerçekleştirdiğı belirlendi. Buna ek olarak *K. ornithinolytica* türü içerisinde Ko12 ve Ko17 suşlarının, *K. pneumoniae* türü içerisinde Kp3 ve Kp6 suşlarının ve *K. rhinoscleromatis* türü içerisinde ise Kr2'nin %70'in üzerinde biyoyıkım yaptıkları saptandı. %90'ın üzerinde siyanür biyoyıkımı ise *K. pneumoniae* (Kp1, Kp2 ve Kp4) ve *K. oxytoca* (Kox1) türlerine ait suşlar tarafından gerçekleştirildi (şekil 4.1, şekil 4.2, şekil 4.3 ve şekil 4.4).



Şekil 4.1. Farklı *K. ornithinolytica* suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

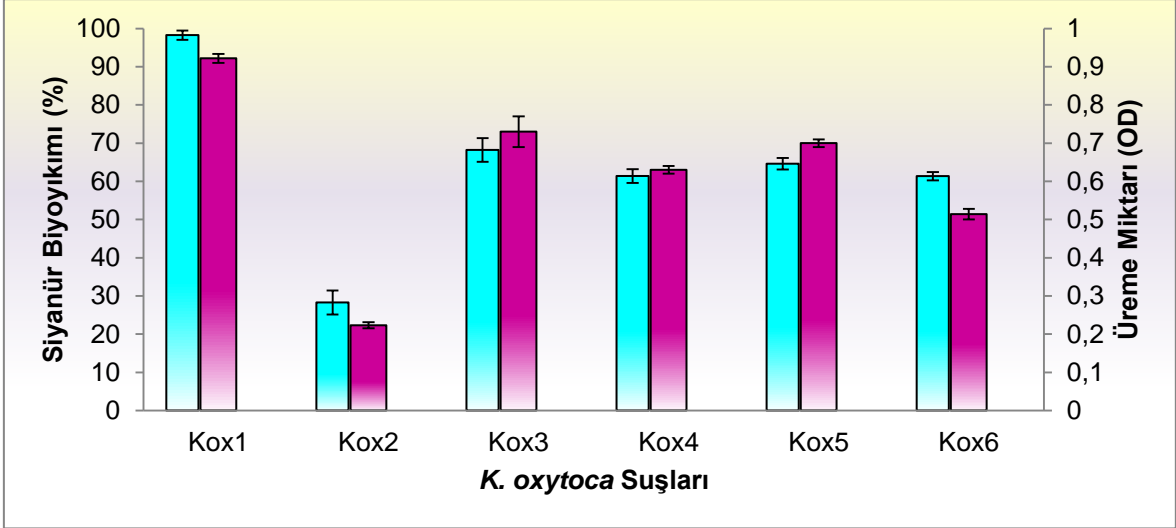
* Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 günde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Farklı *K. pneumoniae* suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

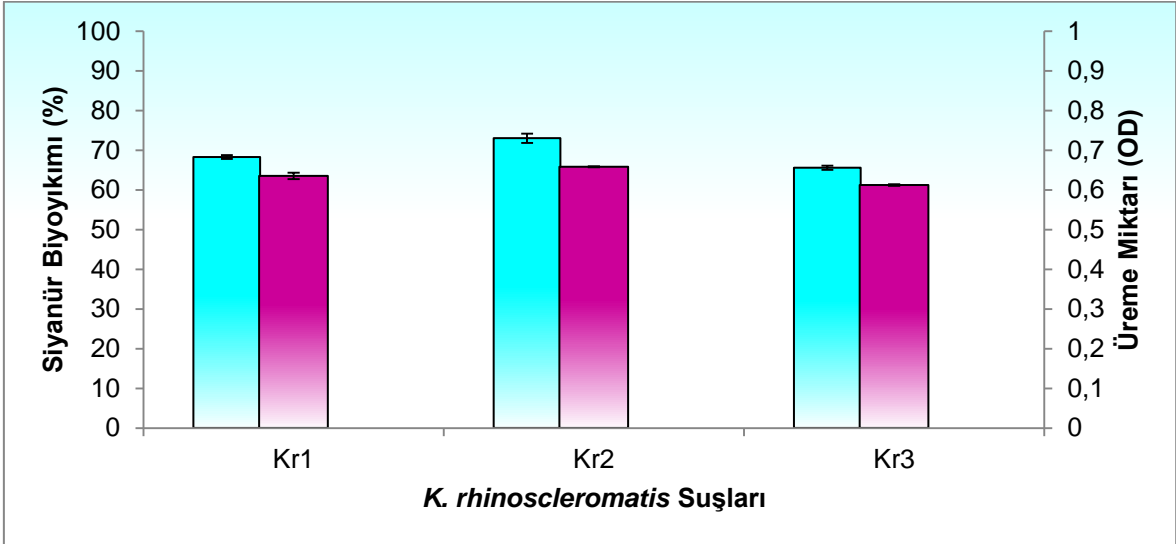
* Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 günde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.3. Farklı *K. oxytoca* suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 günde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.4. Farklı *K. rhinoscleromatis* suşları ile potasyum siyanür biyoyıkımı ve suşların üreme miktarları.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 günde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmada incelenen tüm *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımında etkin oldukları, en etkin siyanür biyoyıkımını yapan türlerin ise *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri olduğu belirlendi. Söz konusu türlere ait olan Kp2 ve Kox1 suşları çalışmanın devamında kullanılmak üzere seçilerek 16S ribozomal RNA analizi ile moleküler düzeyde tanımlamaları gerçekleştirildi. Bu bağlamda Kp2 suşunun *K. pneumoniae* ATCC 700721'e, Kox1 suşunun ise *K. oxytoca* ATCC 13182 suşuna %99 oranında benzerlik gösterdikleri bulundu.

Sonuç olarak siyanür biyoyıkım oranları incelenen 5 farklı *Klebsiella* türü arasında siyanür biyoyıkımını gerçekleştiren en etkin suşların *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türlerine ait olduğu belirlendi. %90'ın üzerinde siyanür biyoyıkımını yapan *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türlerine ait suşlar çalışmanın devamında kullanılmak üzere seçilmelerinin yanı sıra, henüz optimize edilmemiş koşullar altında bile %70'in üzerinde siyanür biyoyıkımını yapabilen *K. ornithinolytica* (Ko12 ve Ko17) ve *K. rhinoscleromatis* (Kr2) suşları dikkat çekti. Literatürde *K. ornithinolytica* ve *K. rhinoscleromatis* türleri ile yapılmış siyanür biyoyıkım çalışmasına rastlanmadığı göz önüne alınarak, söz konusu türlere ait suşların ileride yapılacak çalışmalar için de iyi bir alternatif olacağı sonucuna varıldı.

4.2. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımını Etkileyen Uygun Fizyolojik Koşulların Araştırılması

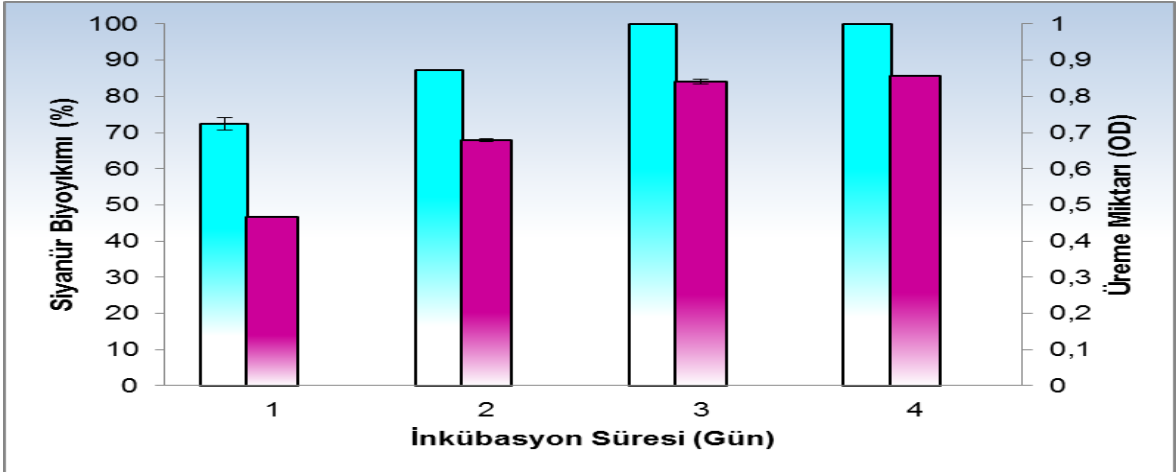
Mikroorganizmalar tarafından siyanür biyoyıkımı; biyoyıkım ortamının fizikokimyasal özelliklerine bağlı olarak gerçekleşebilmektedir [87]. Bu bağlamda sıcaklık, pH, basınç, karbon ve azot kaynakları, oksijenin varlığı, atık su içerisinde yer alan kontaminantlar, farklı siyanür bileşiklerinin biyoyuğunluğu ve siyanürün başlangıç konsantrasyonu gibi parametreler siyanür biyoyıkımını etkileyen başlıca etmenler olarak karşımıza çıkmaktadır [46].

Çalışmamızda *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türlerinin siyanür biyoyıkımını gerçekleştirdikleri uygun fizyolojik koşulların belirlenmesi amacıyla siyanür biyoyıkımının inkübasyon süresine göre değişimi, siyanürün farklı konsantrasyonlarının siyanür biyoyıkımına etkisi, siyanür biyoyıkımı için uygun başlangıç pH değeri, sıcaklık değeri ve çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının siyanür biyoyıkımına etkisi parametreleri araştırılarak sonuçlar değerlendirildi.

4.2.1. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımının İnkübasyon Süresine Göre Değişiminin Araştırılması

Çalışmada kullanılan siyanürlü besiyerine ekilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları 35°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde üretildi. 24 saatte bir üretim ortamlarından örnek alınarak söz konusu türlerin siyanür biyoyıkım yüzdeleri, üreme miktarları ve siyanür biyoyıkımı sonucu oluşan amonyak miktarları belirlendi (Şekiller 4.5, Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8). *K. pneumoniae* türünün 3. günün sonunda, *K. oxytoca* türünün ise 5. günün sonunda siyanürü %100 oranında biyoyıkıma uğrattıkları gözlemlendi. Siyanür biyoyıkım oranındaki artışa bağlı olarak oluşan amonyak miktarının da her iki türde arttığı belirlendi (Şekil 4.6 ve Şekil 4.8).

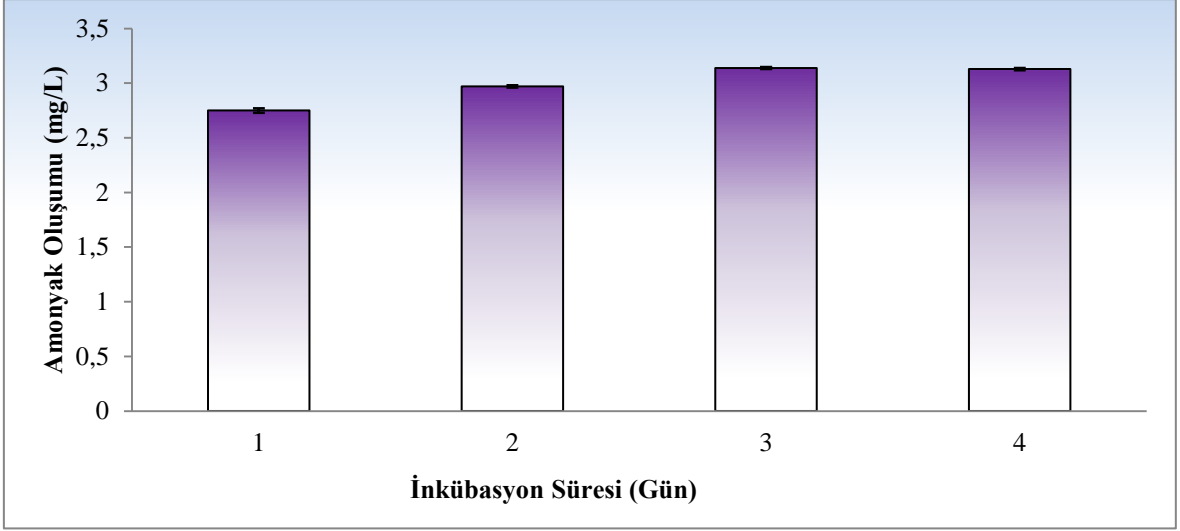
Literatürde, *Agrobacterium tumefaciens* SUSTS 1'in 7. günün sonunda %75 oranında siyanür biyoyıkımı gerçekleştirdiği [14], *Pseudomonas fluorescens*'in ise %78,9 oranında siyanür biyoyıkımı yaptığı [10] gözönüne alındığında çalışmamızda kullanılan her iki *Klebsiella* türünün de inkübasyonun birinci gününde bile siyanür biyoyıkımını %70'in üzerinde yapmaları *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* türlerinin siyanür biyoyıkım süreçlerinde kullanılabilirliklerine işaret etmektedir (Şekil 4.5 ve Şekil 4.7).



Şekil 4.5. İnkübasyon süresinin *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

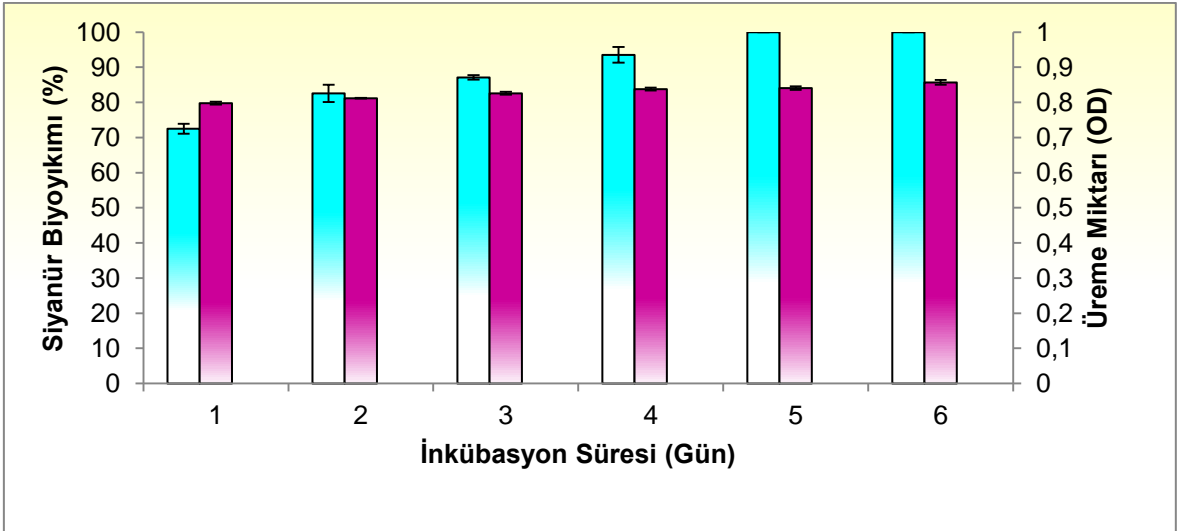
■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 4 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.6. *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımında değişen inkübasyon sürelerinde oluşan amonyak miktarları.

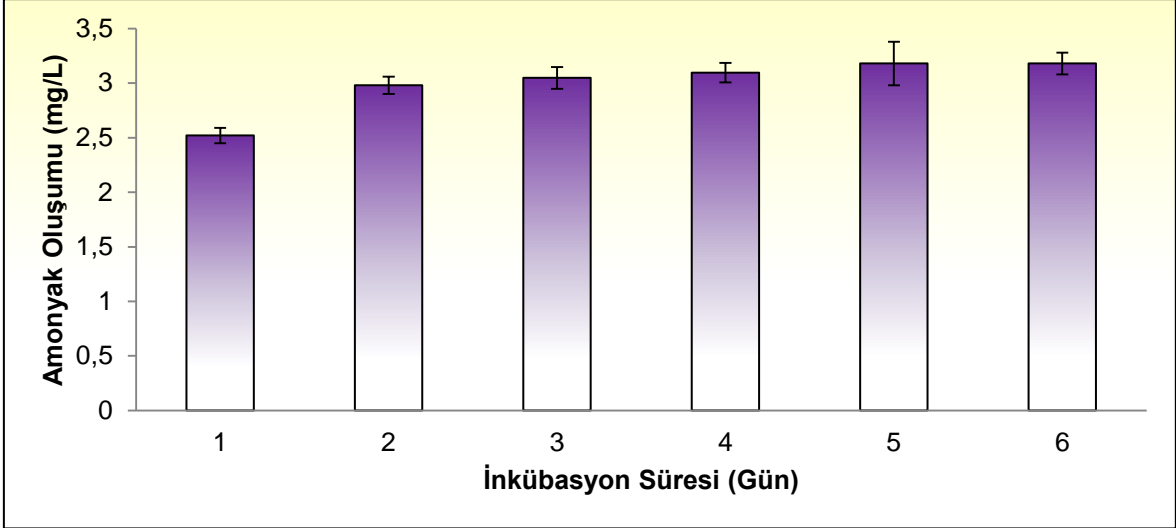
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 4 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.7. İnkübasyon süresinin *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 6 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.8. *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımında değişen inkübasyon sürelerinde oluşan amonyak miktarları.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 6 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Toksik maddelerin biyoyıkımında görevli mikroorganizmaların endüstriyel süreçlerde de kullanılabilir olması, en kısa sürede en fazla biyoyıkım gerçekleştiren suşların seçimi ile mümkün olabilmektedir. Söz konusu süreçlerde etkin suşların kullanımı ile maliyetin düşürülerek kısa zamanda bol verim elde edilmesi mümkündür. Bu bağlamda *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri karşılaştırıldığında biyoyıkım süresi daha kısa olan *K. pneumoniae*'nin endüstriyel alanda kullanımının *K. oxytoca*'ya göre daha avantajlı olduğu görülmektedir.

4.2.2. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanürün Farklı Konsantrasyonlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Siyanür; elektro-kaplama, madencilik, akrilik fiber ve reçine üretimi, plastik ve nişasta endüstrisi gibi çeşitli endüstriyel süreçlerde kullanılmakta ve bu süreçler sonucu oluşan endüstriyel atıkların ön arıtımlarının yapılarak veya doğrudan çevreye deşarj edildikleri bilinmektedir. Siyanürün canlılar üzerindeki toksik etkisi göz önüne alındığında atıkların içeriğindeki siyanür miktarının azaltıldıktan sonra çevreye verilmesi, çevre sağlığının korunması açısından büyük önem taşımaktadır [88].

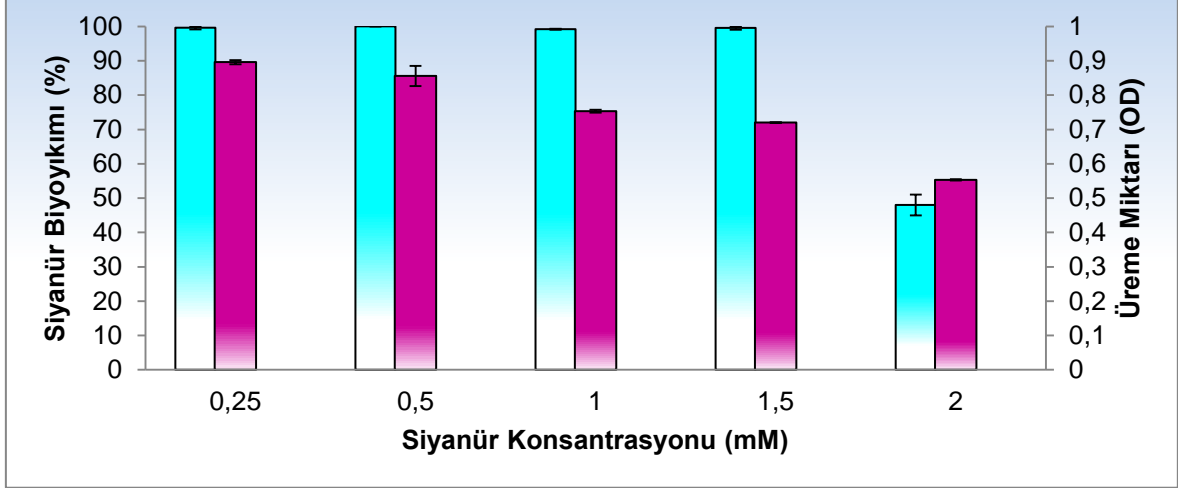
USEPA (United States Environmental Protection Agency- Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı) çeşitli su kaynaklarında bulunabilecek toplam serbest ve metal – siyanür miktarlarının maksimum değerlerini içme suyu için 0,2 mg/L, sucul yaşam için ise 0,05 mg/L olması gerektiğini bildirmiştir [89]. Literatürde endüstriyel atık sularda bulunan toplam siyanür miktarının yaklaşık 0,01 – 100 mg/L olduğu belirtilmektedir [9]. Bu bağlamda, endüstriyel atık sular aracılığıyla bizlere ulaşan siyanürün değişen konsantrasyonlarının canlı sistemler kullanılarak biyoyıkımlarının gerçekleştirilebilmesi önem taşımaktadır. Çalışmamızda *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyıkımında uygun siyanür konsantrasyonlarının belirlenmesi amaçlandı.

Bu çalışmada, temel besiyerine 0,25 mM - 2 mM arasında değişen konsantrasyonlarda potasyum siyanür ilave edilerek 35°C'de 150 rpm hızındaki çalkalamalı inkübatörde *K. pneumoniae* suşu 3 gün, *K. oxytoca* suşu ise 5 gün üretildi. Söz konusu üretim ortamlarında *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkım yüzdeleri, üreme miktarları ve oluşturdukları amonyak miktarları belirlendi.

Her iki *Klebsiella* türü için de en yüksek biyoyıkımın gerçekleştiği siyanür konsantrasyonlarının 0,25 mM ve 0,5 mM olduğu saptandı. Bu bağlamda, çalışmanın devamında kullanılmak üzere siyanür konsantrasyonu olarak 0,5 mM seçildi. *K. pneumoniae* türünün 1 mM ve 1,5 mM siyanür konsantrasyonlarında da %90'ın üzerinde biyoyıkım yapabildiği gözlemlendi. Buna ek olarak söz konusu türün 2 mM siyanür içeren ortamda siyanürü halen biyoyıkıma uğratabildiği belirlendi (Şekil 4.9). Çalışmada incelenen diğer bir tür olan *K. oxytoca* türünün ise 1 mM siyanür konsantrasyonunda %80'in üzerinde biyoyıkım yaptığı, 1,5 mM ve 2 mM siyanür konsantrasyonlarında ise biyoyıkım yüzdesi azalmakla birlikte, siyanür biyoyıkımının halen devam ettiği saptandı (Şekil 4.11). Ortamda siyanür miktarı arttıkça, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının üreme miktarlarının ve siyanür biyoyıkımının azaldığı, bu parametrelere bağlı olarak da amonyak oluşumunda da azalma görüldüğü belirlendi (Şekil 4.10 ve Şekil 4.12).

Siyanürün mikroorganizmalar üzerindeki toksik etkisi nedeniyle çalışmamızda *K. pneumoniae* türünün üreme miktarlarında 0,25 mM – 1,5 mM aralığında, *K. oxytoca* türünün ise 0,25 mM – 1mM aralığında kayda değer azalış görülmezken *K. pneumoniae* türü için 2 mM potasyum siyanür konsantrasyonunda, *K. oxytoca*

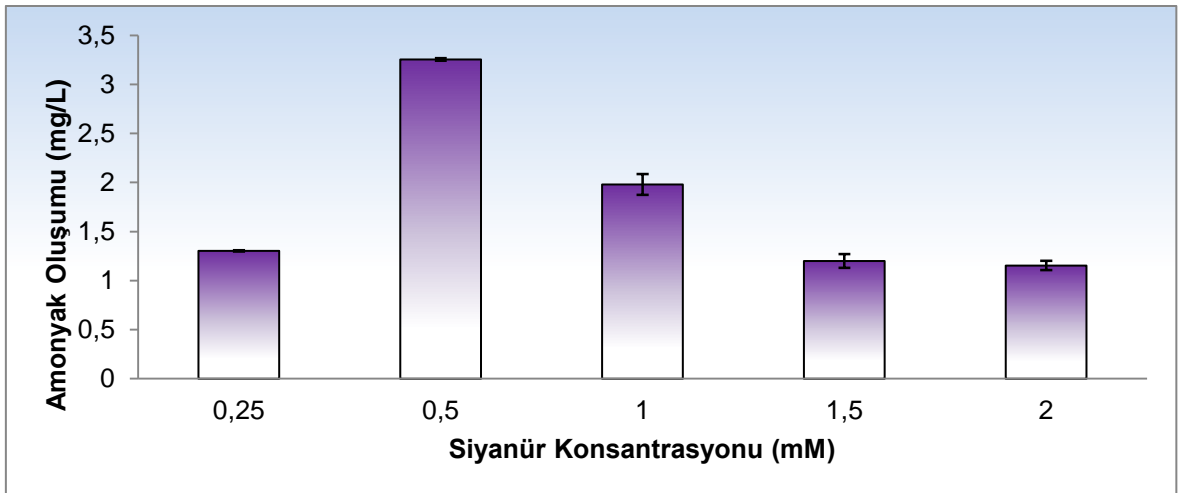
türü için ise 1,5 mM potasyum siyanür konsantrasyonundan itibaren siyanür konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak üreme miktarlarının azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.9 ve Şekil 4.11). Buna rağmen *K. pneumoniae* türünün 2 mM'lık siyanür konsantrasyonunda bile halen %50'nin üzerinde yıkım yaptığı belirlendi (Şekil 4.9).



Şekil 4.9. Potasyum siyanür konsantrasyonunun *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

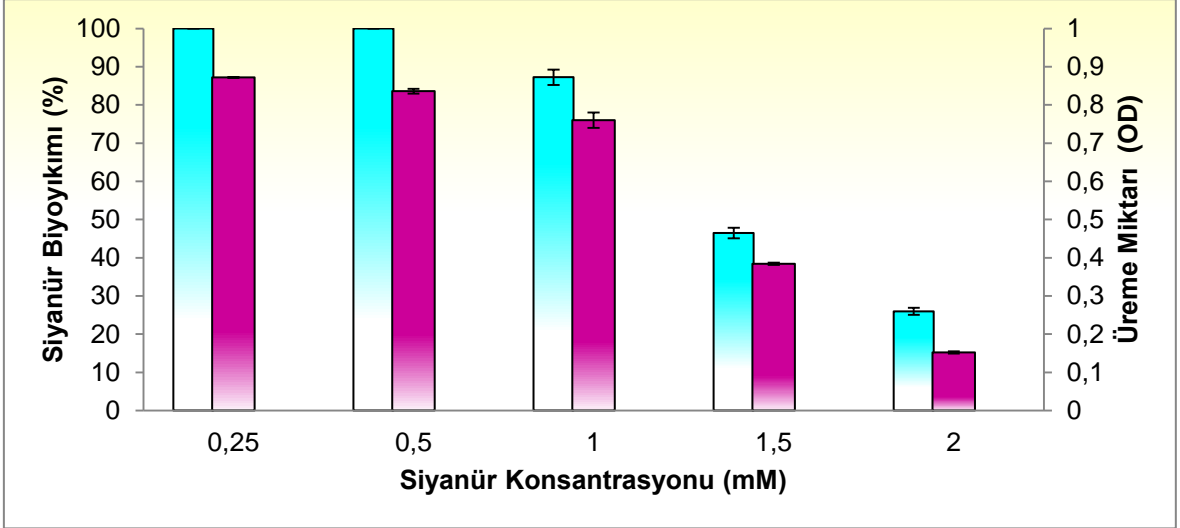
■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.10. *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımında değişen potasyum siyanür konsantrasyonlarında oluşan amonyak miktarları.

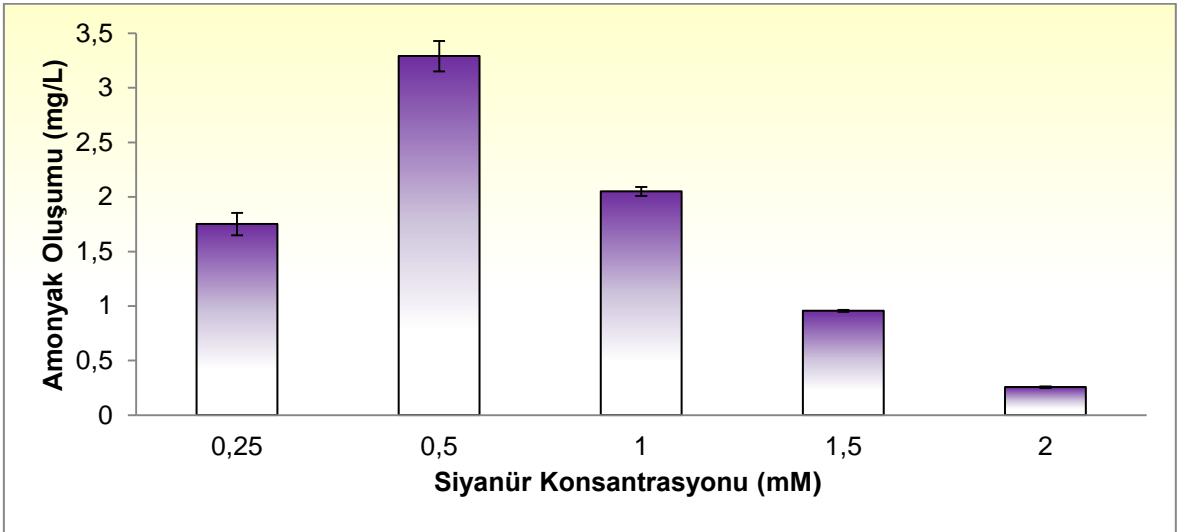
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.11. Potasyum siyanür konsantrasyonunun *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.12. *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımında değişen potasyum siyanür konsantrasyonlarında oluşan amonyak miktarları.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Literatürde çalışmamıza benzer bir çalışmada *P. fluorescens* NCIMB 11765 suşunun 0,25 mM'ın üstündeki siyanür konsantrasyonlarında üreme ve siyanür biyoyıkım miktarında azalma olduğu görülmüştür [67]. Diğer bir çalışmada ise *Rhodococcus* NCIMB 11765'in de 0,1 mM siyanürü biyoyıkıma uğratabildiği, 0,5 mM'lık [49] siyanür konsantrasyonunu da tolere edebildiği belirtilmiştir.

Yapılan araştırmalar, endüstriyel atık suların siyanür konsantrasyonunun 1 mg/L'nin altına düşürüldükten sonra çevreye deşarj edilmesinin çevre sağlığına önemini vurgulamaktadır [88]. Bu bağlamda çalışmamızda kullanılan her iki *Klebsiella*'nın suşunun da söz konusu miktardan çok daha fazla siyanürü biyoyıkıma uğratma özellikleri göz önüne alındığında siyanürlü bileşiklerin uzaklaştırılmasındaki etkinliklerinin oldukça fazla olduğu görülmektedir. Türler kendi arasında karşılaştırıldığında ise, *K. pneumoniae* türünün *K. oxytoca* türüne kıyasla daha yüksek konsantrasyonlardaki siyanürü biyoyıkıma uğratabildiği, bu bağlamda yüksek siyanür içeriği olan atık suların arıtımında kullanmak üzere seçilebileceği belirlendi (Şekil 4.9 ve Şekil 4.11).

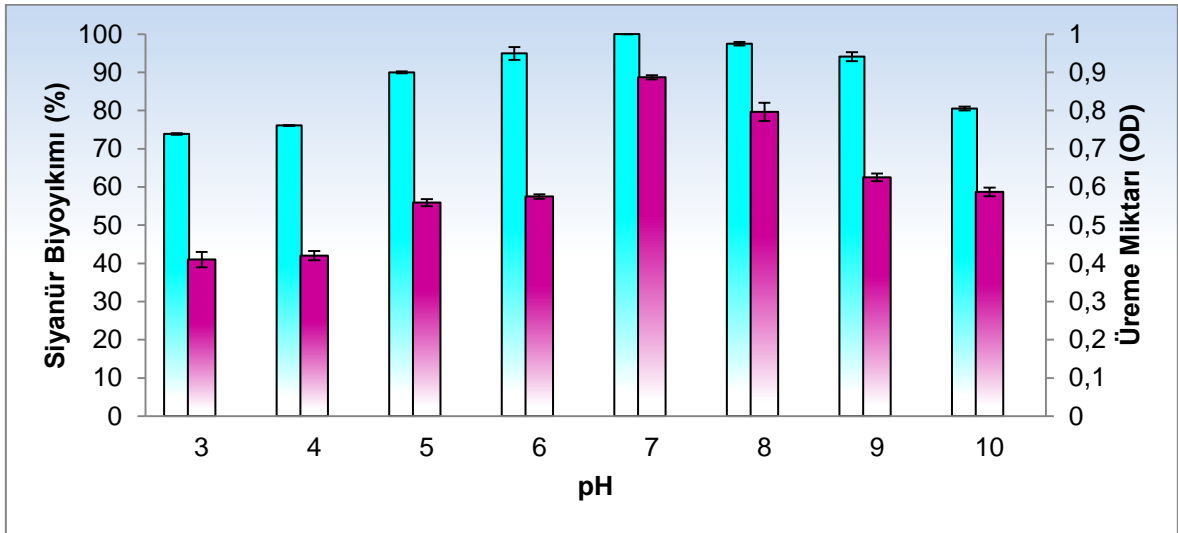
4.2.3. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Başlangıç pH Değerinin Araştırılması

Siyanürün özelliği kaynağına ve çeşitli fiziksel faktörlerin etkisine bağlı olarak değişmektedir. Söz konusu maddenin ayrışması pH, sıcaklık ve redoks potansiyeli gibi parametrelerle doğrudan ilişkilidir [10]. Siyanür bileşiklerinin kullanıldığı (CuCN, ZnCN) veya üretim sonucu siyanür oluşturan farklı endüstriyel kollardan gelen atık suların pH'sının 7,5-10 olduğu bilinmektedir [4]. Endüstriyel çalışmalarda kullanılacak olan mikroorganizmanın geniş pH aralığında biyoyıkım yapabiliyor olması farklı ortamlarda kullanılabilirliğini sağlamaktadır. Bunun yanı sıra, biyoyıkım için en uygun pH'nın tespiti ise seçilen mikroorganizmadan hangi süreçlerde yararlanılabileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada, potasyum siyanür biyoyıkımı için uygun başlangıç pH değerinin belirlenmesi amacıyla *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri 3,0 ile 10,0 arasında değişen pH'larda hazırlanan siyanürlü besiyerlerinde üretildi. İnkübasyon sonunda üretim ortamlarındaki siyanür biyoyıkım yüzdeleri, üreme ve ortamda oluşan amonyak miktarları belirlendi. *K. pneumoniae* türünün pH 5 ile 9 aralığında, *K. oxytoca* türünün ise pH 6 ile 8 aralığında %90'ın üzerinde siyanür biyoyıkımı

yaptıkları saptandı. Her iki tür için de %100 siyanür biyoyıkımının gerçekleştiği pH değerinin 7 olduğu gözlemlendi (Şekil 4.13 ve Şekil 4.15). Siyanür biyoyıkımı sonucu oluşan amonyak miktarının da siyanür biyoyıkım oranına bağlı olarak pH 7’de en yüksek değere ulaştığı saptandı (Şekil 4.12 ve Şekil 4.14). Buna ek olarak en yüksek üreme miktarının pH 7’de olduğu, söz konusu pH’nın altındaki ve üstündeki pH değerlerinde ise üreme miktarında azalma olduğu gözlemlendi (Şekil 4.13 ve Şekil 4.15). Üreme için en uygun pH değerinin siyanür biyoyıkımında kullanılan enzimlerin sentezi için de en uygun pH olduğu düşünüldüğünde, değişen pH değerlerinde üreme ve enzim üretme miktarlarındaki azalmaya bağlı olarak oluşan amonyak miktarlarının pH 7’deki amonyak miktarından daha az olduğu belirlendi (Şekil 4.14 ve Şekil 4.16).

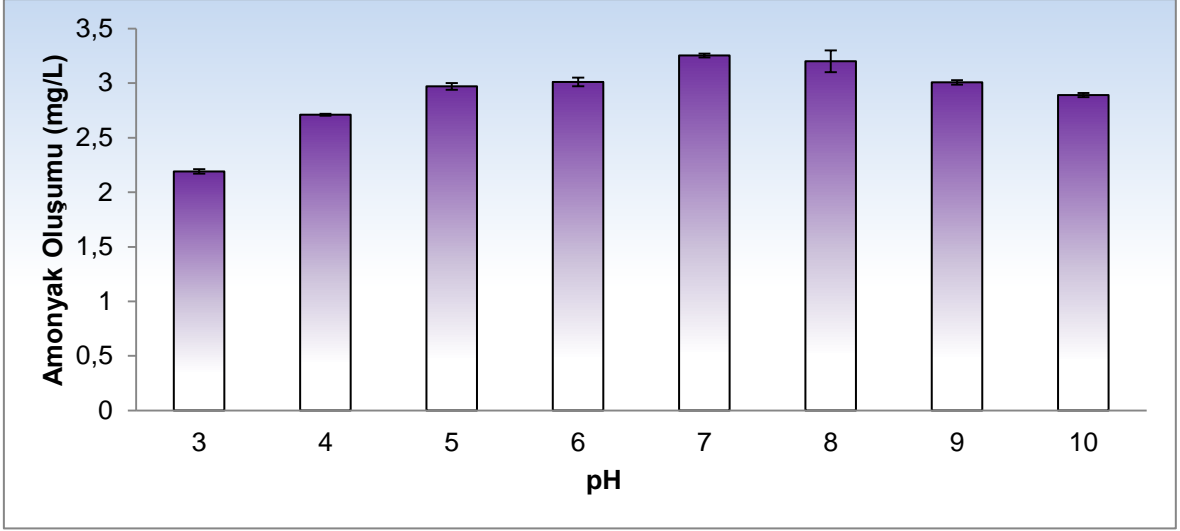
Literatürde, çalışmamızla paralel olarak siyanürün mikrobiyal yıkımının optimize edildiği farklı çalışmalarda, siyanür biyoyıkımını *P. fluorescens* suşunun pH 5’te [10], *C. humicola*’nın pH 7,5’te [28] ve *A. vinelandii* TISTR 1094’ün ise pH 7-8,5’te yapabildiği belirtilmektedir [90].



Şekil 4.13. Farklı başlangıç pH değerlerinin *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

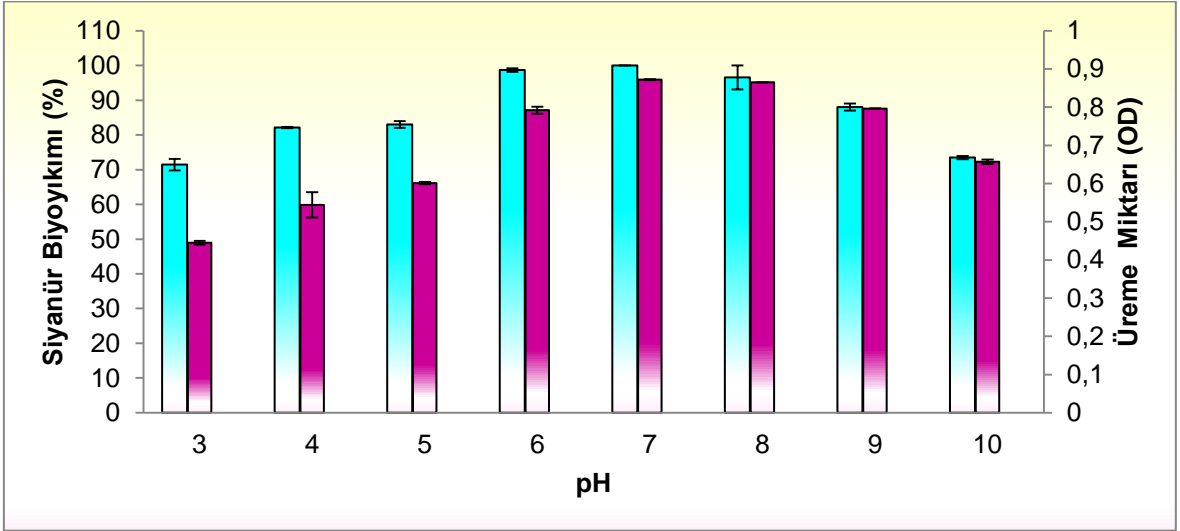
■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C’de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.14. *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımında değişen başlangıç pH değerlerinde oluşan amonyak miktarları.

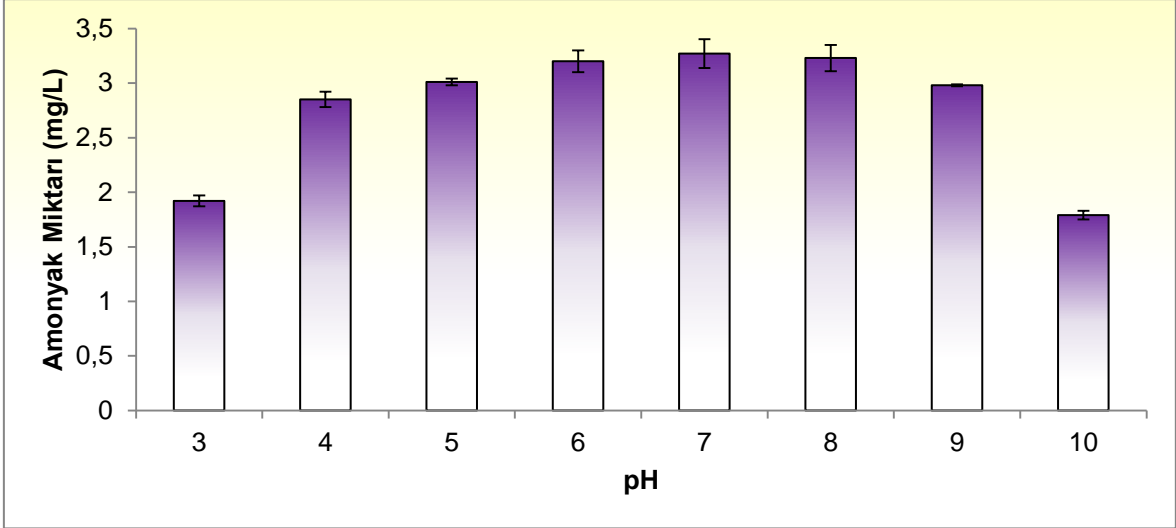
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.15. Farklı başlangıç pH değerlerinin *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.16. *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımında değişen başlangıç pH değerlerinde oluşan amonyak miktarları.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 35°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Klebsiella türleri kendi arasında değerlendirildiğinde, *K. pneumoniae* türünün asidik ve bazik pH değerlerindeki geniş pH aralığında (pH 5-9) %90'ın üzerinde siyanür biyoyıkımı yapmasının siyanür biyoyıkımında kullanılabilirliği açısından *K. oxytoca* türüne kıyasla daha avantajlı olduğunu göstermektedir. Buna ilave olarak pH 10 olan bir ortamda siyanür biyoyıkımı istendiğinde ise *K. pneumoniae* türünün söz konusu pH'da %80'in üzerinde biyoyıkım yaptığı göz önüne alınarak, *K. oxytoca*'dan daha avantajlı olduğu söylenebilir. Her iki *Klebsiella* türü pH 7 dışındaki pH'larda üreme miktarlarındaki azalmaya rağmen araştırılan tüm pH değerlerinde %70'in üzerinde siyanür biyoyıkımı yapmaktadır (Şekil 4.13 ve Şekil 4.15). Suşların siyanür biyoyıkımında göstermiş oldukları geniş pH stabilitesi göz önüne alındığında endüstriyel alanlarda kullanımlarının oldukça avantajlı oldukları saptanmıştır.

4.2.4. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımı İçin Uygun Sıcaklık Değerinin Araştırılması

Çevresel koşullardan doğrudan etkilenen biyoyıkımın önemli bir parametresi de sıcaklıktır. Biyoyıkım sürecinde, mikroorganizmaların üremesi ve biyoyıkım yapabilmeleri için sıcaklık aktive veya inhibe edici etki göstermektedir. Bu bağlamda, siyanür biyoyıkımında kullanılacak suşların en uygun sıcaklık

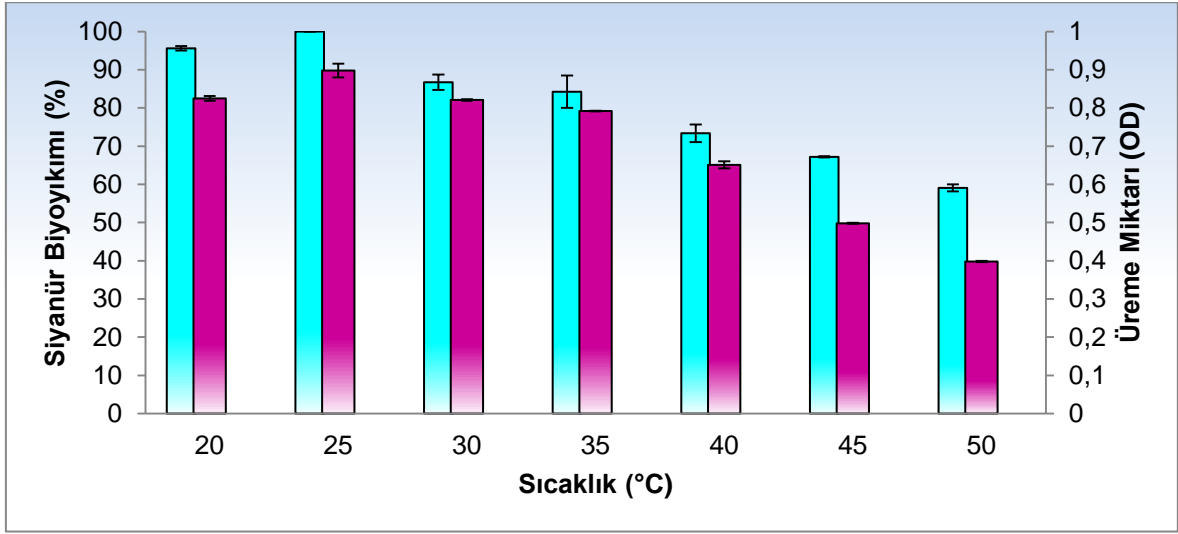
değerlerinin saptanması etkin sonuçların alınması bakımından önem taşımaktadır [80]. Literatürde, siyanür biyoyıkım ortamı sıcaklığının 20°C'den 30°C'ye çıkarılmasının siyanür biyoyıkım oranını artırıcı etki gösterdiği belirtilmektedir. 30°C'nin üzerindeki artan sıcaklıklarda ise siyanür biyoyıkımında kullanılan enzimlerin aktivitesinde düşüş olmakta ve buna bağlı olarak siyanür biyoyıkımı azalmaktadır [4].

Çalışmamızda inkübasyon sıcaklığının potasyum siyanür biyoyıkımına etkisinin belirlenmesi amacıyla 20°C ile 50°C arasında değişen sıcaklıklardaki siyanürlü besiyerlerinde üretilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının, inkübasyon sonrası kültür ortamlarındaki siyanür biyoyıkım oranları, üreme miktarları ve oluşturdukları amonyak miktarları belirlendi. Siyanür biyoyıkımının %100'e ulaştığı sıcaklık değerlerinin *K. pneumoniae* türü için 25°C, *K. oxytoca* türü için ise 30°C olduğu saptandı. Buna ek olarak *K. pneumoniae* türünün 20°C ile 35°C aralığında, *K. oxytoca* türünün ise 25°C ile 40°C aralığında %80'nin üzerinde siyanür biyoyıkımı yaptıkları gözlemlendi. *K. pneumoniae* suşu için 25°C'den sonra, *K. oxytoca* suşu için ise 30°C'den sonra üremenin artan sıcaklık ile birlikte düştüğü saptandı (Şekil 4.17 ve Şekil 4.19).

Çalışmada kullanılan her iki *Klebsiella* türünün optimal olarak belirlenen sıcaklık değerlerinin dışında üreme miktarlarında azalma olduğu, buna bağlı olarak siyanür biyoyıkımının azaldığı ve oluşan amonyak miktarının da azaldığı belirlendi (Şekil 4.18 ve Şekil 4.20). Literatürde, mikrobiyal siyanür biyoyıkımının 25-30°C'de en yüksek değerlere ulaştığı [79], söz konusu sıcaklık değerlerine yakın sıcaklık değerlerinde de siyanür biyoyıkımının arttığı belirtilmektedir [36]. Çalışmamıza benzer olarak yapılan çalışmalarda, optimal siyanür biyoyıkım sıcaklıkları *C. humicola* için 25°C [28], *Rhodococcus sp.* [49] ve *Serratia marcescens* RL2b için 35°C [47] olarak bulunmuştur.

Klebsiella türleri karşılaştırıldığında *K. pneumoniae* türünün 20°C-40°C, *K. oxytoca* türünün ise 25°C-45°C aralığında %70'in üzerinde siyanür biyoyıkımı yapıyor olmaları söz konusu türlerin siyanür biyoyıkımında kullandıkları enzimlerin farklı sıcaklıklarda da aktivitelerini büyük oranda koruduklarını göstermektedir. Bu bağlamda çalışmada kullanılan her iki *Klebsiella* türünün de geniş sıcaklık

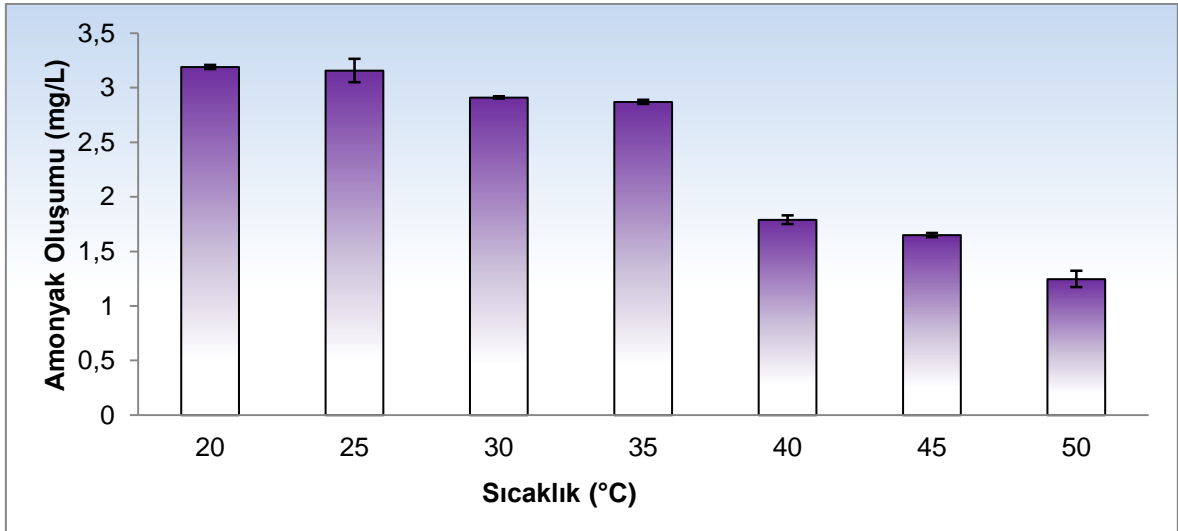
aralığında siyanür biyoyıkımı yapıyor olması endüstriyel uygulamalarda kullanılabilmeleri açısından önemlidir.



Şekil 4.17. Farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinin *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

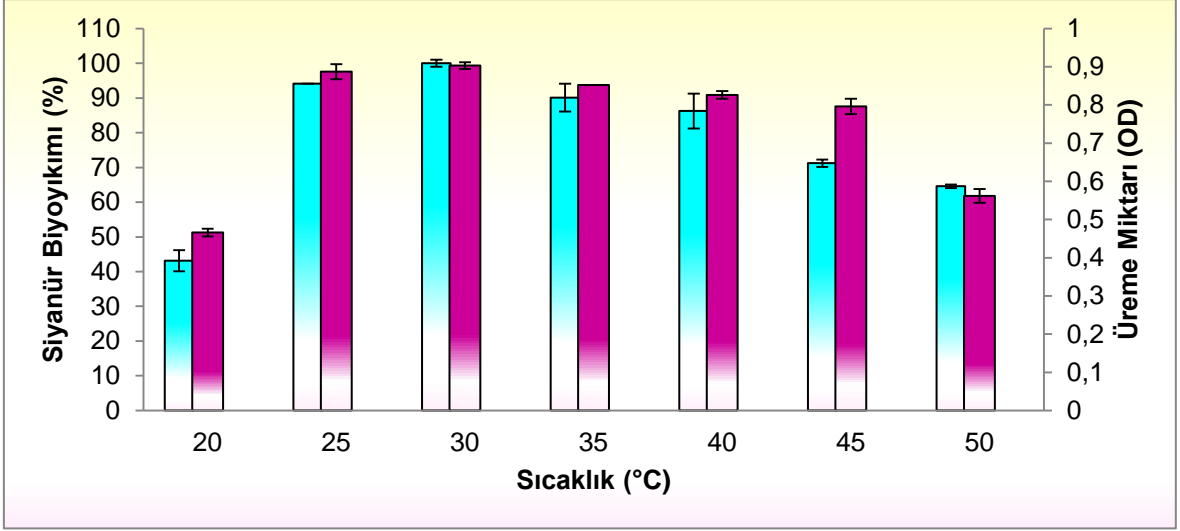
■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.18. *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımında farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinde oluşan amonyak miktarları.

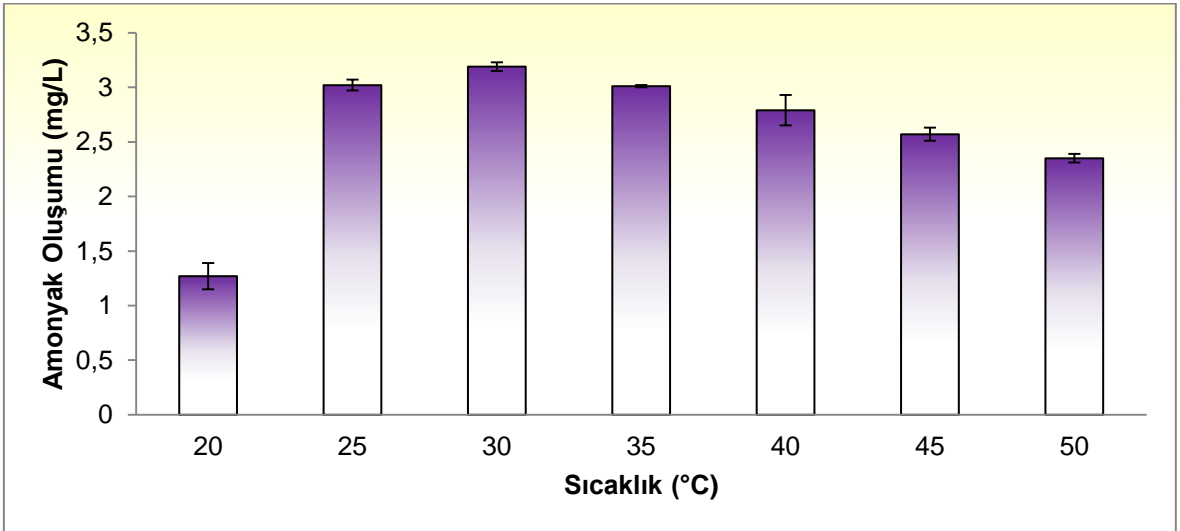
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.19. Farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinin *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.20. *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımında farklı inkübasyon sıcaklık değerlerinde oluşan amonyak miktarları.

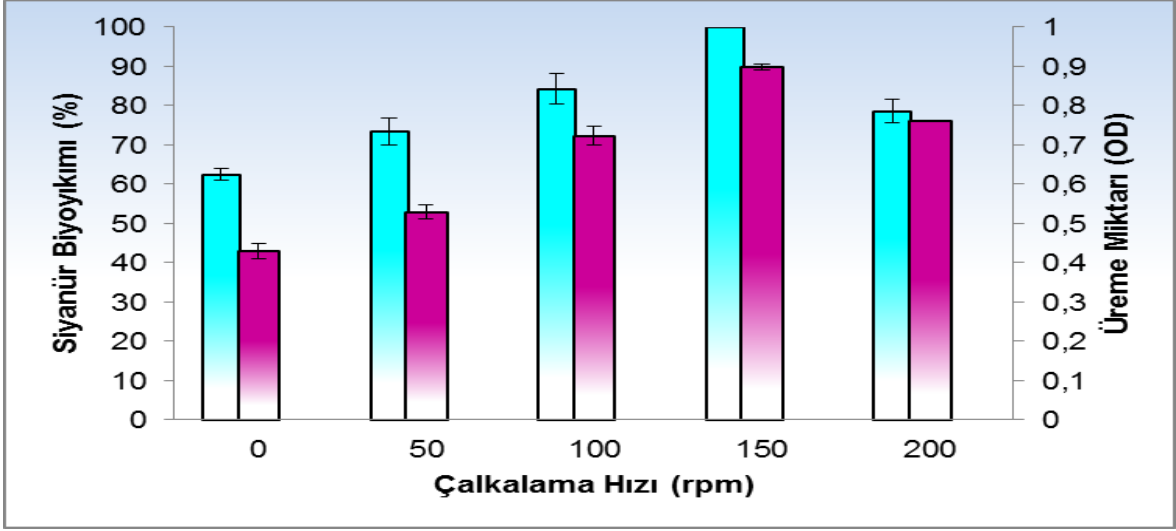
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

4.2.5. Çalkalamalı ve Statik İnkübasyon Koşullarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Biyokatalizörler kullanılarak arıtımın gerçekleştirildiği süreçlerde, ortamda bulunan besin ve oksijenin suşlara etkin bir şekilde ulaştırılması biyoyıkımın verimini etkilemektedir. Aerobik ve anaerobik sistemlerin kullanıldığı bu süreçlerde, aerobik koşullarda çalkalama hızına bağlı olarak biyoyıkım oranlarındaki artış endüstriyel ortamlarda biyoyıkım veriminin artması yönünden avantajlıdır. Anaerobik koşullarda ise biyoyıkım sürecinde çalkalamaya gerek duyulmaması enerji kullanımının düşük olmasına olanak sağlaması bakımından endüstriyel boyutta avantaj olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bağlamda seçilen mikroorganizma ile kısa sürede ve verimli siyanür biyoyıkımının gerçekleştirilmesi için çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının incelenmesi büyük önem taşımaktadır.

Çalışmamızda çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının siyanür biyoyıkımına etkisinin belirlenmesi amacıyla 0–200 rpm arasında değişen çalkalama hızlarında üretilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının üretim sonrası kültür ortamlarındaki siyanür biyoyıkım yüzdeleri, üreme ve oluşan amonyak miktarları belirlendi. Bu bağlamda *K. pneumoniae* suşunun optimal siyanür biyoyıkımını 150 rpm çalkalama hızında, *K. oxytoca*'nın ise 100 rpm çalkalama hızında yaptıkları saptandı. Buna ek olarak 50-200 rpm aralığındaki çalkalama hızlarında *K. oxytoca*'nın %80'in, *K. pneumoniae*'nin %70'in üzerinde siyanür biyoyıkımı yaptıkları gözlemlendi (Şekil 4.21 ve Şekil 4.23). Her iki türün de biyoyıkım ortamlarında artan çalkalama hızına bağlı olarak en uygun çalkalama hızına kadar üreme miktarlarının, siyanür biyoyıkımlarının ve amonyak oluşumlarının arttığı belirlendi (Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24).

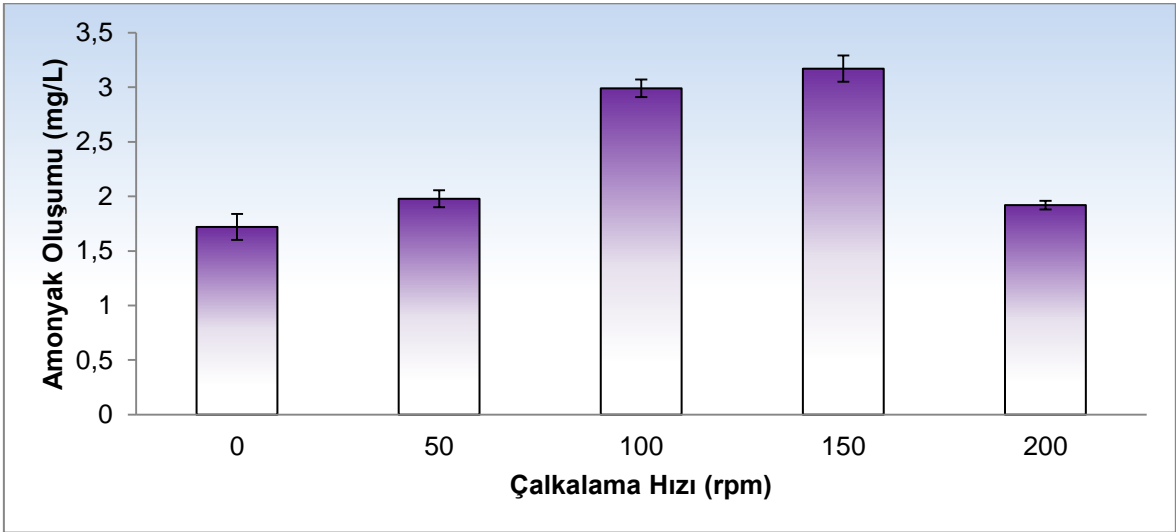
Literatürde, çalışmamızla benzer olarak siyanür biyoyıkımında çalkalama hızlarının *Pseudomonas pseudoalcaligenes* için 230 rpm [1], atık sulardan izole edilen *Citrobacter sp.* MCM B-181, *Pseudomonas sp.* MCM B-182, *Pseudomonas sp.* MCM B-183 ve *Pseudomonas sp.* MCM B-184'ten oluşan karışık kültürdeki mikroorganizmalar için 150 rpm [4] ve *Agrobacterium tumefaciens* SUSTS 1180 için 150 rpm [14] olduğu belirtilmiştir.



Şekil 4.21. Çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

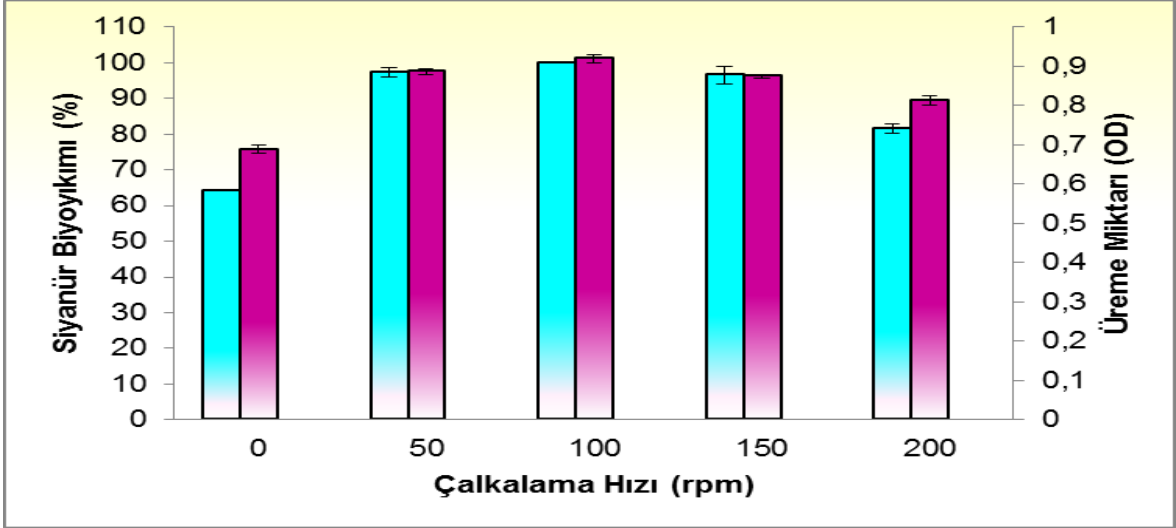
■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 25°C'de 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.22. *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımında çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarda oluşan amonyak miktarları.

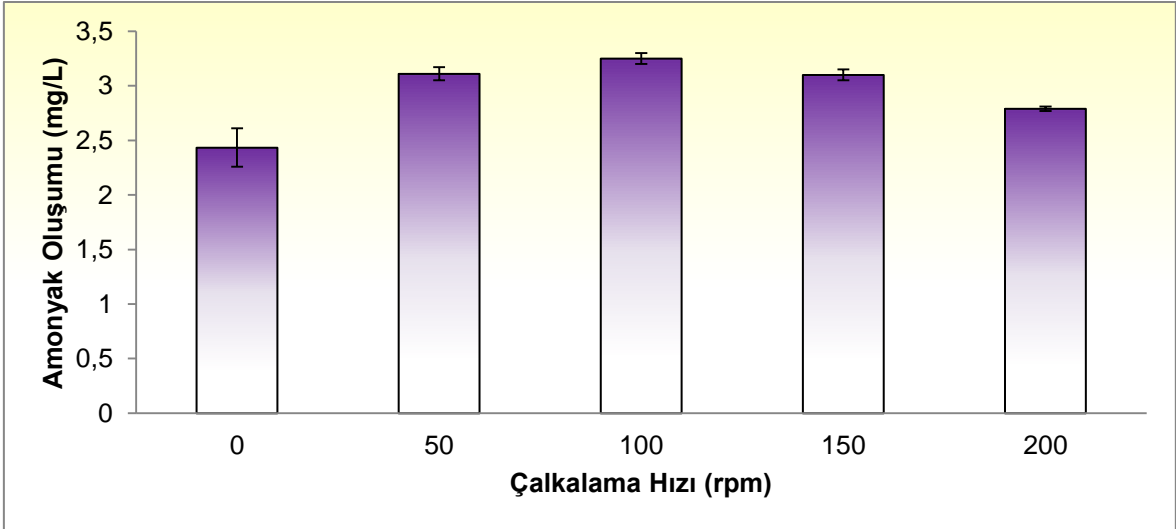
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 25°C'de 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.23. Çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarının *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımı ve üreme miktarına etkisi.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 30°C'de 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.24. *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımında çalkalamalı ve statik inkübasyon koşullarda oluşan amonyak miktarları.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 30°C'de 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Klebsiella türleri kendi aralarında karşılaştırıldıklarında *K. oxytoca* türünün 50–150 rpm aralığında % 90'ın üzerinde siyanür biyoyıkımı yapıyor olması nedeniyle biyoyıkımında *K. pneumoniae* türüne kıyasla daha avantajlı olduğu görülmektedir (Şekil 4.21 ve Şekil 4.23). Buna ek olarak, *Klebsiella* türlerinin statik inkübasyon

koşullarında da %60'ın üzerinde siyanür biyoyıkımı yapıyor olmaları daha az enerji kullanımı ile biyoyıkım sağlayabilecek olmaları bakımından endüstriyel kullanımları açısından önem taşımaktadır.

4.3. Farklı Siyanür Kaynaklarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Biyoyıkımının Araştırılması

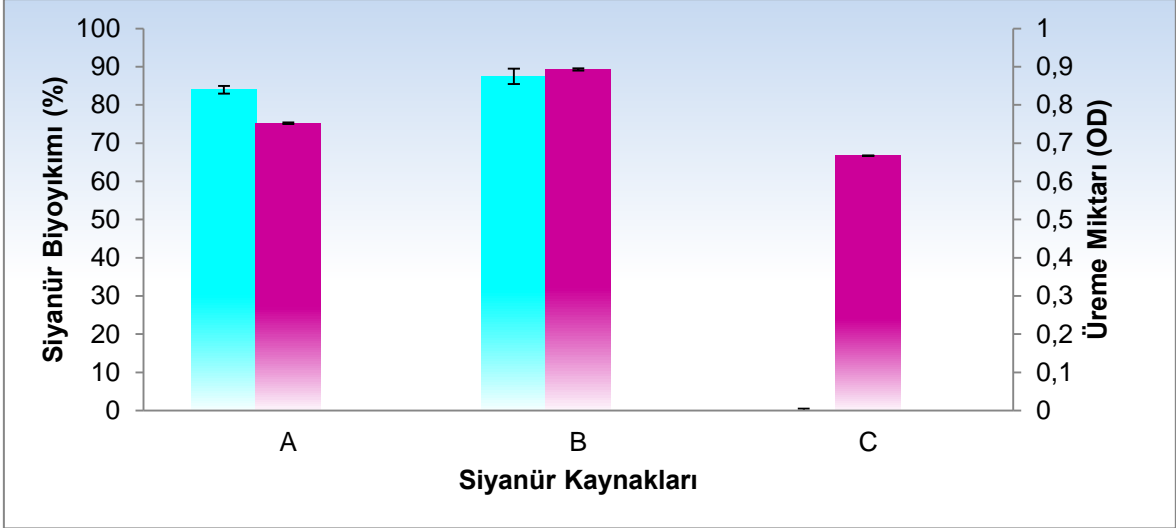
Endüstriyel atık suların arıtılmadan çevreye deşarj edilmesiyle veya çeşitli sızıntılarla toprak ve suya bulaşan siyanür bileşikleri, atık ortamında bulunan ağır metallerle hızla bağ yapmakta ve serbest siyanür bileşiklerine kıyasla biyolojik atağa daha dayanıklı olan metal siyanür bileşikleri oluşturmaktadırlar [35]. Toksik etkileri metallerle birleşmesine bağlı olarak katlanarak artan metal siyanür kompleksleri, mikroorganizmalar tarafından karbon ve azot kaynağı olarak kullanılmak üzere daha az toksik ürünlere metabolize veya transfer edilebilmektedir [10]. Doğada siyanürün sodyum ve potasyum tuzlarının, tetrasiyanonikelat gibi nikelin yer aldığı farklı siyanür bileşiklerinin de bulunduğu göz önüne alınarak söz konusu siyanür kaynaklarını biyoyıkıma uğratabilecek suşların belirlenerek siyanür biyoyıkım çalışmalarında kullanılması çevre sağlığı açısından önemlidir.

Çalışmamızda siyanür biyoyıkımı için temel siyanür kaynağı olarak potasyum siyanür kullanıldı. Ancak endüstriyel süreçlerde siyanür gideriminde bir mikroorganizmanın kullanılabilmesi için farklı siyanür kaynaklarında da etkin biyoyıkım gerçekleştirebilmesi istenen özelliklerden biridir. Bu bağlamda, *Klebsiella* türlerinin farklı endüstrilerden çevreye verilen farklı siyanür kaynaklarını (potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat, sodyum ferrosiyanoür dekahidrat, potasyum tetrasiyanonikelat (II) hidrat) biyoyıkım oranları araştırıldı. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları söz konusu siyanür kaynaklarını 0,5 mM konsantrasyonda ayrı ayrı içeren besiyerlerine ekildi ve *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış inkübatörde 5 gün üretildi. Üretim sonrası kültür ortamlarındaki siyanür biyoyıkım yüzdeleri, üreme ve oluşan amonyak miktarları belirlendi. Bu bağlamda *K. pneumoniae* suşunun potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat'ı %84, sodyum ferrosiyanoür dekahidrat'ı ise %87,5 oranında biyoyıkıma uğrattığı ancak potasyum tetrasiyanonikelat (II) hidrat içeren ortamda üreyemediği halde biyoyıkım yapamadığı gözlemlendi (Şekil 4.25). Bu

bağlamda *K. pneumoniae* suşu potasyum tetrasiyanonikelat (II) hidratı biyoyıkıma uğratamadığından biyoyıkım ortamında amonyak oluşumu da görülmedi (Şekil 4.26). *K. oxytoca* suşunun ise potasyum hekzasiyanoferat (II) trihidrat'ı %87,5, sodyum ferrosiyanür dekahidrat'ı ise %78,5 oranında biyoyıkıma uğrattığı belirlendi (Şekil 4.27). *K. pneumoniae*'nin biyoyıkıma uğratamadığı potasyum tetrasiyanonikelat (II) hidrat'ı *K. oxytoca* suşunun %27 oranında biyoyıkıma uğrattığı gözlemlendi (Şekil 4.25 ve Şekil 4.27). *K. pneumoniae* suşunun tetrasiyano nikelat (II) hidrat'ın bulunduğu ortamda üreyebildiği halde biyoyıkım yapmaması bu siyanür kaynağının siyanürü biyoyıkıma uğratacak olan enzim sistemini uygun substrat olarak indüklemediğini göstermektedir.

Kömür işleme ve metalürji sanayi gibi yüksek miktarda üretim yapan endüstriyel süreçlerde kullanılmakta olan tiyosiyanat, soluma yoluyla vücuda alındığında başta tiroid fonksiyonlarında bozulma olmak üzere baş dönmesi, bulantı ve kusma gibi pek çok etki yarattığı bilinmekte ve söz konusu maddenin mikrobiyal olarak yıkımı ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır [91].

Literatürde, Yanase ve ark. [3] tarafından yapılan bir çalışmada 0,5 mM konsantrasyondaki tetrasiyanonikelatı farklı bakteri suşları tarafından %20 - %30 oranında biyoyıkıma uğratılabildiği gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada *F. oxysporum*'un 20 mM tetrasiyanonikelatı ise %70 oranında biyoyıkıma uğrattığı belirtilmektedir. Çalışmamızda, söz konusu siyanür bileşiğinin biyoyıkım koşulları henüz optimize edilmemiş olmasına rağmen *K. oxytoca* türü ile %27,5 oranında biyoyıkıma uğratılıyor olması çalışmada kullanılan suşun tetrasiyanonikelat biyoyıkımındaki etkinliğini göstermektedir (Şekil 4.27). Asfaltın yapısında bulunan [46] ve endüstriyel süreçler sonucunda atıklarda da yer alan sodyum ferrosiyanür dekahidratın da *K. pneumoniae* (%87,5) ve *K. oxytoca* (%78,5) türleri ile etkin biyoyıkımının gerçekleştirilebildiği gözlemlendi. Buna ek olarak atıkların ve fosil yakıtların dekompoze olması sonucu toprak veya suya salınan nikelin siyanürle birleşmesi sonucu oluşan potasyum tetrasiyanonikelat hidrat'ın da [35] çalışmamızda sadece *K. oxytoca* türü tarafından biyoyıkıma uğratılabildiği belirlendi (Şekil 4.27). *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile farklı siyanür kaynaklarının yüksek oranda biyoyıkıma uğratıldığı ortamlarda, siyanür biyoyıkımına bağlı olarak yüksek oranda amonyak oluştuğu belirlendi (Şekil 4.26 ve Şekil 4.28).

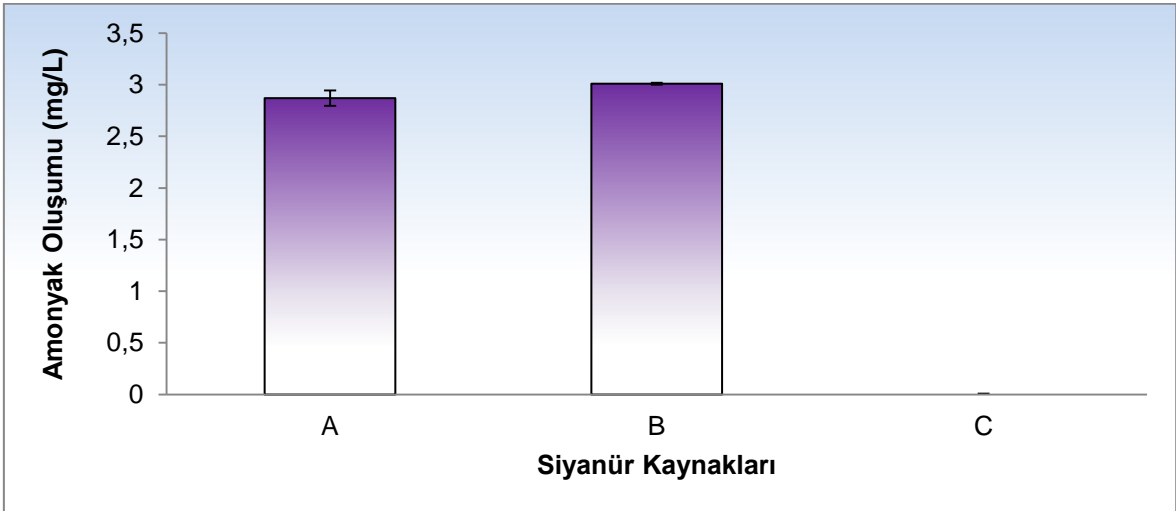


(A: Potasyum hekzasianoferrat (II) trihidrat, B: Sodyum ferrosianür dekahidrat, C: Potasyum tetrasianonikelat (II) hidrat)

Şekil 4.25. Farklı siyanür kaynaklarının *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımına etkisi.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

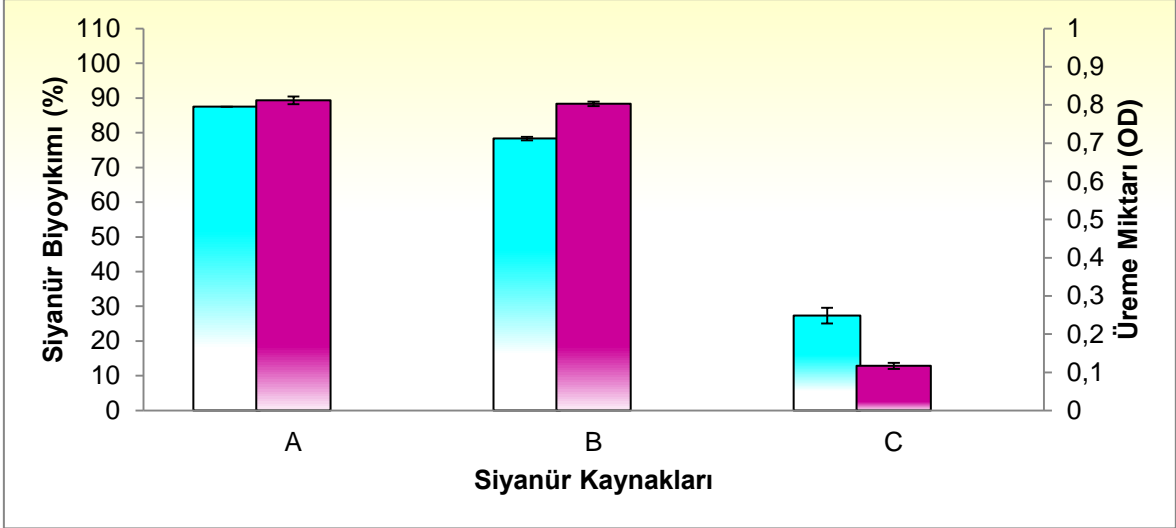
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



(A: Potasyum hekzasianoferrat (II) trihidrat, B: Sodyum ferrosianür dekahidrat, C: Potasyum tetrasianonikelat (II) hidrat)

Şekil 4.26. *K. pneumoniae* ile farklı siyanür kaynaklarının biyoyıkıma uğratılması sonucu oluşan amonyak miktarları.

*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

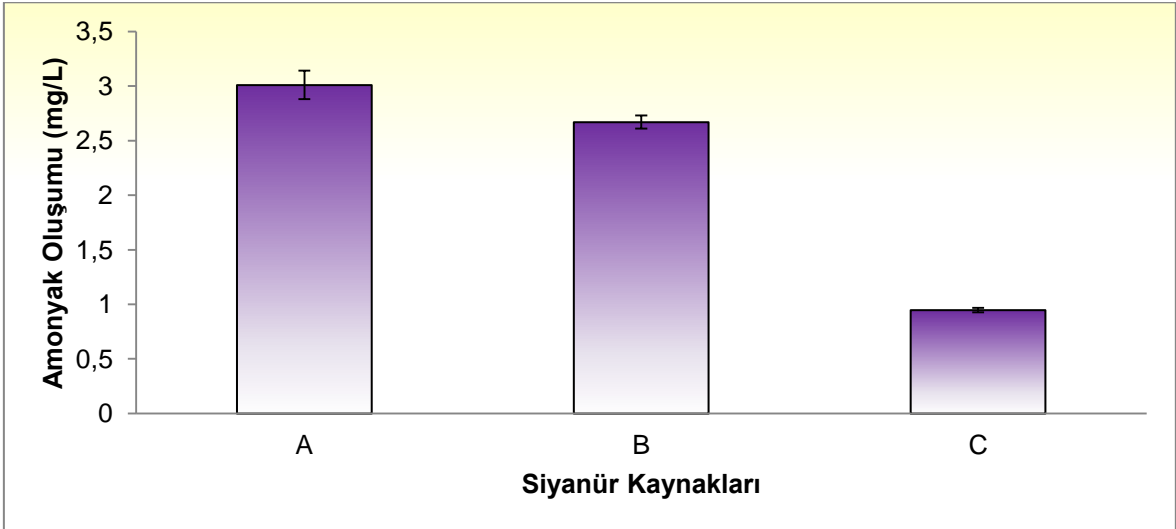


(A: Potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat, B: Sodyum ferrosiyanür dekahidrat, C: Potasyum tetrasiyanonikelat (II) hidrat)

Şekil 4.27. Farklı siyanür kaynaklarının *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımına etkisi.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



(A: Potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat, B: Sodyum ferrosiyanür dekahidrat, C: Potasyum tetrasiyano nikelat (II) hidrat)

Şekil 4.28. *K. oxytoca* ile farklı siyanür kaynaklarının biyoyıkıma uğratılması sonucu oluşan amonyak miktarları.

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda *Klebsiella* türleri ile farklı siyanür kaynaklarının biyoyıkım oranları incelenerek, biyoyıkım ortamı parametrelerinin henüz optimize edilmemiş olmasına rağmen tüm siyanür bileşiklerinin *K. oxytoca* suşu ile biyoyıkıma uğratılabildiği gözlemlendi. Kömür işleme ve metalürji sanayi atıklarının her iki *Klebsiella* türü ile, asfaltın yapısında bulunan ve bu yolla toprağa da karışan sodyum ferrosiyano dekahidratın *K. pneumoniae* türü ile ve son olarak da atıkların ve fosillerin ayrışması sonucu oluşan potasyum tetrasiyanonikelatın ise *K. oxytoca* ile biyoyıkımlarının avantajlı olduğu belirlendi.

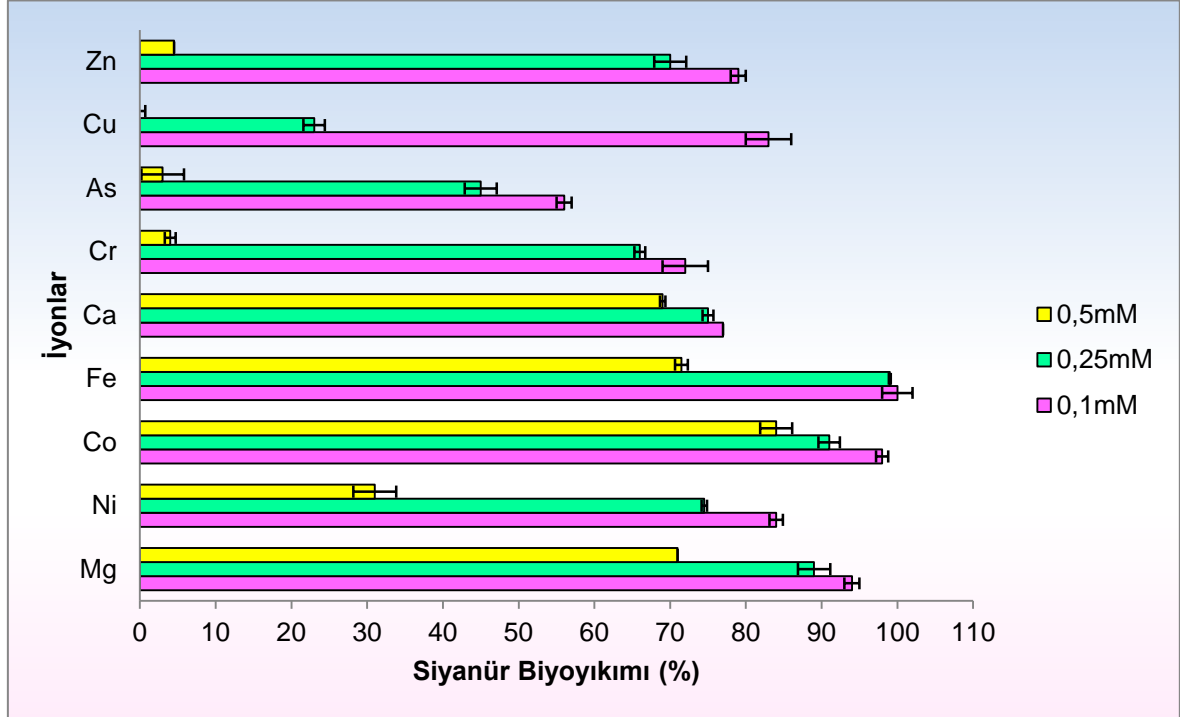
4.4. Üretim Ortamına İlave Edilen Farklı İyonların Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Siyanür içeren atıklar nikel, bakır, demir, krom, kadmiyum ve çinko gibi pek çok ağır metali de beraberinde içerebilmektedir [6, 44]. Bu bağlamda, siyanürlü bileşikler içeren atık sularda siyanürün yanı sıra farklı iyonların da bulunabileceği göz önüne alınarak, siyanür biyoyıkımında kullanılacak olan mikroorganizmaların söz konusu iyonların varlığında da etkin şekilde siyanür biyoyıkımını gerçekleştirebilmesi önem taşımaktadır.

Çalışmamızda, kirletici olarak siyanür içeren ortamlarda bulunabilecek olan değişen konsantrasyonlardaki farklı iyonların (magnezyum, nikel, kobalt, demir, kalsiyum, krom, arsenik, bakır ve çinko) *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile siyanür biyoyıkımına etkisi araştırıldı. Bu bağlamda siyanürlü besiyerine farklı konsantrasyonlarda (0,1mM, 0,25mM ve 0,5mM) ayrı ayrı ilave edilen iyonların bulunduğu ortamlara *Klebsiella* suşları ekildi. *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün üretildi. Üretim sürecinin tamamlanmasının ardından suşların siyanür biyoyıkım yüzdeleri ve üreme miktarları belirlendi.

K. pneumoniae türünün 0,5 mM bakır iyonunu içeren biyoyıkım ortamı dışında diğer tüm iyonların farklı konsantrasyonlarında siyanür biyoyıkımını yapabildiği saptandı (Şekil 4.29). *K. oxytoca* türünün ise tüm iyonların farklı konsantrasyonlarında biyoyıkım yapabildiği gözlemlendi (Şekil 4.31). *K. pneumoniae* türünün magnezyum, demir ve kobaltın 0,1 mM konsantrasyonlarının bulunduğu ortamlarda %90'ın üzerinde biyoyıkım yaptığı görüldü. Bu ortamlardaki üreme

miktarlarının da birbirine yakın olduğu belirlendi. Buna ek olarak 0,1 mM konsantrasyonda kalsiyum ve nikel bulunan ortamlarda da siyanür biyoyıkımının %70'in üzerinde olduğu gözlemlendi (Şekil 4.29 ve Şekil 4.30).



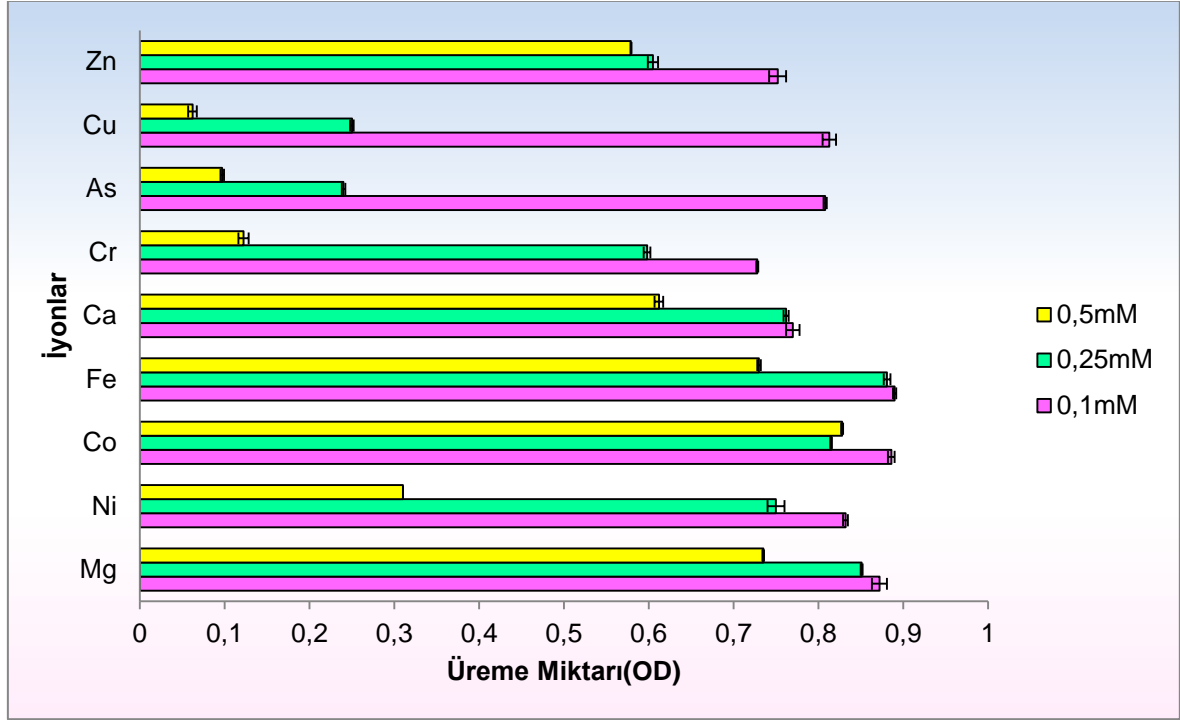
(Mg: Magnezyum, Ni: Nikel, Co: Kobalt, Fe: Demir, Ca: Kalsiyum, Cr: Krom, As: Arsenik, Cu: Bakır, Zn: Çinko)

Şekil 4.29. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımına etkisi.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

K. oxytoca türünün ise magnezyum ve kalsiyumun değişen konsantrasyonlarında siyanür biyoyıkımını %90'ın üzerinde gerçekleştirdiği buna paralel olarak da *K. oxytoca*'nın üreme miktarlarında büyük oranda düşüş olmadığı gözlemlendi. 0,1 mM nikel, kobalt, demir ve krom içeren ortamlarda siyanür biyoyıkımının %80'in üzerinde olduğu, 0,1 mM arsenik, bakır ve çinko içeren ortamlarda ise siyanür biyoyıkımının %70'in üzerinde olduğu görüldü. Buna ek olarak nikel, kobalt, demir, krom, arsenik, bakır ve çinkonun 0,5 mM konsantrasyonlarını içeren ortamlarda *K. oxytoca*'nın üreme miktarında düşüş olduğu ve buna bağlı olarak da siyanür biyoyıkımlarında azalma olduğu görüldü (Şekil 4.31 ve Şekil 4.32). Söz konusu

siyanür biyoyıkımındaki azalmanın üremenin azalması sonucu olmasına ilave olarak, siyanür biyoyıkımında görevli olan enzimlerin artan konsantrasyonlardaki iyonlarla inhibe olması sonucunda da gerçekleşmiş olabileceği düşünöldü. Artan iyon konsantrasyonlarında üremedeki azalmaya bağılı olarak siyanür biyoyıkımı da azaldığı belirlendi (Şekil 4.31 ve Şekil 4.32).



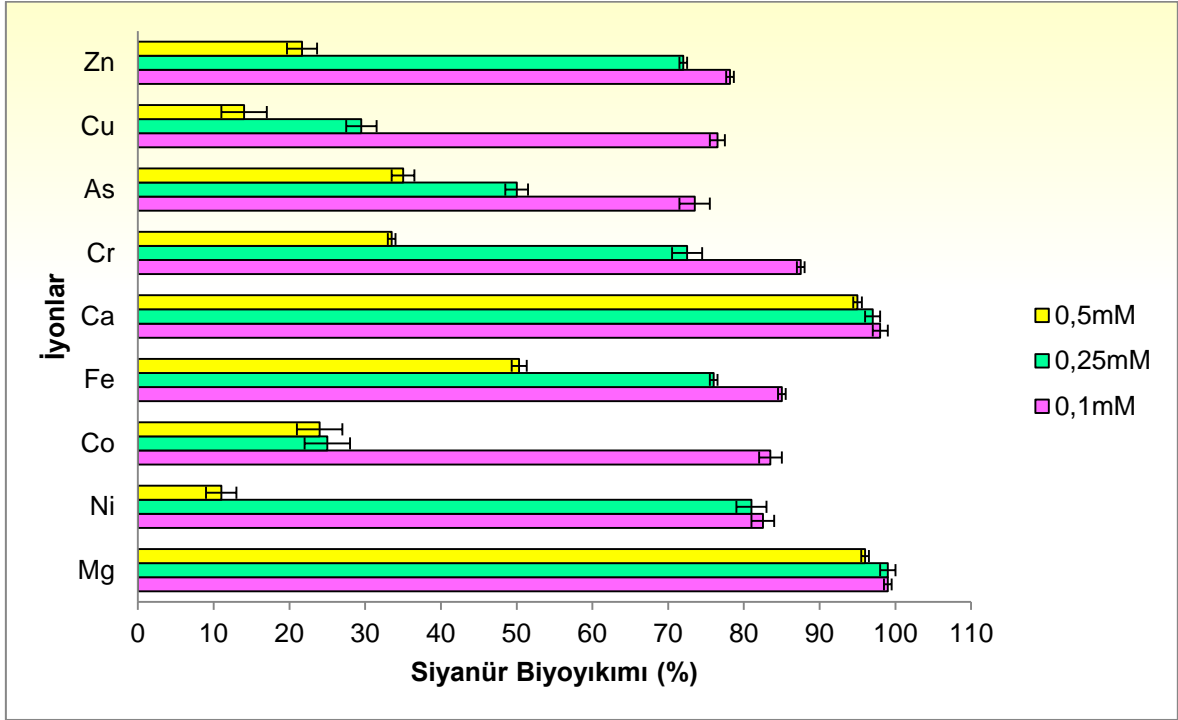
(Mg: Magnezyum, Ni: Nikel, Co: Kobalt, Fe: Demir, Ca: Kalsiyum, Cr: Krom, As: Arsenik, Cu: Bakır, Zn: Çinko)

Şekil 4.30. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların varlığında *K. pneumoniae*'nin üreme miktarları.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü beiyerinde, 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Literatürde, çalışmamızla benzer olarak siyanür biyoyıkım ortamında bulunan iyonların biyoyıkım miktarına etki edebileceği belirtilmektedir. *Burkholderia cepacia* ile yapılan bir çalışmada söz konusu suşun 1 mM bakır ve demir iyonlarını içeren ortamda üreme ve siyanür biyoyıkımının inhibe olduğu görölmüştür. Nikel, kobalt, mangan ve molibtan bulunan ortamlarda ise siyanür biyoyıkımının konsantrasyona bağılı olduğu belirtilmiştir [20]. Karışık bakteri konsorsiyumunun kullanılarak siyanür biyoyıkımının araştırıldığı farklı bir çalışmada bakır, nikel ve çinko iyonları varlığının siyanür biyoyıkımını etkilemediği fakat siyanür biyoyıkımını kurşun ve

kadmiyumun %20 oranında, demirin ise %30-35 oranında inhibe ettiği gözlenmiştir [4]. Karışık bakteri konsorsiyumunun kullanıldığı diğer bir çalışmada ise bakır ve kalsiyumun üremeyi ve siyanür biyoyıkımını etkilediği, magnezyum ve manganın ise üremeyi etkilediği ancak siyanür biyoyıkımını etkilemediği saptanmıştır [57].

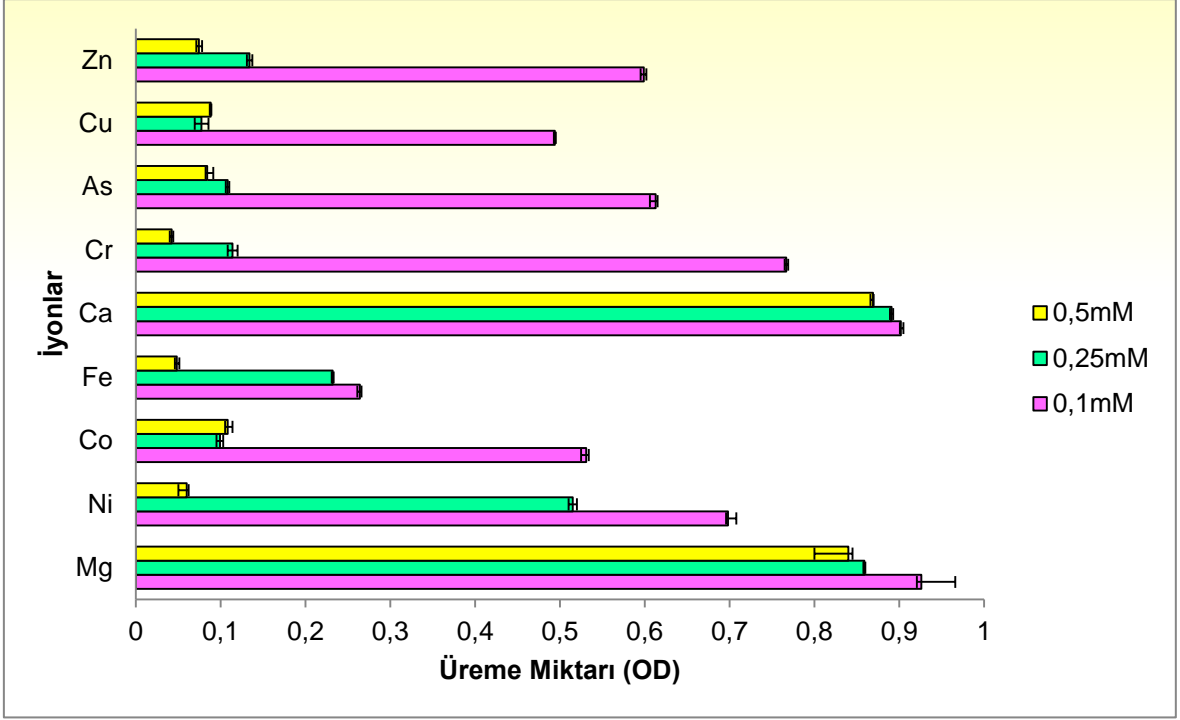


(Mg: Magnezyum, Ni: Nikel, Co: Kobalt, Fe: Demir, Ca: Kalsiyum, Cr: Krom, As: Arsenik, Cu: Bakır, Zn: Çinko)

Şekil 4.31. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımına etkisi.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde, 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Klebsiella türlerinin iyon varlığındaki siyanür biyoyıkımları incelendiğinde her iki türün de iyon konsantrasyonuna bağlı olarak siyanür biyoyıkımlarında değişen oranlarda azalma olduğu belirlendi. Buna karşın, *K. oxytoca* türünün tüm iyon konsantrasyonlarında, *K. pneumoniae*'nin ise 0,5 mM bakır dışındaki tüm iyon konsantrasyonlarında siyanür biyoyıkımını gerçekleştiriyor olmaları, her iki türün de farklı iyonlarla kontamine olan ve siyanür içeren ortamlardaki siyanür biyoyıkım çalışmalarında kullanılabileceklerini göstermektedir.



(Mg: Magnezyum, Ni: Nikel, Co: Kobalt, Fe: Demir, Ca: Kalsiyum, Cr: Krom, As: Arsenik, Cu: Bakır, Zn: Çinko)

Şekil 4.32. Farklı konsantrasyonlardaki iyonların varlığında *K. oxytoca*'nın üreme miktarları.

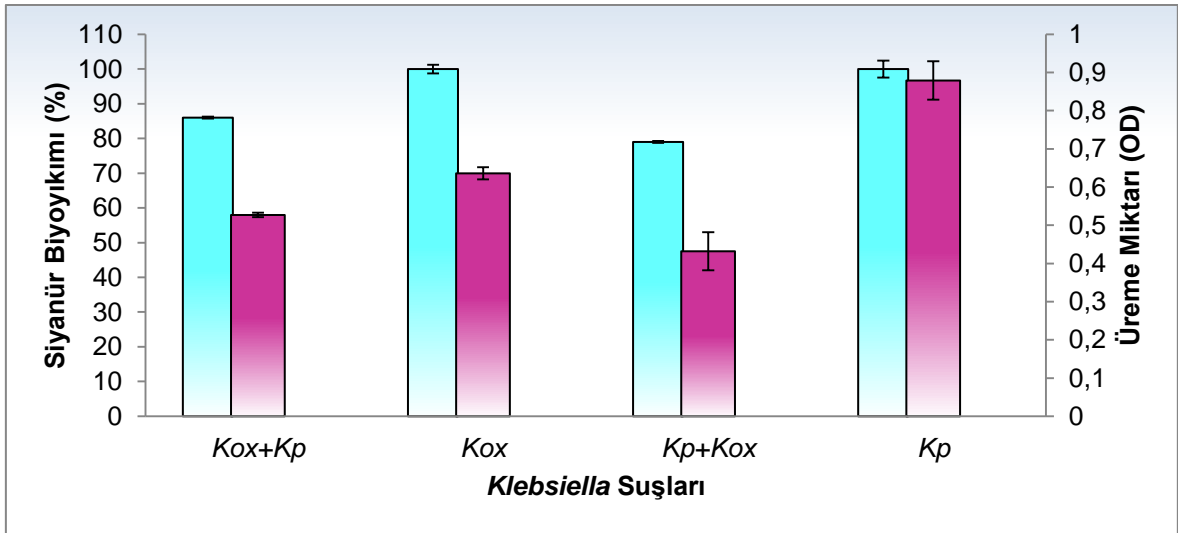
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü beiyerinde, 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

4.5. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Karışık Kültürünün Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Ağır metal içeren siyanürlü atıkların içerdikleri siyanür miktarları atık ortamına verilen karışık bakteri popülasyonları ile azaltılabilmektedir [3]. Söz konusu mikroorganizmalar arasındaki ilişkilerden yararlanılarak gerçekleştirilen siyanür biyoyıkımı sonucunda ortamdaki siyanürün karbondioksit ve amonyağa kadar yıkıldığı gözlenmiştir [57]. Bu bağlamda, iki veya daha fazla bakteriyal suşun biraraya getirilmesi ile oluşturulan karışık kültürler siyanür biyoyıkım oranları açısından değerlendirilerek, en etkin kültürlerin seçilmesi, siyanür biyoyıkımının verimi için önemlidir.

K. pneumoniae ve *K. oxytoca* suşlarının karışık kültürlerinin siyanür biyoyıkımına etkisinin belirlenmesi amacıyla siyanürlü besiyerine 1:1 (v:v) oranında *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarından oluşan karışık kültür ekildi. Türlerin tek

başlarına yaptıkları siyanür biyoyıkımıyla karşılaştırarak yorumlamanın yapılabilmesi için *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları da siyanürlü besiyerine ayrı ayrı ekilerek, *K. pneumoniae* ve *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültürleri 25°C’de, 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* – *K. pneumoniae* kültürleri ise 30°C’de, 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. İnkübasyon sürecinin ardından siyanür biyoyıkım yüzdeleri, üreme ve amonyak miktarları ölçüldü. Karışık kültürlerin *Klebsiella* türlerinin kültür ortamında tek başlarınayken ulaştıkları üreme miktarından daha az oranda üredikleri, buna bağlı olarak da tek başlarına yapmış oldukları siyanür biyoyıkımından daha az oranda siyanürü biyoyıkımı yapabildikleri belirlendi (Şekil 4.33). Karışık kültürlerin kullanıldığı ortamda oluşan amonyak miktarının da *Klebsiella* türlerinin tek başlarına buldukları ortama göre siyanür biyoyıkımındaki azalmaya bağlı olarak azaldığı belirlendi (Şekil 4.34).

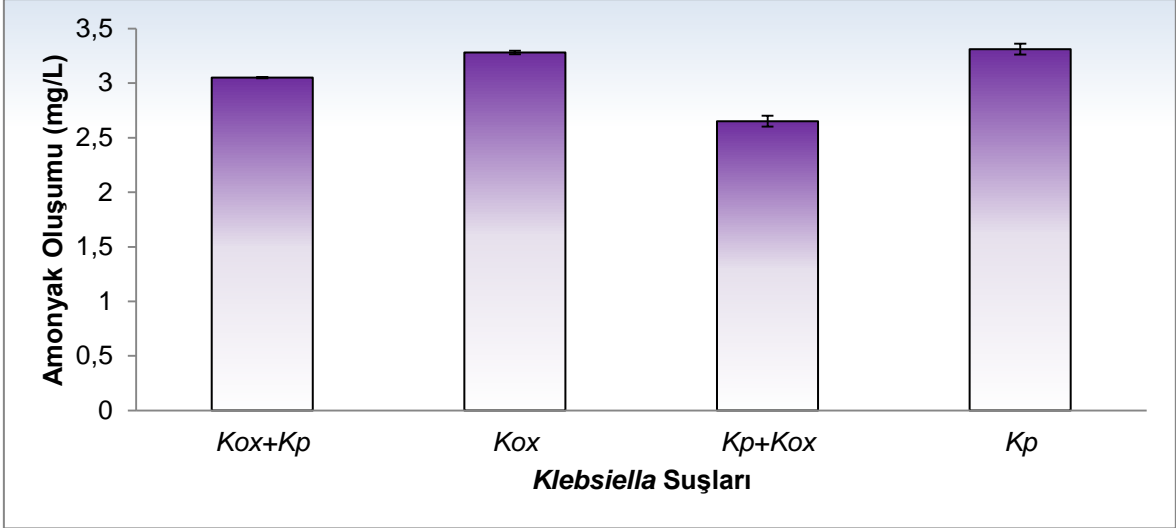


(Kox + Kp: *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* karışık kültürü, Kox: *K. oxytoca*, Kp+Kox: *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürü, Kp: *K. pneumoniae*)

Şekil 4.33. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürü ile siyanür biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

**K. pneumoniae* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültürlerinin üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 25°C’de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* kültürlerinin üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 30°C’de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



(Kox+Kp: *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* karışık kültürü, Kox: *K. oxytoca*, Kp+Kox: *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürü, Kp: *K. pneumoniae*)

Şekil 4.34. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürü ile siyanür biyoyıkımı sonucu oluşan amonyak miktarları.

**K. pneumoniae* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültürlerinin üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. oxytoca*- *K. pneumoniae* kültürlerinin üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 30°C'de, 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmamızda mikroorganizmalar arasındaki antagonistik ilişkiye benzer olarak, atık sulardan izole edilmiş olan mikroorganizmaların kullanıldığı bir çalışmada, tek başına %86 oranında biyoyıkım yapabilen bir bakteriyal suşun, 5 farklı bakteri suşuyla oluşturduğu konsorsiyumla %67 oranında yıkım yaptığı belirtilmiştir [55]. Literatürde karışık kültürlerin siyanür biyoyıkımındaki göstermiş oldukları sinerjetik etki antogonistik etkiye kıyasla daha çok saptanmıştır. Örneğin, topraktan izole edilmiş olan *Citrobacter sp.* MCM B-181, *Pseudomonas sp.* MCM B-182, *Pseudomonas sp.* MCM B-183 ve *Pseudomonas sp.* MCM B-184'ün tek başlarına sırasıyla %92,5, %88,4, %73,2 ve %68,8 oranında siyanür biyoyıkımı yaptıkları fakat bir arada ve reaktör ortamında bulduklarında %99'un üzerinde biyoyıkım yaptıkları görülmüştür [4]. Yapılan bir diğer çalışmada, CY1 (*Bacillus sp.*), CY2 (*Klebsiella sp.*), CY3 (*Pseudomonas sp.*), CY4 (*Pseudomonas sp.*) suşlarının tek başlarına yaptıkları siyanür biyoyıkımı, konsorsiyum oluşturduklarında yaptıkları siyanür biyoyıkımları ile karşılaştırıldığında bakteriyal konsorsiyumun yaptığı siyanür biyoyıkımının çok daha fazla olduğu belirtilmiştir (%98,21) [57]. Bir diğer

çalışmada ise, *B. subtilis* ve *P. stutzeri* suşlarının tek başlarına sırasıyla %66,9 ve %72 oranında biyoyıkım yaptıkları, bir arada olduklarında ise biyoyıkımın %88,5'e çıktığı belirtilmektedir [48]. Dolayısıyla, literatürdeki çalışmalar göz önüne alınarak siyanür biyoyıkım süreçlerinde mikroorganizmalar arasındaki sinerjetik ve antagonistik ilişkilerden söz etmek mümkündür.

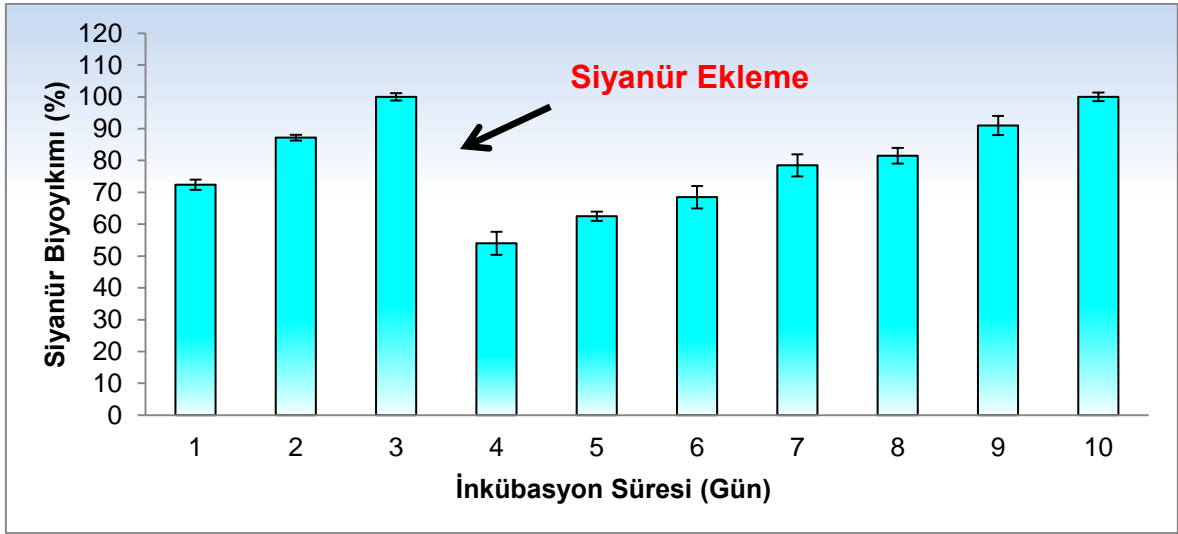
Çalışmamızda sonuç olarak her iki türünün biraraya geldiklerinde birbirlerine karşı gösterdikleri antagonistik etkiler sonucunda tek başlarına yapmış oldukları siyanür biyoyıkımının azaldığı, bu nedenle de siyanür biyoyıkım süreçlerinde potasyum siyanürlü besiyeri ortamında ve laboratuvar şartlarında tek başlarına kullanılmalarının daha avantajlı olduğu saptandı.

4.6. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkım Ortamına Tekrar Siyanür Kaynağı Eklenmesinin Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Siyanür biyoyıkımının etkin bir şekilde gerçekleştirilmesi mikroorganizmanın biyoyıkım yapabileceği uygun fizyolojik koşulların sağlanmasıyla ve biyoyıkım ortamının bileşenleriyle doğrudan ilişkili olduğu bilinmektedir [45]. Siyanür gideriminde bir mikroorganizmanın avantajlı olarak kullanılabilmesi için atık olarak sürekli ortama ilave edilen siyanür kaynakları varlığında da uzun süre etkin biyoyıkım gerçekleştirebilmesi gerekir.

Çalışmamızın bu aşamasında biyoyıkım ortamına tekrar potasyum siyanür eklenmesinin, siyanür biyoyıkımına etkisinin belirlenmesi amacıyla temel besiyerinde potasyum siyanür biyoyıkımının %100 oranında gerçekleştiği kültür ortamına başlangıç konsantrasyonunda (0,5 mM) potasyum siyanür ilave edildi. *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün üretildi. 24 saatte bir üretim ortamlarından örnek alınarak siyanür biyoyıkım yüzdeleri belirlendi. Söz konusu ortamlardaki ilave siyanür kaynağının tamamen biyoyıkıma uğratılmasının *K. pneumoniae* suşu ile 10. günün sonunda, *K. oxytoca* suşu ile ise 11. günün sonunda gerçekleştiği belirlendi (Şekil 4.35 ve Şekil 4.36). *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının kültür ortamlarına ilave edilen siyanürü, siyanür ilavesini takiben ilk günün sonunda %50'nin üzerinde biyoyıkıma uğrattıkları saptandı. Oysa ki *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türlerinin

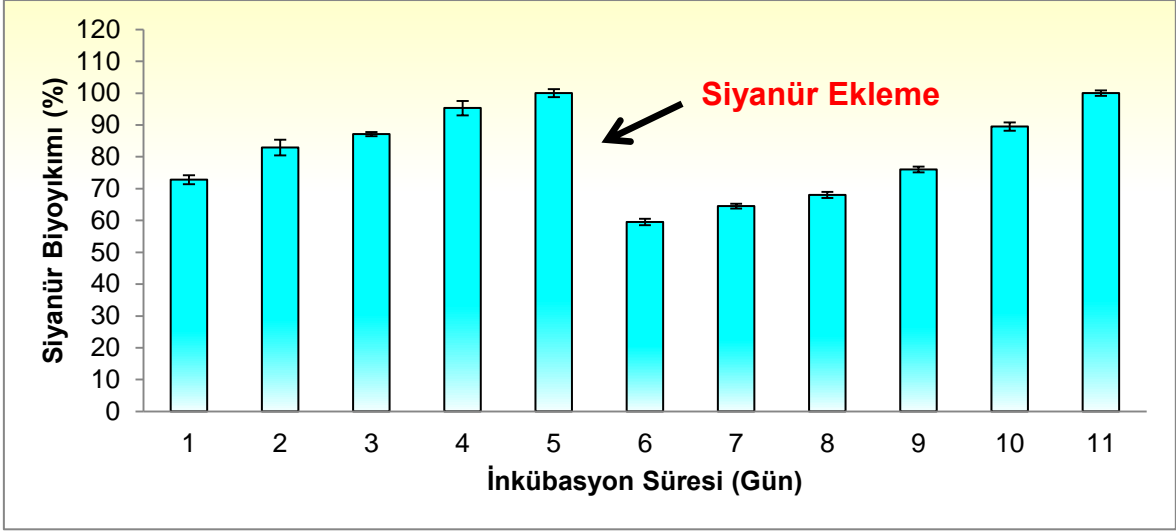
biyoyıkım ortamlarında bulunan siyanürü, siyanürlü ortama ekildikleri ilk günün sonunda %70'in üzerinde yıktıkları göz önüne alındığında (Şekil 4.5 ve Şekil 4.7), bu durumun biyoyıkım ortamında bir önceki biyoyıkım süreci sonucunda birikmiş olan amonyak ve diğer olası ürünlerden kaynaklanabileceği düşünüldü. Bu bağlamda amonyağın mikroorganizmalar üzerinde toksik etki yaratabileceği ve siyanür biyoyıkımında sentezlenen enzimlere de etki ederek son ürün inhibisyonu oluşturabileceği sonucuna varıldı. Literatürde, biyoyıkım ortamında amonyak varlığının mikroorganizmaların siyanür biyoyıkımını etkilediği ve mikroorganizmaların siyanür yerine azot kaynağı olarak öncelikle amonyağı kullanmaya yöneldiklerine dikkat çekilmektedir [60]. Buna ek olarak, çalışmamızda siyanür ilavesinden önce biyoyıkım ortamında bulunan glukozun siyanür biyoyıkım sürecinde mikrobiyal üreme için kullanıldığı ve ilave siyanür eklenmesi esnasında ortamda karbon kaynağının bitmesi ve/veya azalması sonucunda da siyanür biyoyıkımının yavaşladığı sonucuna varıldı.



Şekil 4.35. *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımında tekrar siyanür kaynağı eklenmesinin siyanür biyoyıkımına etkisi.

*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Sonuç olarak, *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkım süreçlerinde tekrar siyanür ilavesi yapılan ortamlarda da kullanılabilirliği fakat bu ortamlarda siyanür biyoyıkımı sonucunda oluşan ürünlerin birikimi ve ortamda azalan besin maddeleri nedeniyle biyoyıkım sürecinde uzama olacağı belirlendi.



Şekil 4.36. *K. oxytoca* ile siyanür biyoyıkımında tekrar siyanür kaynağı eklenmesinin siyanür biyoyıkımına etkisi.

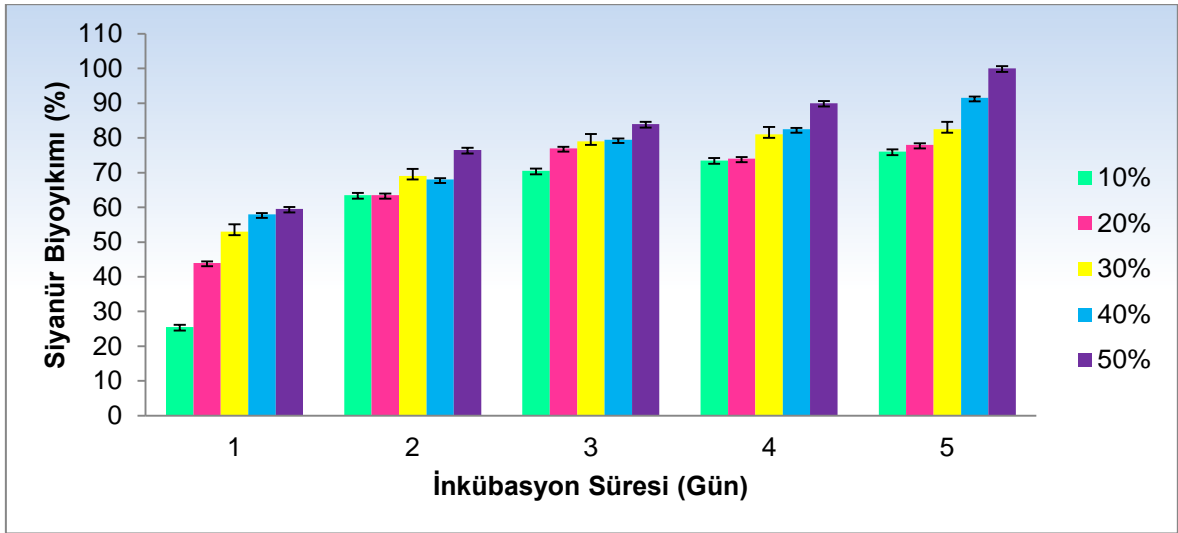
*Suşların üretimi potasyum siyanürlü besiyerinde 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

4.7. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültür Süpernatanlarının Siyanür Biyoyıkımına Etkisinin Araştırılması

Mikroorganizmalar sahip oldukları intraselüler ve ekstraselüler enzimleri aracılığıyla buldukları ortamlarda yer alan organik bileşikleri biyoyıkıma uğratarak, çeşitli son ürünler oluşturmaktadırlar. Mikroorganizmaların biyoyıkım ortamlarında üretilmelerine alternatif olarak söz konusu ortamlara sadece kültür süpernatanlarının eklenmesi ile bu süpernatanlarda bulunan enzimleri kullanılarak da biyoyıkım gerçekleştirilebilmektedirler. Kültür süpernatanlarının kullanımıyla mikroorganizmaların üremesi için gerekli olan besin kaynaklarının biyoyıkım ortamına ilave edilmesine ve biyoyıkım sonucunda ortamda üremiş halde bulunan biyokatalizörün ortamdaki uzaklaştırılmasına gereksinim duyulmadan süreç tamamlanmış olmaktadır. Bu bağlamda çalışmamızda *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının steril kültür süpernatanlarının siyanür biyoyıkımlarındaki etkinlikleri incelendi.

K. pneumoniae ve *K. oxytoca* suşlarına ait farklı konsantrasyonlardaki (%10, %20, %30, %40 ve %50) steril kültür süpernatanları siyanürlü besiyerine ayrı ayrı ilave

edilerek, *K. pneumoniae* kültür süpernatanı 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde, *K. oxytoca* kültür süpernatanı ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde inkübe edildi. 24 saatte bir biyoyıkım ortamlarından örnek alınarak *Klebsiella* suşlarının siyanür biyoyıkım yüzdeleri belirlendi. Siyanür biyoyıkım ortamlarına %50 konsantrasyonda ilave edilen *K. pneumoniae* kültür süpernatanının 3. günün sonunda, *K. oxytoca* kültür süpernatanının ise 2. günün sonunda %80'in üzerinde siyanür biyoyıkımı yaptığı saptandı. Biyoyıkım ortamlarındaki siyanürün tamamen biyoyıkıma uğratılmasının ise %50 konsantrasyondaki kültür süpernatanlarının kullanımı sonucunda *K. pneumoniae* ile 5. günün sonunda, *K. oxytoca* ile ise 4. günün sonunda gerçekleştiği gözlemlendi (Şekil 4.37 ve Şekil 4.38).

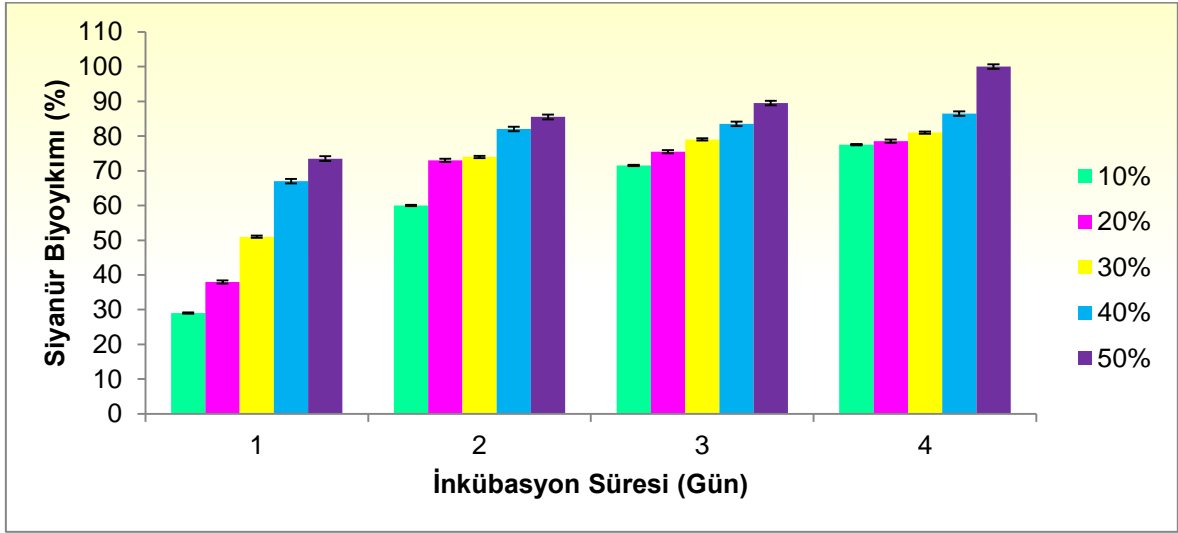


Şekil 4.37. Farklı konsantrasyonlardaki *K. pneumoniae*'nin steril kültür süpernatanları ile siyanür biyoyıkımının inkübasyon süresine göre değişimi.

* İnkübasyon 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Klebsiella türleri ile siyanür biyoyıkımında kültür ve kültür süpernatanları karşılaştırıldığında, *K. pneumoniae* suşunun kültürü ile 3. günün sonunda gerçekleşen biyoyıkımın, kültür süpernatanı kullanıldığında ise 5. günün sonunda gerçekleştiği gözlemlendi (Şekil 4.5 ve Şekil 4.37). Bu bağlamda, kültür süpernatanında bulunan ve siyanür biyoyıkımı sonucu oluşan amonyak vb. son ürünlerin *K. pneumoniae* ile siyanür biyoyıkımında kullanılan enzimler üzerinde inhibitörük etki yarattığı, buna bağlı olarak da biyoyıkım sürecinde uzama olduğu

sonucuna varıldı. Kültür ve kültür süpernatanlarının siyanür biyoyıkımındaki etkisi *K. oxytoca* türü açısından değerlendirildiğinde ise, kültür kullanımı ile 5. günün sonunda gerekleŖen siyanür biyoyıkımının, kültür süpernatanı kullanımı ile ise 4. günün sonunda gerekleŖtięi saptandı (Ŗekil 4.7 ve Ŗekil 4.38). Bu bağlamda *K. oxytoca* kültür spernatanında bulunan enzimlerin *K. pneumoniae* kültür spernatanında bulunan enzimlere kıyasla siyanür biyoyıkım ürünlerine daha dayanıklı olduğu ve ortamda hazır enzim bulunması sonucunda da siyanür biyoyıkımının daha kısa sürede gerekleŖtięi belirlendi.



Ŗekil 4.38. Farklı konsantrasyonlardaki *K. oxytoca*'nın steril kültür süpernatanları ile siyanür biyoyıkımının inkübasyon süresine göre deęiŖimi.

* İnkübasyon 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde gerekleŖtirildi.
Sonnlar  alıŖmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

alıŖmamızda kültür süpernatanlarının siyanür biyoyıkımında etkin olması ortamda bulunan siyanür biyoyıkımından sorumlu ekstraselüler enzimlerin varlığı ile açıklanabilir. Mikrobiyal canlıların kullanıldığı siyanür biyoyıkım süreçlerinde eŖitli enzimlerin etkin olduğu oksidatif, redüktif, hidrolitik ve yer deęiŖtirme reaksiyonlarının yer aldığı siyanür biyoyıkım yolları bulunmaktadır [31]. Bu bağlamda literatürde, *Pseudomonas sp.* ve *Pseudomonas fluorescens*'te siyanür oksijenaz'ın, *Bacillus cereus* ve *Bacillus pumilus*'ta siyanaz'ın, *Rhodococcus rhodochrous* ve *Escherichia coli*'de siyanür dioksijenaz'ın, bazı patojenik funguslar, *Pseudomonas sp.* ve *Chromobacterium sp.*'de siyanür hidrataz'ın, *Alcaligenes xylosoxidans*'ta nitril hidrataz'ın, *Klebsiella ozanae* ve *Arthrobacter*

sp.'de siyanidaz'ın (siyanür dihidrataz), *P. aeruginosa*'da nitrilaz'ın, *Thiobacillus denitrificans*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus stearothermophilus*'ta rodonaz'ın ve son olarak da *Bacillus megaterium*'da siyanoalanin sentaz'ın siyanür biyoyıkımında etkin oldukları belirtilmektedir [92]. Literatürde siyanür biyoyıkımından sorumlu enzimlerden sadece siyanür dioksijenaz, siyanür dihidrataz ve nitrilazın siyanürü biyoyıkıma uğratarak amonyak oluşturdukları ve söz konusu enzimlerin kültür süpernatantlarından izole edilebildikleri belirtilmektedir [92]. Bu bağlamda, çalışmamızda kullanılan *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca*'nın kültür süpernatantlarının siyanür biyoyıkımında etkin olduğu göz önüne alınarak, *Klebsiella* türlerinde siyanür biyoyıkımında görev alan ekstraselüler enzimlerden söz edilebilir.

Literatürde, *Klebsiella ozanae* türünden siyanür dihidrataz enzimi izole edildiği belirtilmektedir [92]. Bunun yanı sıra, *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımında kullandıkları en etkin enzimin anaerobik koşullarda aktivite gösteren nitrogenaz olduğu ve bu enzimin aerobik ortamda *Klebsiella* suşlarının üreyerek, ortamdaki oksijeni tüketmesi sonucunda çalışabildiği belirtilmektedir. Başka bir çalışmada bir önceki çalışmayı destekler nitelikte *K. oxytoca*'nın sadece bakteriyal hücrelerin varlığında siyanür biyoyıkımını yapabildiği, hücrelerin parçalandığı durumda ortamda üreme olmamasına bağlı olarak oksijenin tüketilmediği ve oksijenin nitrogenazı inhibe etmesi sonucunda siyanür biyoyıkımının gerçekleşmediği belirtilmektedir [6]. Söz konusu iki enzim dışında literatürde *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımında görev alan başka enzimlerinin varlığına dair bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Siyanürün biyoyıkımında kullanılan mikroorganizmanın ekstraselüler enzimler aracılığıyla siyanür biyoyıkımını gerçekleştiriyor olması, söz konusu mikroorganizmanın enzimlerinin siyanür biyoyıkım süreçlerinde kullanılabilirliği açısından önem taşımaktadır. Bu bağlamda çalışmamızda kullanılan her iki *Klebsiella* türünün de kültür süpernatantları ile de siyanür biyoyıkımını gerçekleştirebilmeleri avantajlıdır. Söz konusu suşların kültür süpernatantlarının siyanür biyoyıkımında bu denli aktif olması gelecek çalışmalarda enzimlerinin saflaştırılması ve immobilize sistemler oluşturulması ile siyanür biyoyıkım süreçlerinde kullanılabileceklerine işaret etmektedir.

4.8. Hazırlanan Atık Su ve Toprak Örneklerinde *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Türleri ile Siyanür Biyoyıkımının Araştırılması

Çeşitli endüstriyel süreçlerde kullanılmakta olan farklı siyanür türevlerinin, endüstriyel üretim sonucunda oluşan atıklar içerisinde de yer aldıkları bilinmektedir. Siyanürlü atık oluşturan endüstriler arasında madencilik, mineral işleme, boya ve sentetik fiber üretimi, tarımsal ürünlerin işlenmesi, metal tel ekstraksiyonu, fotoğrafçılık, organik kimyasalların ve çeliğin üretimi, metal kaplama, alüminyum elektrolizi, kömürün işlenmesi, farmasötik sanayi, plastik üretimi, elektro-kaplama, herbisit ve insektisit üretimi, akrilik fiber üretimi, korozyon inhibisyonu, dericilik, gübre, fare ve böcek ilaçlarının üretimi, metalürji sanayi ve petrol rafinasyonu gibi sanayi kolları bulunmaktadır [3, 6, 10, 20, 36, 41, 50]. Dolayısıyla çeşitli endüstrilerden gelen siyanürün biyoyıkımında farklı biyolojik sistemlerin etkinliklerinin araştırılması ve bu endüstrilere uygun mikroorganizmaların seçimi gerekmektedir. Siyanür biyoyıkımında kullanılacak etkin suşların sadece laboratuvar ortamında değil, doğal süreçler içerisinde de siyanür biyoyıkımını gerçekleştirebiliyor olmaları büyük ölçekte kullanılabilirlikleri açısından önem taşımaktadır.

4.8.1. Atık Sulardaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Biyoyıkımının Araştırılması

Endüstriyel atıkların içerisinde yer alan bazı bileşikler, inhibitör etkileriyle mikroorganizmanın biyoyıkım yeteneğinin gizlenmesine ve atık arıtımının sekteye uğramasına neden olmaktadır [25]. Bu bağlamda çalışmamızda daha önce Bölüm 4.4'te belirtildiği gibi siyanürlü atıkların bulunduğu ortamlarda yer alabilecek bazı iyonların varlığında *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türlerinin siyanür biyoyıkımları incelendi. Söz konusu suşların incelenen iyonların varlığında da siyanür biyoyıkımını etkin şekilde gerçekleştirdikleri saptanmıştı (Şekil 4.29 ve Şekil 4.31). Bu bölümde ise hazırlanan çeşitli atık su örneklerindeki siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşları ve bu suşların karışık kültürleri ile biyoyıkımı araştırıldı. Atık su örnekleri laboratuvar ortamında steril olarak hazırlandı. Ancak doğada steril olmayan şartlar altında da mikrobiyal siyanür biyoyıkımının gerçekleştirildiği göz önüne alınarak çalışmamızın bu aşamasında *Klebsiella* türleri ile siyanür biyoyıkımı steril ve steril olmayan atık su ortamlarında incelendi. *Klebsiella*

türlerinin kültürlerine ek olarak kültür süpernatantlarının da hazırlanan atık su ortamlarında siyanür biyoyıkım oranları incelendi.

4.8.1.1. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması

Zengin kimyasal içeriğe sahip olan atık su ortamlarında siyanür biyoyıkımı yapabilecek olan mikroorganizmaların, söz konusu kimyasal bileşiklerin toksik etkisinden etkilenmeyerek üremeleri ve biyoyıkım için gerekli olan enzimlerini üretebilmeleri gerekmektedir. Üretilen bu enzimlerin atık su ortamlarında aktivite göstermeleri biyoyıkımın gerçekleştirilmesi açısından oldukça önem taşımaktadır.

Siyanür içeren endüstriyel atık sular arasından üretim miktarının fazla olmasına bağlı olarak çevreye bol miktarda atık su deşarj edilen sanayi kolları olan elektro-kaplama, metal-kaplama ve altın çıkarma madenciliği atık su içerikleri çalışmamızda kullanılmak üzere seçildi. **Elektro-kaplama** (mg/L olarak 1,2 kadmiyum, 0,6 kurşun, 7,0 krom, 4,5 bakır, 4,1 nikel, 4,2 çinko, 1,2 gümüş ve 5,0 siyanür), **Metal-kaplama sanayi** (mg/L olarak 0,69 kadmiyum, 2,77 krom, 3,38 bakır, 0,69 kurşun, 3,98 nikel, 2,61 çinko, 0,43 gümüş ve 1,2 siyanür), **Altın Çıkarma** (mg/L olarak 10,0 arsenik, 0,02 kadmiyum, 20,0 mangan, 0,05 civa, 10,0 nikel, 6,0 selenyum, 100,0 çinko, 0,1 krom, 400,0 bakır, 40,0 demir, 0,1 kurşun, 50,0 amonyak, 2000,0 tetrasiyanonikelat ve 1000,0 siyanür) atık suları laboratuvar ortamında hazırlandı [85]. Steril ve steril olmayan atık sulardaki siyanürün *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültürleri ile biyoyıkımı incelendi.

Hazırlanan atık sulara *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültürleri ayrı ayrı ekildi. *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültürleri ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. Üretim sürecinin tamamlanmasının ardından, kültür ortamındaki siyanür biyoyıkım yüzdeleri ve üreme miktarları belirlendi.

Elektro-kaplama sanayi, siyanürün sodyum ve potasyum tuzlarının üretim sürecinde kullanıldığı ve üretim sonucunda siyanürlü atıkların oluşturulduğu önemli bir sanayi kolu olarak karşımıza çıkmaktadır [93]. Çalışmamızda da siyanür

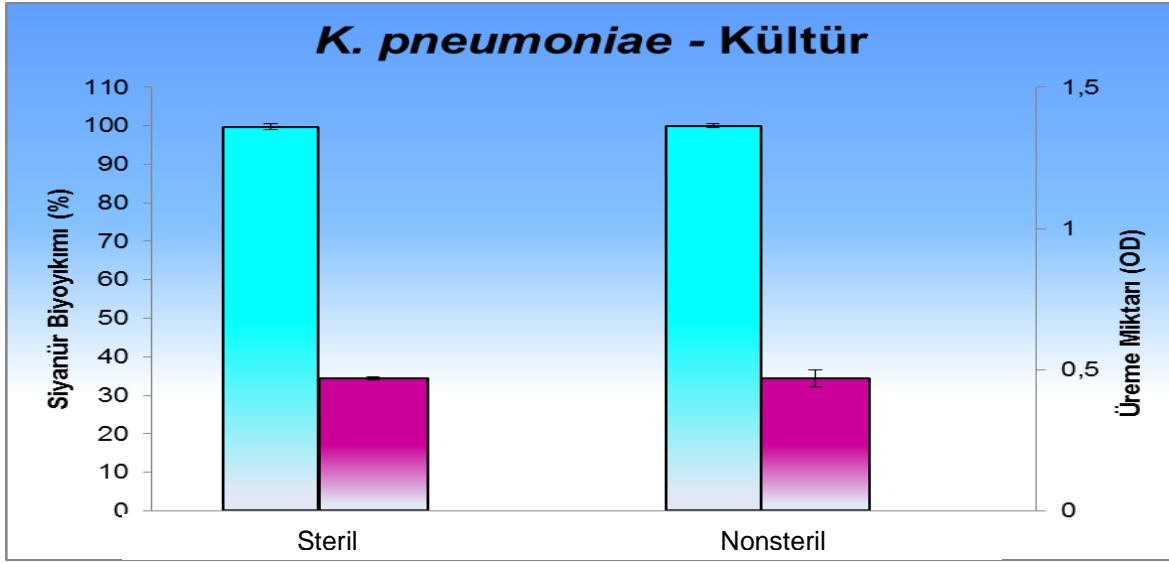
kaynağı olarak potasyum siyanürün kullanıldığı göz önüne alınarak, söz konusu siyanür kaynağını tamamen biyoyıkıma uğratabilen *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* suşlarının, pek çok iyonu da beraberinde içeren elektro-kaplama atık suyundaki siyanürü biyoyıkıma uğratma oranları araştırıldı.

Laboratuvar ortamında hazırlanan steril elektro-kaplama atık suyundaki siyanürü *K. pneumoniae* türünün %99, *K. oxytoca* türünün ise %100 oranında biyoyıkıma uğrattıkları belirlendi (Şekil 4.39 ve Şekil 4.40). Türlerin karışık kültürlerinin bulunduğu biyoyıkım ortamında ise üreme miktarının *K. oxytoca*'nın tek başına biyoyıkım yaptığı ortamdaki üreme miktarına kıyasla daha düşük olmasına rağmen siyanür biyoyıkımının %98 olduğu saptandı (Şekil 4.40 ve Şekil 4.41). Bu bağlamda siyanür biyoyıkımında görev alan enzimlerin karışık kültür ortamında da siyanür biyoyıkımını gerçekleştirebilecek miktarda olduğu belirlendi.

Steril olmayan elektro-kaplama sanayi atık suyunda siyanür biyoyıkımı incelendiğinde ise dış ortamdan atık su ortamına dahil olan mikroorganizmaların *K. oxytoca*'nın üreme miktarında azalmaya neden oldukları belirlendi (Şekil 4.40). Bu bağlamda söz konusu mikroorganizmaların *K. oxytoca*'nın üremesi üzerinde inhibe edici etki oluşturabileceği sonucuna varıldı. Ancak üreme miktarındaki azalmanın *K. oxytoca*'nın siyanür biyoyıkımını etkilemediği gözlemlendi. Karışık kültür ortamında ise dış ortamdan biyoyıkım ortamına dahil olan mikroorganizmalar nedeniyle üremenin arttığı ancak siyanür biyoyıkımında herhangi bir değişiklik olmadığı gözlemlendi (Şekil 4.41). Bu bağlamda, elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün biyoyıkımında *K. oxytoca*, *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* – *K. pneumoniae* karışık kültürlerinin aktif olarak kullanılabilecekleri belirlendi.

Çalışmamızla paralel olarak yapılan bir çalışmada siyanür biyoyıkımı incelenmiş ve atık sulardan izole edilen *P. montelii*'nin metal iyonlarını içeren atık su benzeri bir ortamda %93 oranında biyoyıkım yaptığı gözlenmiştir [93]. Çalışmamızdan farklı bir çalışmada ise, elektro-kaplama atık suyundan mikroorganizma izolasyonu yapılarak *Bacillus safensis*, *B. licheniformis* ve *B. tequilensis* suşlarının atık suda baskın türler oldukları bulunmuştur. Söz konusu suşlardan oluşan konsorsiyumun 200 ve 400 CN/L içeren ortamlarda sırasıyla %65,5 ve %44,3 oranında biyoyıkım yaptıkları belirlenmiştir [60]. Çalışmamızda kullanılan *Klebsiella* türlerinin elektro-kaplama sanayi atık suyunda siyanür biyoyıkımını birçok metalin varlığında ve

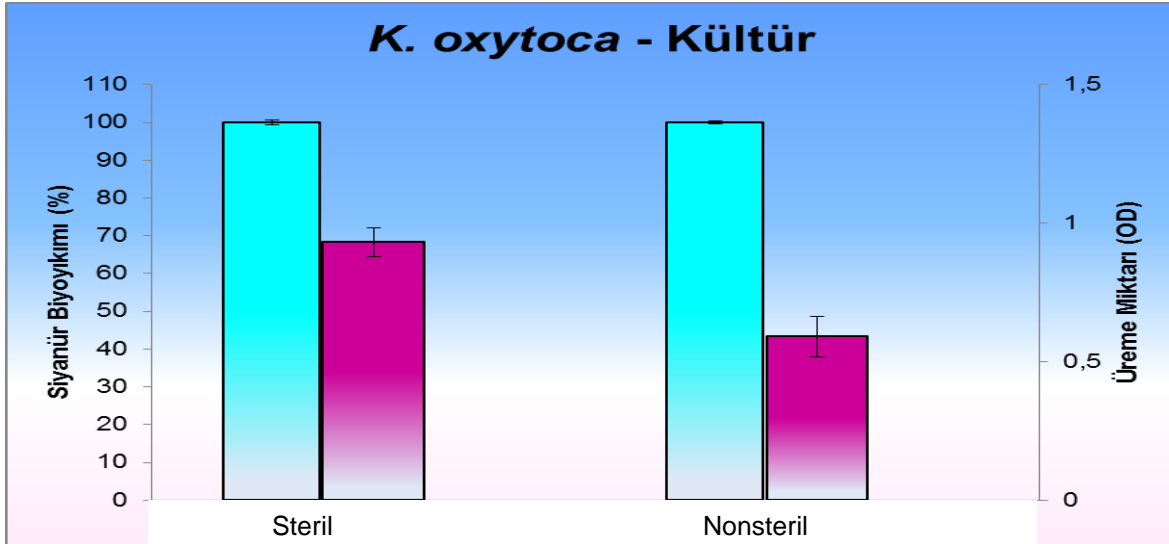
özellikle bu atık sulardan izole edilen suşlara göre yüksek oranda yapabiliyor olmaları biyoyıkım süreçlerinde kullanılabilirlikleri açısından önemlidir.



Şekil 4.39. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

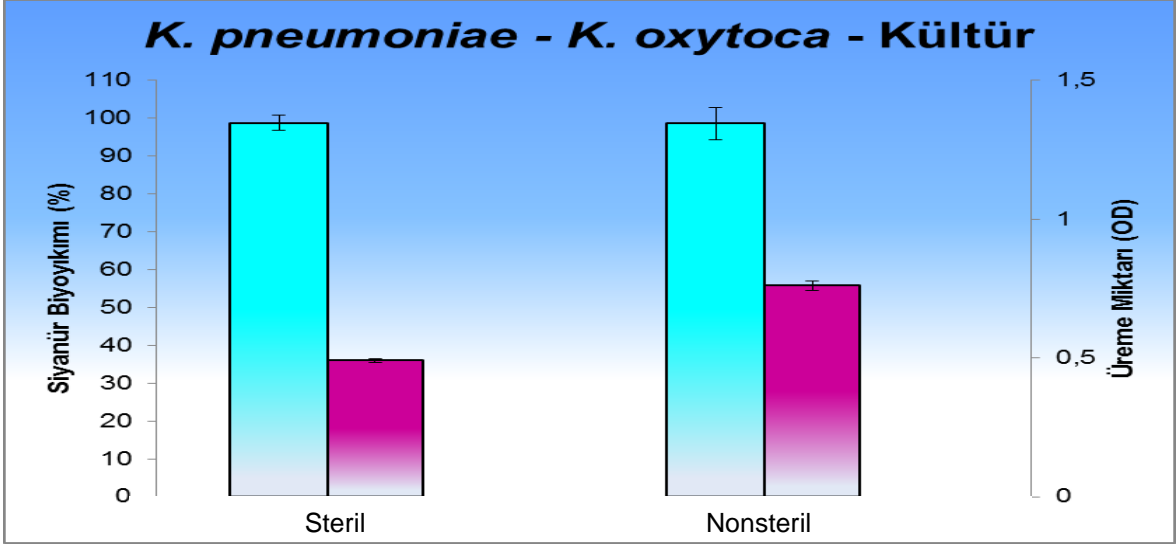
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.40. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. oxytoca* ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

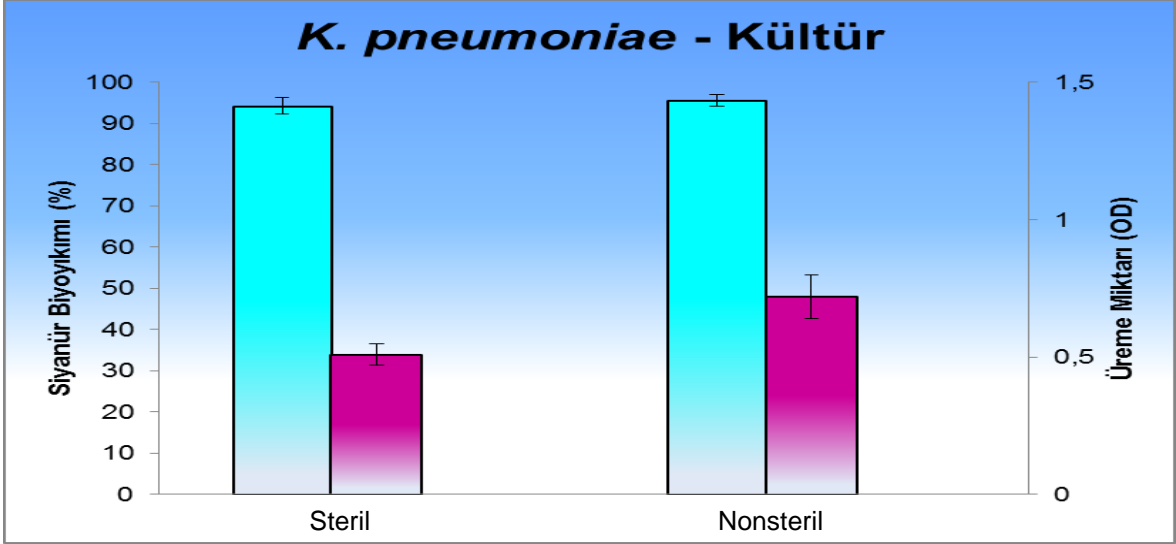


Şekil 4.41. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün koşullar altında *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürü ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

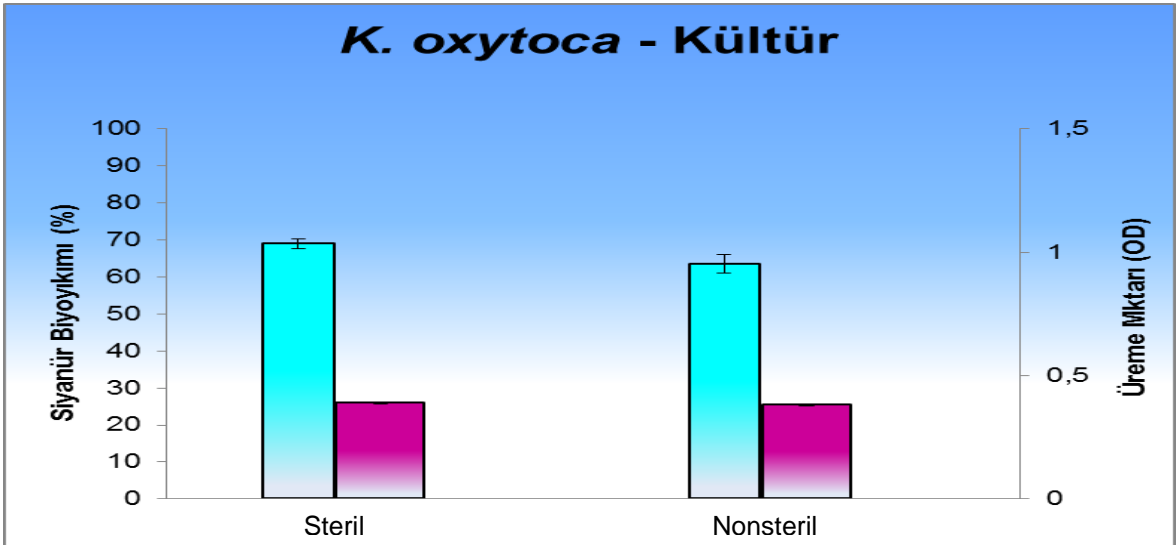
Metal kaplama sanayi ülkemizde Marmara Bölgesi'nde yaygın olarak üretim yapan önemli bir sanayi koludur. Dolayısıyla, üretim sonucunda oluşan siyanürlü bileşiklerin ön arıtımının yapıldıktan sonra çevreye verilmesi diğer sanayi kollarında olduğu gibi metal-kaplama sanayi için de önemli bir araştırma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu bağlamda çalışmamızda *Klebsiella* türleri ile metal kaplama sanayi atık suyundaki siyanürün biyoyıkımı araştırıldı. Steril metal-kaplama sanayi atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* türü ile %94 oranında, *K. oxytoca* türü ile ise %69 oranında biyoyıkıma uğratılabildiği belirlendi (Şekil 4.42 ve Şekil 4.43). *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültürünün kullanıldığı ortam da ise %95 oranında biyoyıkım olduğu saptandı (Şekil 4.44). Çalışmamızda *K. oxytoca*'nın siyanürü laboratuvar ortamında %100 oranında biyoyıkıma uğrattığı göz önüne alındığında *K. oxytoca*'nın metal-kaplama suyundaki siyanürü biyoyıkım oranının %69'a düşmesi bu ortamda bulunan iyonların mikroorganizmanın üremesi üzerinde inhibe edici etki yaratması ile açıklanabilir. Buna ek olarak söz konusu iyonların siyanür biyoyıkımında kullanılan enzimler üzerinde de inhibe edici etki yaratmış olabileceği öngörülmektedir.



Şekil 4.42. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

*Suşların üretimi 25°C'de, 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

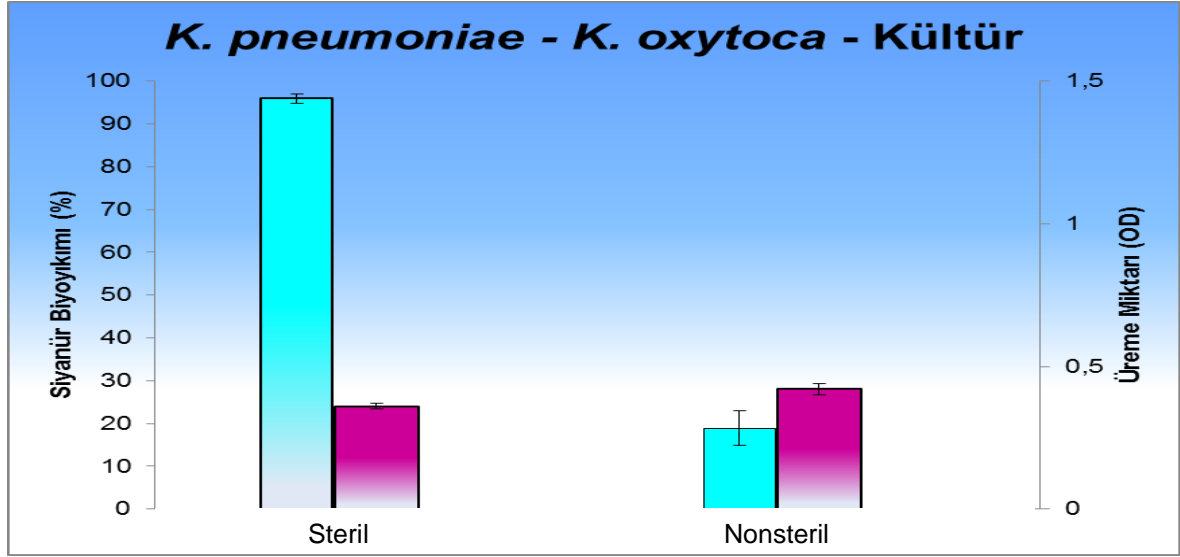


Şekil 4.43. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. oxytoca* ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Bu bağlamda çalışmamızda metal-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürleri kullanılarak biyoyıkıma uğratılabileceği saptandı.



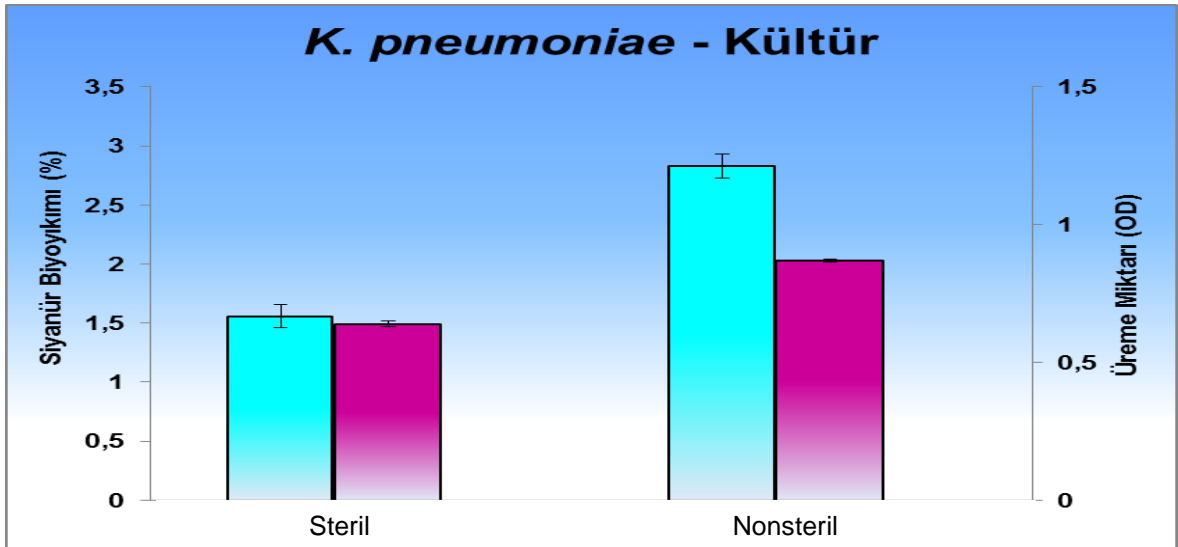
Şekil 4.44. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürü ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmamızda üçüncü atık su ortamı olarak altın çıkarma madenciliği atık suyu incelendi. Ülkemizde Ege, İç Anadolu ve Karadeniz Bölge'lerinde yüksek oranda üretim yapan söz konusu sanayi kolundan deşarj edilen atık suda bulunan siyanürün giderimi için siyanür biyoyıkımı yapabilen suşların belirlenmesi önem taşımaktadır [94]. Bu bağlamda yüksek oranda tetrasiyanonikelat (2000 mg/L) ve siyanür (1000 mg/L) içeren altın madenciliği atık suyundaki siyanürün *Klebsiella* türleri ile biyoyıkımı araştırıldı. Çalışmamızda kullanılan elektro-kaplama ve metal-kaplama atık sularından farklı olarak civa, amonyak, arsenik, mangan ve demir gibi ağır metalleri de beraberinde içeren altın madenciliği atık suyundaki siyanür biyoyıkımının diğer atık sulara kıyasla daha az olduğu belirlendi (Şekil 4.45, Şekil 4.46 ve Şekil 4.47).

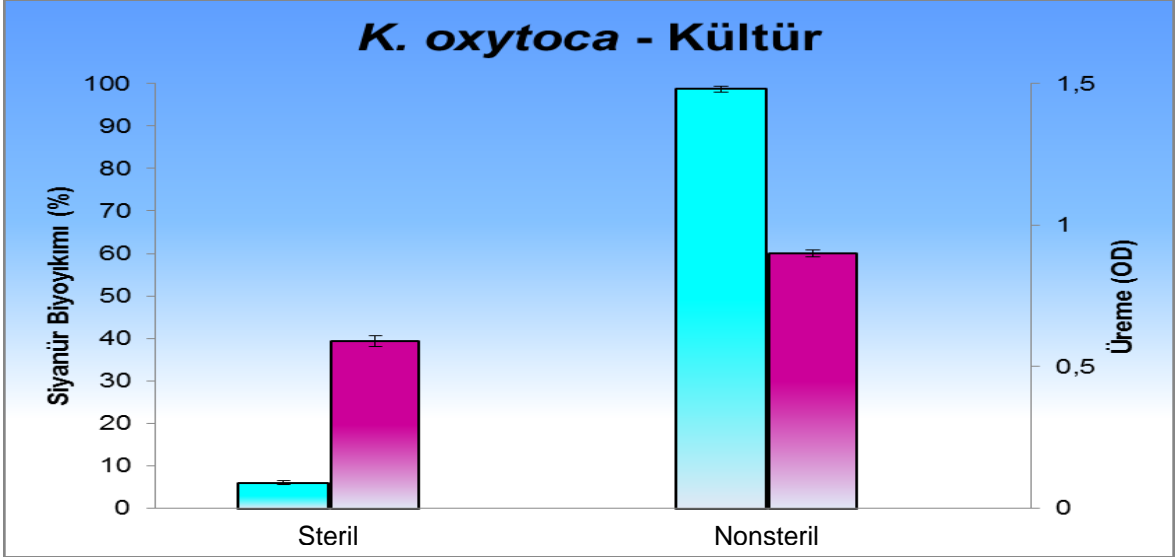
Literatürde bir çalışmada siyanür biyoyıkım ortamında civa ağır metalinin bulunmasının *Serratia marcescens*'in üremesi üzerinde toksik etki yarattığı, buna bağlı olarak da siyanür biyoyıkımının civa içermeyen ortamda %92 oranında olmasına rağmen civa bulunan ortamda ise %24,7'ye düştüğü belirtilmektedir [71]. Bizim çalışmamızda *Klebsiella* suşlarının altın madenciliği atık su ortamında üreme miktarlarında önemli bir değişiklik olmadığı gözlemlendi (Şekil 4.45, Şekil 4.46 ve Şekil 4.47). Dolayısıyla, altın çıkarma madenciliği atık suyunda siyanür biyoyıkımındaki azalmanın ortamda bulunan ağır metallerin mikroorganizmanın siyanür biyoyıkımı için ürettiği enzimler üzerinde inhibe edici etkisi sonucu olabileceği sonucuna varıldı. Buna ilave olarak, çalışmamızda Bölüm 4.3'te farklı siyanür kaynaklarının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türleri ile biyoyıkımları incelenerek, tetrasiyanonikelatin *K. pneumoniae* türü ile biyoyıkıma uğratılmadığı, *K. oxytoca* türü ile ise ancak %27 oranında biyoyıkımının yapıldığı bulunmuştu (Şekil 4.25 ve Şekil 4.27). Bu bağlamda, altın madenciliği atık suyunda da tetrasiyanonikelat bulunduğu göz önüne alındığında, söz konusu atık sudaki siyanür biyoyıkımının az miktarda olması şaşırtıcı değildir.



Şekil 4.45. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

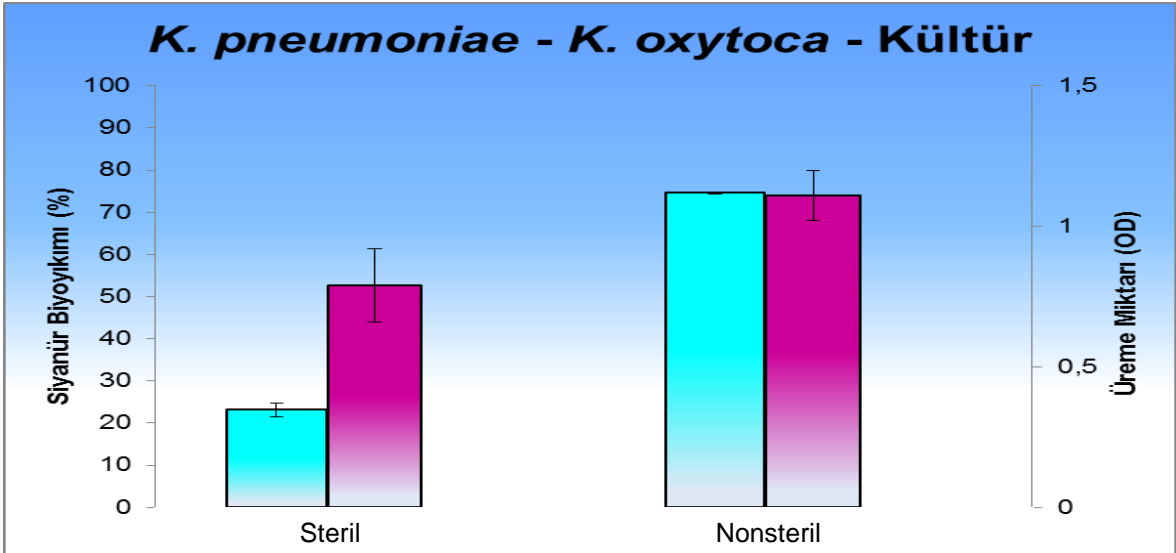
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.46. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün *K. oxytoca* ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.47. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürü ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Steril olmayan koşullarda hazırlanan altın çıkarma madenciliği atık su ortamlarında ise siyanür biyoyıkımının steril ortamlara kıyasla daha fazla olması, steril olmayan koşullarda dış ortamdan atık su ortamına dâhil olan mikroorganizmaların üremesi ve buna bağlı olarak biyoyıkımının artması ile açıklanabilir (Şekil 4.45, Şekil 4.46 ve Şekil 4.47).

Sonuç olarak atık su alışmamızda *Klebsiella* türleri ve karışık kültürünün elektro-kaplama sanayi atık suyundaki siyanürün biyoyıkımında, *K. pneumoniae* ve *Klebsiella* karışık kültürünün ise metal-kaplama sanayi atık suyundaki siyanürün biyoyıkımında kullanılabilirlikleri saptandı.

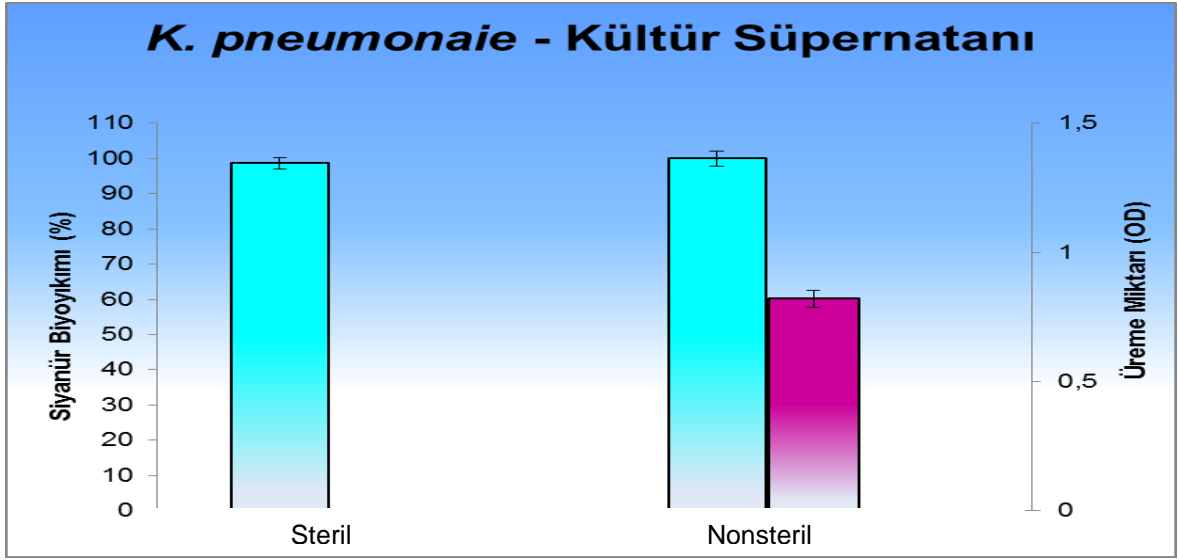
4.8.1.2. Atık Su Ortamlarında Bulunan Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültür Süpernatantları ile Biyoyıkımının Araştırılması

Endüstriyel atık sularda yer alan siyanürün biyoyıkımında çeşitli mikroorganizma kültürleri kullanılmakta ve siyanür biyoyıkımında kullanılacak etkin mikroorganizmaların belirlenmesi için araştırmalar halen devam etmektedir [88, 89, 93, 95]. Buna ilave olarak mikroorganizmaların hücre içi ortamlarından ve kültür süpernatantlarından enzimlerin saflaştırılması yolu ile de biyoyıkım yapılabildikleri bilinmektedir [92]. Bu bağlamda alışmamızda *Klebsiella* türlerine ait kültürlerin atık sulardaki siyanürü biyoyıkım oranlarının belirlenmesinin ardından bu suşların kültür süpernatantlarının da atık sulardaki siyanürü biyoyıkım oranları araştırıldı.

Laboratuvar ortamında hazırlanan elektro-kaplama, metal-kaplama sanayi ve altın çıkarma madenciliği atık sularına *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatantları ayrı ayrı ilave edilerek, süpernatantların steril ve steril olmayan atık sularda siyanür biyoyıkımındaki etkinlikleri incelendi. *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatantları ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün inkübe edildi. İnkübasyon sürecinin tamamlanmasının ardından, kültür ortamlarında siyanür biyoyıkım yüzdeleri ve üreme miktarları belirlendi.

Dünyada yılda yaklaşık 14 milyon kg siyanürlü atık oluşturulmakta ve söz konusu siyanür miktarının % 0,5 ila % 20'sinin elektro-kaplama sanayi kaynaklı olduğu bilinmektedir [46]. Siyanürlü atık oluştırmada büyük bir paya sahip olan elektro-

kaplama sanayi atık suyundaki siyanürün biyoyıkım ile ortamdan uzaklaştırılması çevrenin korunması açısından önemlidir. Çalışmamızda, elektro-kaplama sanayi atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatantları ile biyoyıkımı incelendiğinde Bölüm 4.8.8.1 ile benzer şekilde steril atık suda *K. pneumoniae* kültür süpernatantının %98, *K. oxytoca* kültür süpernatantının %99 ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatantının ise %95 oranında siyanür biyoyıkımı yaptığı gözlemlendi (Şekil 4.48, Şekil 4.49 ve Şekil 4.50).

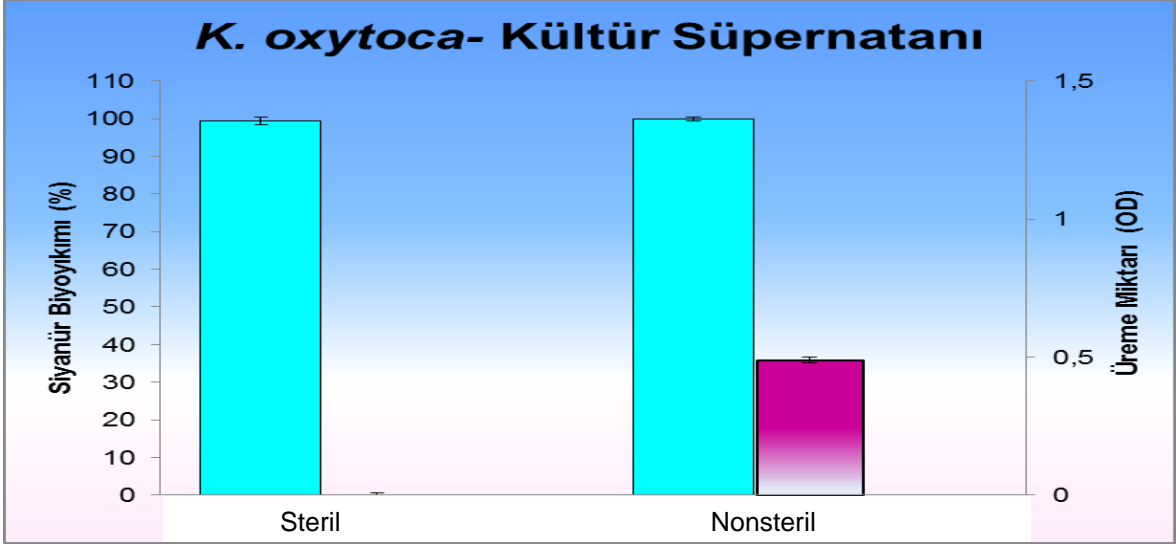


Şekil 4.48. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae*'nin kültür süpernatantı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

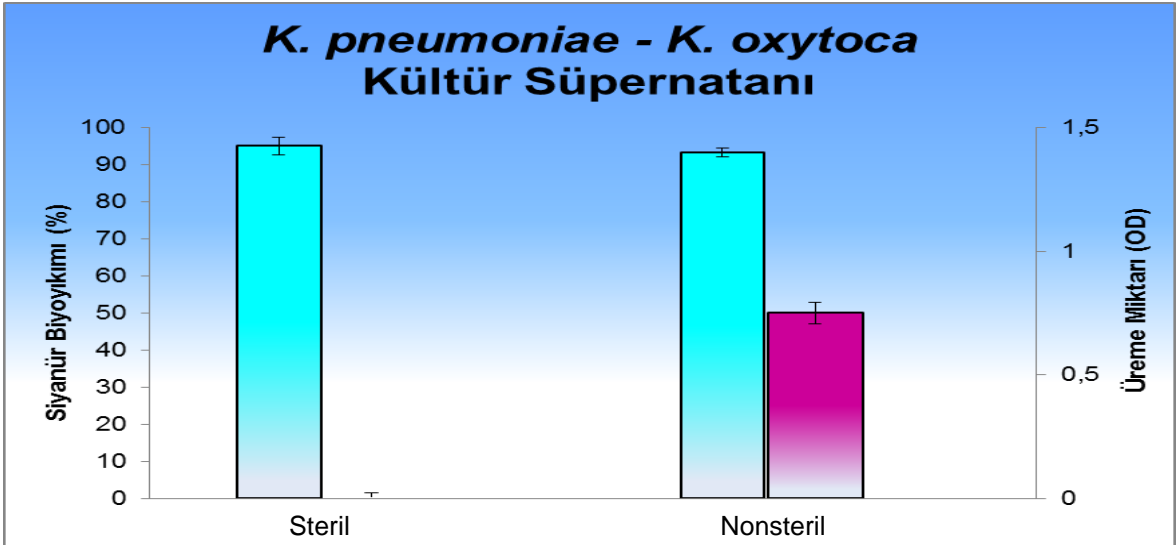
Steril olmayan ortamda kültür süpernatantları ile siyanür biyoyıkımı incelendiğinde ise *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* kültür süpernatantlarının %100 ve *K. oxytoca* - *K. pneumoniae* kültür süpernatantının ise %93 oranında siyanür biyoyıkımı yaptığı belirlendi (Şekil 4.48, Şekil 4.49 ve Şekil 4.50). Dışarıdan biyoyıkım ortamına dâhil olan mikroorganizmaların siyanür biyoyıkımında etkin oldukları, ortamda üremelerine ve siyanür biyoyıkımı yapan enzim sentezlemelerine bağlı olarak da siyanür biyoyıkımının arttığı sonucuna varıldı.



Şekil 4.49. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. oxytoca*'nın kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



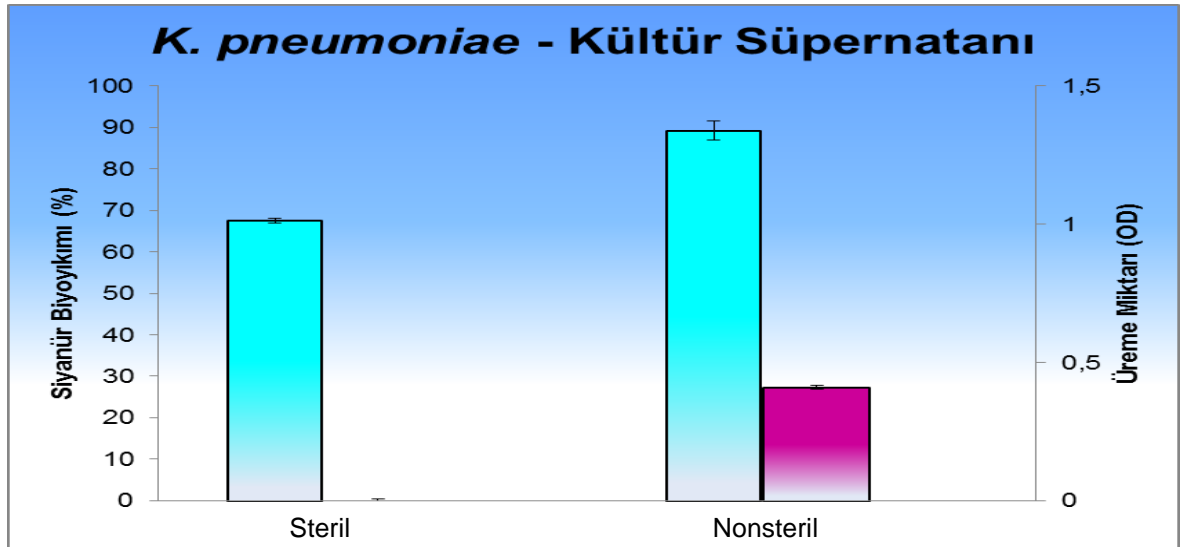
Şekil 4.50. Steril ve steril olmayan elektro-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürünün kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmada hazırlanan diğer bir atık su olan metal-kaplama sanayi atık suyundaki siyanürün *Klebsiella* türlerinin kültür süpernatantları ile biyoyıkımı incelendiğinde *K. pneumoniae* kültür süpernatantının (%67) *K. pneumoniae* kültürüne (%95) kıyasla metal-kaplama atık suyu ortamında daha az siyanür biyoyıkımı yaptığı belirlendi (Şekil 4.42 ve Şekil 4.51). Siyanür biyoyıkımındaki söz konusu azalmanın *K. pneumoniae* kültür süpernatantında siyanür biyoyıkımından kalan son ürünlerin siyanür biyoyıkımı üzerinde inhibe edici etkisinden kaynaklanabileceği sonucuna varıldı. Buna ek olarak, *K. oxytoca* kültür süpernatantının %89 ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatantının ise %93 oranında siyanür biyoyıkımı yaptıkları belirlendi (Şekil 4.52 ve Şekil 4.53). Bu bağlamda, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatantlarında yer alan enzimlerin siyanür biyoyıkım çalışmalarında kullanılmak üzere saflaştırılmaları sonucunda siyanür biyoyıkımının daha da etkin gerçekleştirilebileceği sonucuna varıldı.

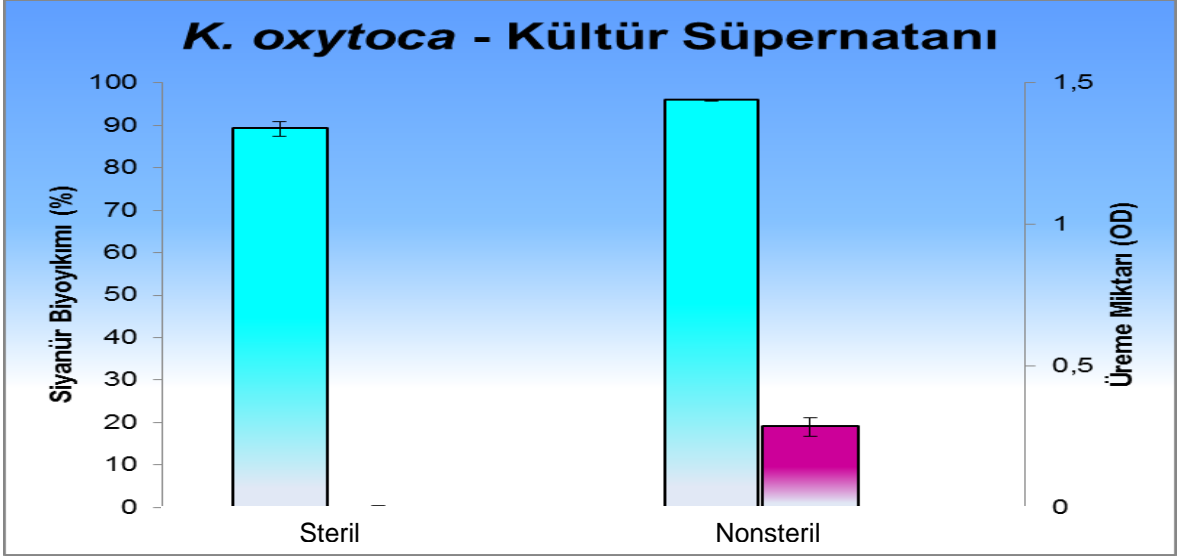
Steril olmayan atık su ortamlarında ise dış ortamdan atık ortamına ilave olan suşların üremesine bağlı olarak siyanür biyoyıkımında da artma olduğu saptandı (Şekil 4.51, Şekil 4.52 ve Şekil 4.53).



Şekil 4.51. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae*'nin süpernatantı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

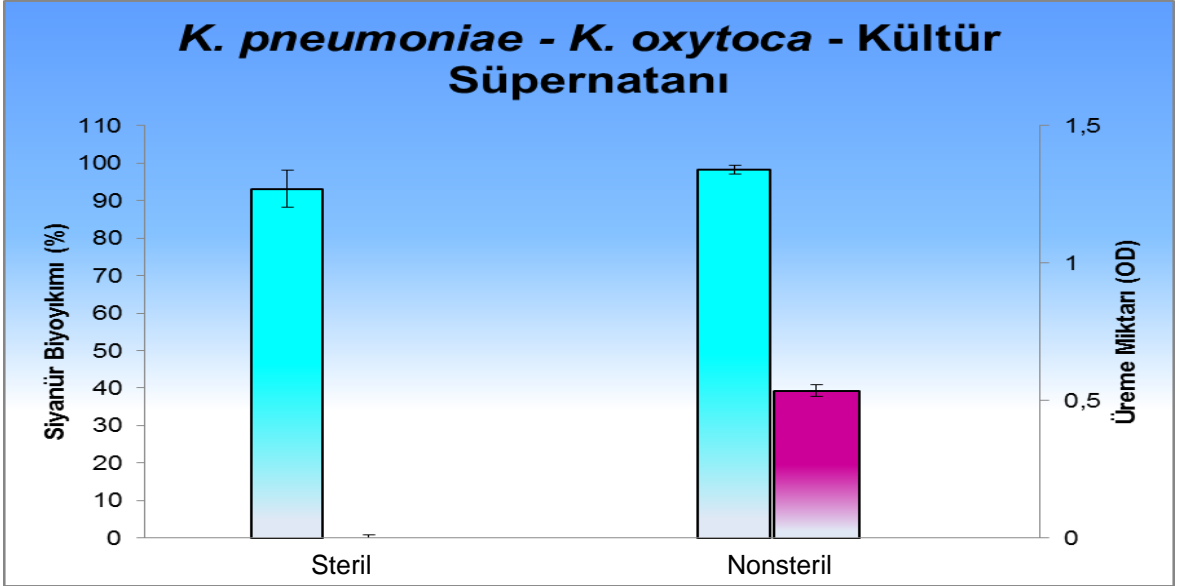
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.52. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. oxytoca*'nın süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.53. Steril ve steril olmayan metal-kaplama atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürünün kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.

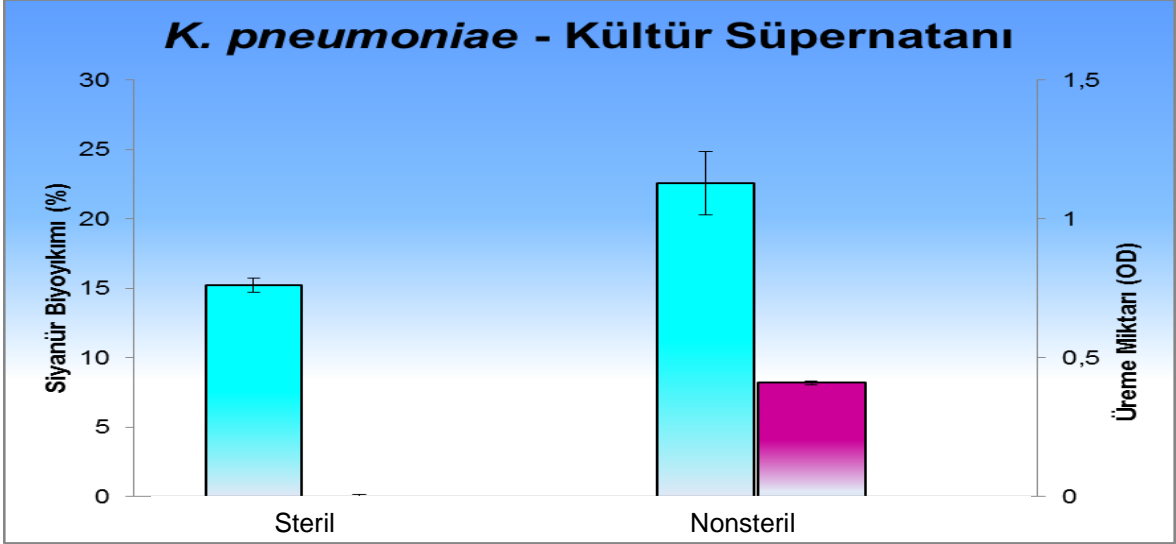
■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Son olarak çalışmamızda, altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürü *K. pneumoniae* kültür süpernatantının %15, *K. oxytoca* kültür süpernatantının %4, *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültür süpernatantının ise %5 oranında biyoyıkıma uğrattıkları belirlendi (Şekil 4.54, Şekil 4.55 ve Şekil 4.56). Bölüm 4.8.1.1'de de belirtildiği üzere altın çıkarma madeni atık suyunda bulunan tetrasiyanonikelat gibi toksik siyanür bileşiklerinin ve diğer atık sularda bulunmayan civa, amonyak, arsenik, mangan ve demir gibi çeşitli ağır metallerin varlığı nedeniyle diğer atık sulara kıyasla altın çıkarma madeni atık suyunda daha az siyanür biyoyıkımı gerçekleşmektedir. Bu bağlamda, 4.8.8.1'de belirtmiş olduğumuz gibi söz konusu ağır metallerin siyanür biyoyıkımında kullanılan enzimler üzerinde inhibe edici etki yaratmış olabileceği öngörülmektedir.

K. pneumoniae'nin kültür süpernatantının bulunduğu ortamda altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanür biyoyıkımının *K. pneumoniae* kültüründen (%15) daha fazla olduğu belirlendi (Şekil 4.45 ve Şekil 4.54). *K. pneumoniae* suşunun kültürünün kullanıldığı durumda, siyanür biyoyıkımını gerçekleştirebilmesi için öncelikle üremesi ardından da biyoyıkımda kullanacağı enzimleri üretmesi gerekmektedir. Ancak söz konusu suşun kültür süpernatantı kullanıldığında ortamda hazır olarak bulunan enzimler aracılığıyla siyanür biyoyıkımı az da olsa gerçekleştirilebilmiştir (Şekil 4.54). Sonuç olarak, kültür süpernatantı kullanımı ile altın çıkarma madenciliği atık suyunda siyanür biyoyıkımının diğer kültür süpernatantlarının kullanıldığı ortamlardan daha az olmakla beraber yine de yapılabildiği belirlendi (Şekil 4.54, Şekil 4.55 ve Şekil 4.56). Söz konusu suşların kültür süpernatantlarındaki siyanür biyoyıkım son ürünlerinin uzaklaştırıldığı ve enzimlerinin saflaştırıldığı durumlarda siyanür biyoyıkımını çok daha hızlı ve etkin olarak gerçekleştirilebilecekleri öngörüldü. Buna ek olarak *Klebsiella* suşlarının enzimlerinin immobilizasyonu ile de atık sulardaki siyanürün biyoyıkımında etkin olabileceklerdir.

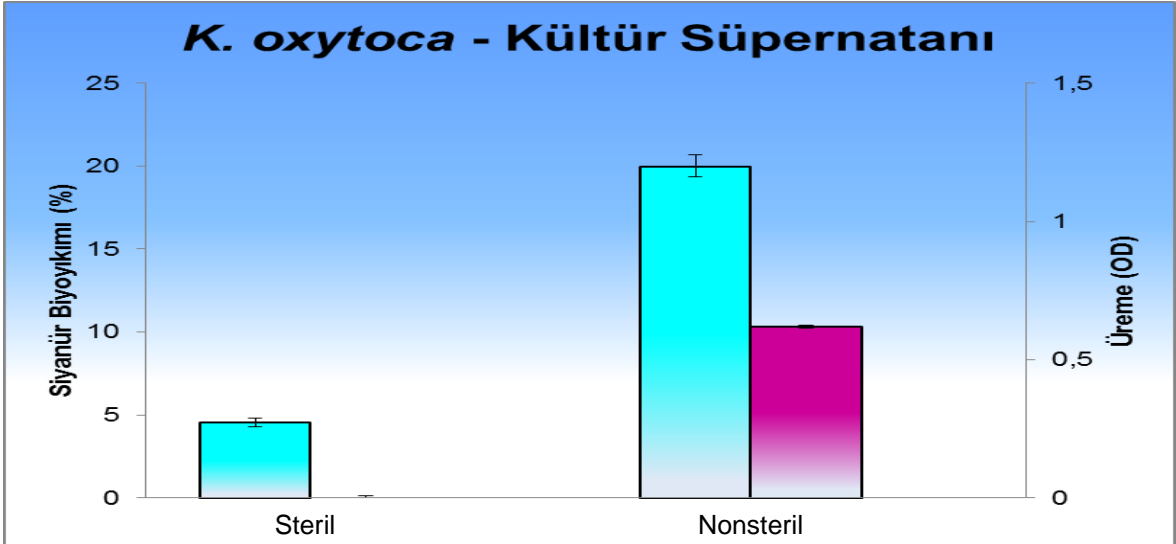
Klebsiella kültür süpernatantlarının steril olmayan altın çıkarma madenciliği atık suyundaki siyanür biyoyıkım oranları incelendiğinde ise dış ortamdan biyoyıkım ortamına dahil olan mikroorganizmaların üremeleri sonucunda siyanür biyoyıkımında artma olduğu gözlemlendi (Şekil 4.54, Şekil 4.55 ve Şekil 4.56).



Şekil 4.54. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae*'nin süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

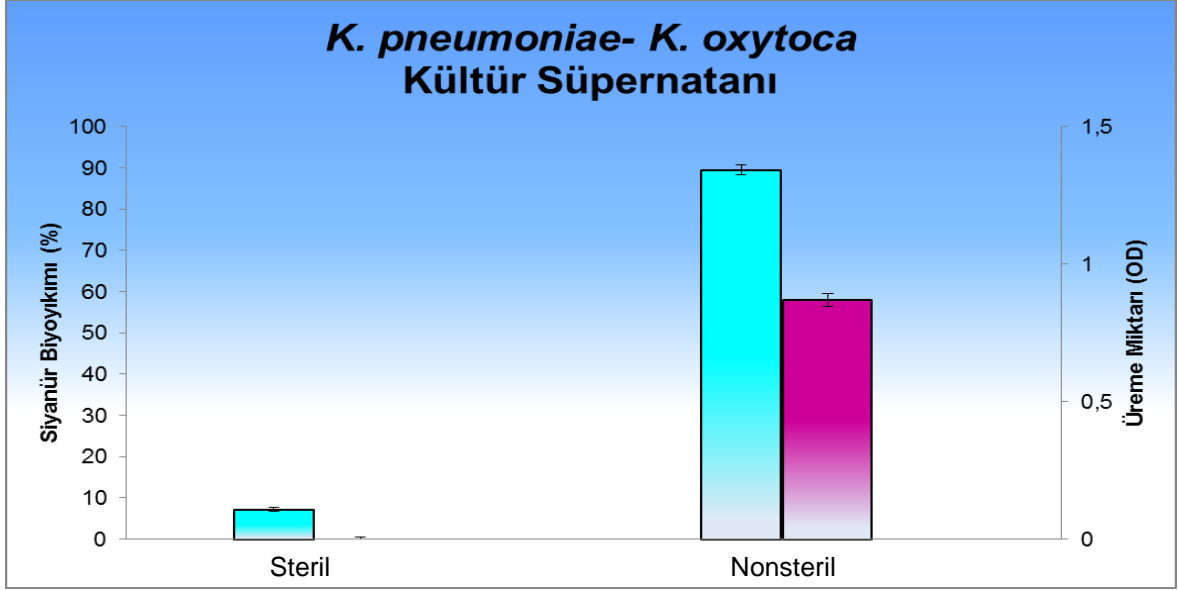
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.55. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün *K. oxytoca*'nin süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.56. Steril ve steril olmayan altın çıkarma madeni atık suyundaki siyanürün *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürünün süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Çalışmamızda henüz *Klebsiella* türlerinin kültür süpernatantları saflaştırılmamış olmalarına rağmen elektro-kaplama ve metal-kaplama atık sularındaki siyanürü de biyoyıkıma uğratabildikleri belirlendi. Söz konusu süpernatantlardaki enzimlerin saflaştırılması ve immobilize edilmesi durumunda siyanür biyoyıkımının daha etkin sonuçlar vereceği öngörüldü.

4.8.2. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Biyoyıkımının Araştırılması

4.8.2.1. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültürleri ile Biyoyıkımının Araştırılması

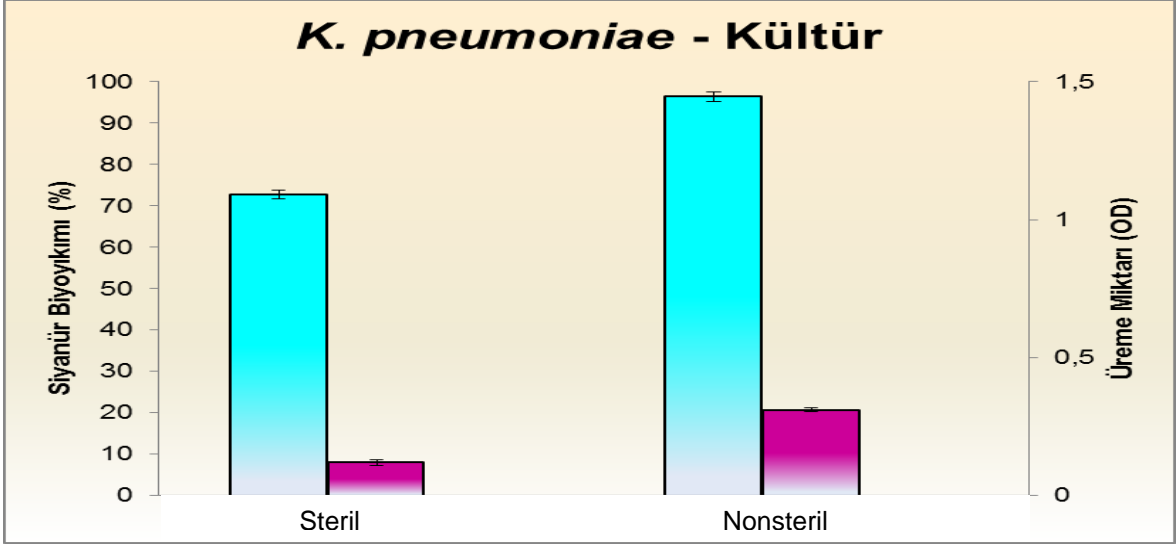
Endüstriyel kaynaklar aracılığıyla doğaya ulaşan siyanürlü atıklar yalnız sucul ortamlarda değil aynı zamanda endüstriyel kuruluşların çevresinde atık suların ulaştığı topraklarda da siyanür kirliliğine sebep olmaktadır. Buna ek olarak, bazı bitkiler tarafından üretilen siyanojen glikozitler, ölü hayvanlar, böcekler, orman yangınları, biyolojik savaş, gübreleme, ilaçlama ve daha birçok antropojenik etken

aracılığı ile de siyanürün toprağa karıştığı bilinmektedir. Organik ve inorganik maddelerce zengin yapıya sahip olan toprağın siyanürlü bileşiklerle kirlenmesi sonucunda siyanür tarımsal üretim vasıtasıyla canlılara ulaşmakta ve yağmur vasıtasıyla yer altı sularına karışmaktadır [45]. Bu bağlamda, topraktaki siyanürün gideriminde kullanılacak mikroorganizmaların tespiti canlı sağlığının korunması açısından oldukça önemlidir.

Çalışmamızda, 6 mg/kg ve 240 mg/kg siyanür içeren steril ve steril olmayan topraklı ortamlar laboratuvarında hazırlanarak, *Klebsiella* türlerinin söz konusu ortamlardaki siyanürü biyoyıkım oranları araştırıldı. Hazırlanan ortamlara *Klebsiella* türleri ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürü ekildi. *K. pneumoniae* 25°C'de 150 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 3 gün, *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürü ise 30°C'de 100 rpm çalkalama hızındaki inkübatörde 5 gün üretildi. İnkübasyon sonrası biyoyıkım ortamlarındaki üreme miktarları ve siyanür biyoyıkım oranları ölçüldü.

K. pneumoniae ve *K. oxytoca* suşları steril 6 mg/kg siyanür içeren topraklı ortamlarda hemen hemen aynı miktarda üremiş olmalarına rağmen *K. pneumoniae*'nin siyanür biyoyıkımının (%72), *K. oxytoca*'nın siyanür biyoyıkımına (%32) kıyasla çok daha fazla olduğu gözlemlendi (Şekil 4.57 ve Şekil 4.58). Buna bağlı olarak, toprak içerisinde yer alan maddelerin *K. oxytoca* suşu ile siyanür biyoyıkımı üzerine toksik etki yarattığı sonucuna varıldı. Buna ek olarak, toprak içeriğinin *K. pneumoniae*'nin siyanür biyoyıkımında kullandığı enzimler üzerinde aktive edici etki gösterdiği öngörüldü. *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürünün kullanıldığı ortamda ise siyanür biyoyıkımının %90'ın üzerinde olduğu belirlendi. Dolayısıyla 6 mg/kg toprak içeren ortamda her iki *Klebsiella* türünün bir arada bulunmasının siyanür biyoyıkımı açısından sinerjik etki yarattığı sonucuna varıldı (Şekil 4.59).

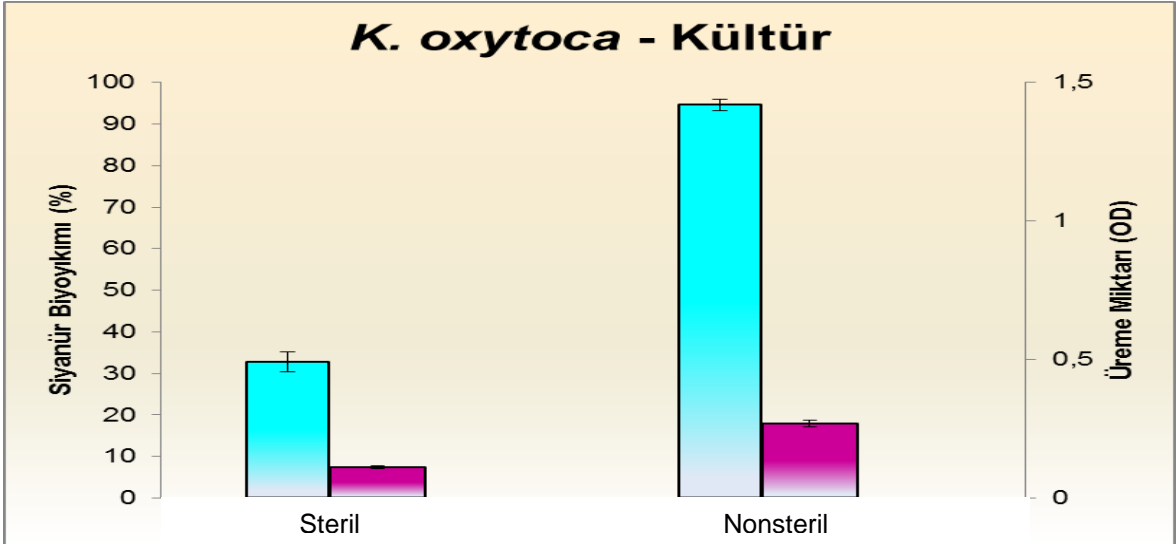
Steril olmayan koşullar altında ise dış ortamdan mikroorganizma kontaminasyonunun siyanür biyoyıkımını arttırıcı etki gösterdiği saptandı (Şekil 4.57, Şekil 4.58 ve Şekil 4.59).



Şekil 4.57. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün *K. pneumoniae* ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

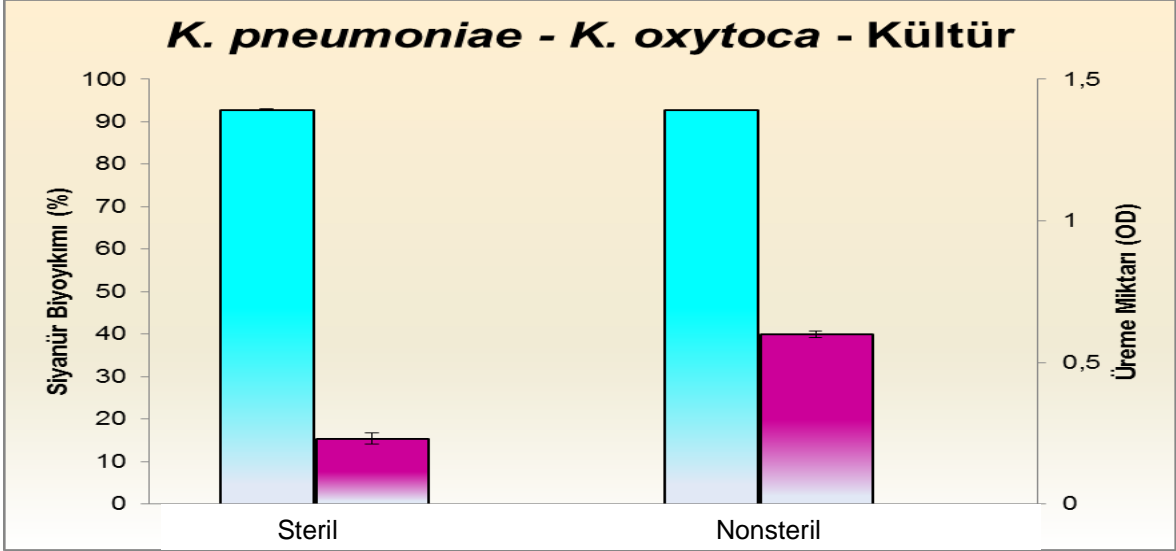
*Suşların retimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekteşirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.58. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün *K. oxytoca* ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların retimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekteşirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

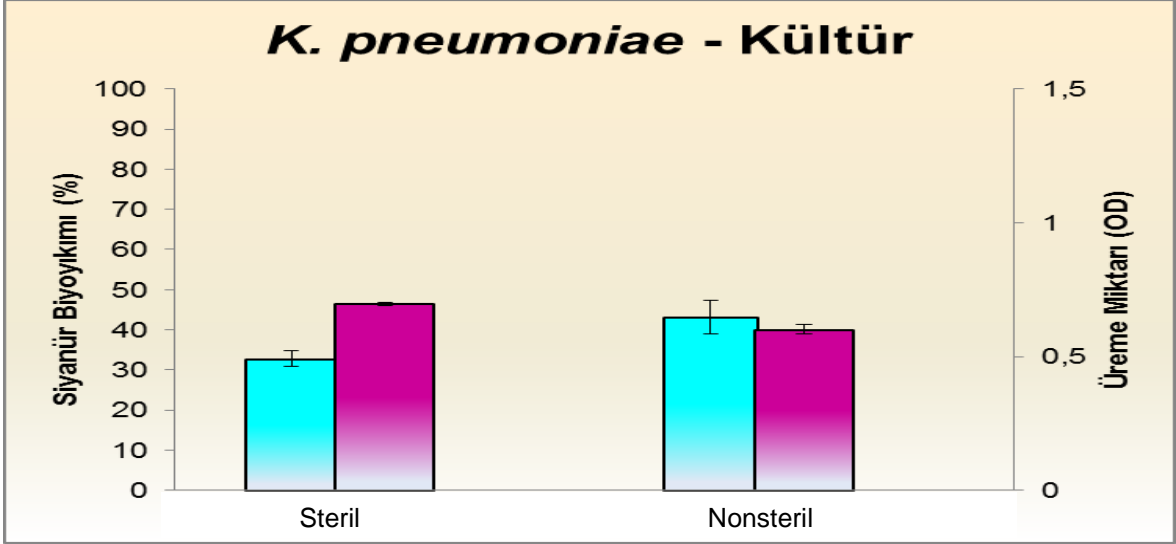


Şekil 4.59. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün *K. pneumoniae* - *K. oxytoca*'nın karışık kültürü ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de, 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

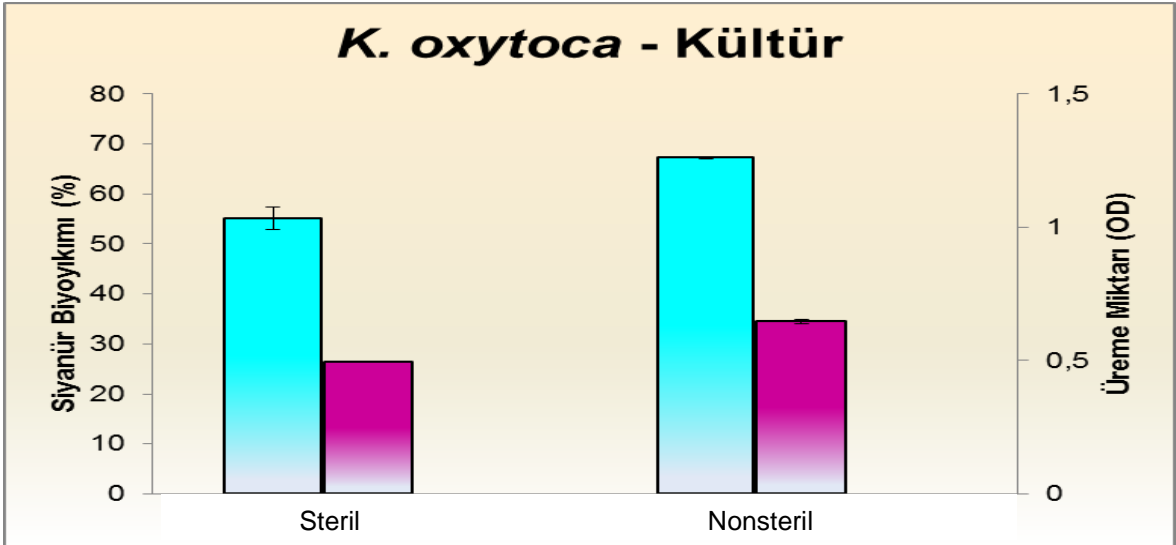
Klebsiella kültürlerinin 240 mg/kg siyanür içeren topraklı ortamlardaki siyanür biyoyıkımı incelendiğinde ise *K. pneumoniae* suşunun %32, *K. oxytoca* suşunun %55, *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürünün ise %31 oranında siyanürü biyoyıkıma uğrattığı belirlendi (Şekil 4.60, Şekil 4.61 ve Şekil 4.62). 240 mg/kg siyanür içeren topraktaki siyanür biyoyıkımının azalışının nedeni olarak toprağın içeriğindeki maddelerin siyanür ile tepkimeye girmiş olabileceği ve *Klebsiella* türlerinin siyanür haricinde toprakta yer alan farklı azot kaynaklarını da siyanür yerine tercih ederek üremek için kullanmış olabileceği öngörüldü. Bunlara ek olarak topraktaki siyanür miktarının da fazla olduğu ve siyanürün toksik etkisi göz önüne alındığında siyanür biyoyıkım oranlarının düşük olması olasıdır. *K. oxytoca* ve *K. pneumoniae* suşlarının bir arada bulunduğu durum değerlendirildiğinde ise suşların birbirinin üremesini inhibe ettiği, üreme miktarındaki azalmaya bağlı olarak da siyanür biyoyıkımının da azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.62).



Şekil 4.60. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün *K. pneumoniae* ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

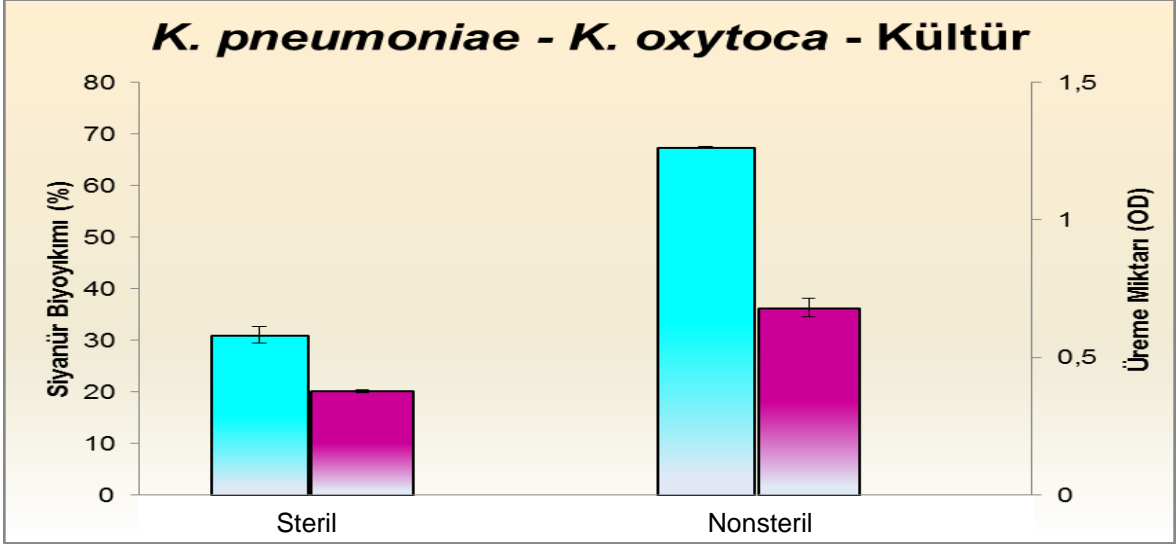
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.61. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün *K. oxytoca* ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.62. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürü ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

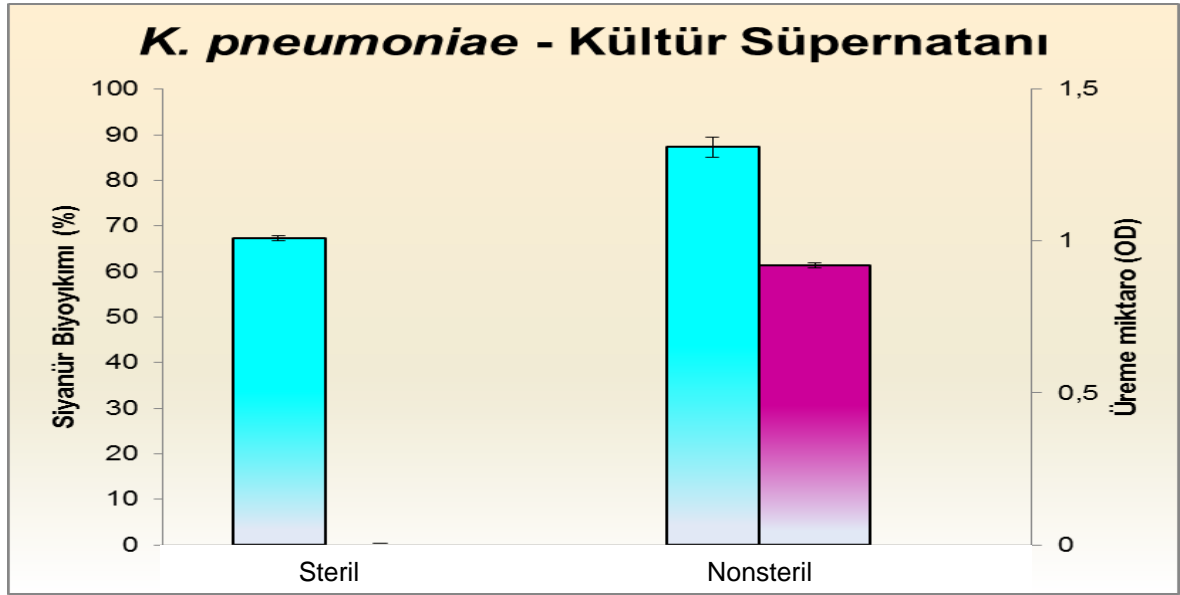
4.8.2.2. Siyanür İçeren Toprak Ortamlarındaki Siyanürün *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* Kültür Süpernatantları ile Biyoyıkımının Araştırılması

Klebsiella türlerinin kültür süpernatantlarının steril topraklardaki siyanürü biyoyıkım oranları değerlendirildiğinde, *K. pneumoniae* kültür süpernatantının %67 oranında, *K. oxytoca* kültür süpernatantının %65, *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültür süpernatantının ise %58 oranında biyoyıkım yaptıkları belirlendi (Şekil 4.63, Şekil 4.64 ve Şekil 4.65). Toprak 1'de *K. oxytoca* kültürü ve kültür süpernatantı ile siyanür biyoyıkımları birbiriyle karşılaştırıldığında *K. oxytoca* kültürünün toprak içeren ortamda az üremesine bağlı olarak enzim üretiminin de az olduğu ve siyanür biyoyıkımının azaldığı belirlendi (Şekil 4.58). *K. oxytoca*'nın kültür süpernatantının kullanıldığı durumda ise ortama enzim doğrudan verilmiş olduğu için biyoyıkım miktarının daha fazla olduğu saptandı (Şekil 4.64). Bu bağlamda, toprak 1'de mikroorganizma kültür süpernatantı kullanımının siyanür biyoyıkımı için daha avantajlı olduğu görülmektedir. Çalışmamızda kullanılan kaba kültür

süpernatanı olduğu için söz konusu süpernatandaki enzimin saflaştırılması ile siyanür biyoyıkım oranının daha da artırılabilceği öngörülmektedir.

K. oxytoca süpernatanı ile steril olmayan toprak 1'deki siyanür biyoyıkımı incelendiğinde dış ortandan biyoyıkım ortamına dahil olan mikroorganizmaların üremesi ile kültür süpernatandaki enzimlerin inhibe olması sonucunda siyanür biyoyıkımının azaldığı belirlendi (Şekil 4.64). *K. pneumoniae* ve *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültür süpernatantlarının kullanıldığı steril olmayan ortamlarda ise dış ortandan biyoyıkım ortamına dahil olan mikroorganizmaların üremesine bağlı olarak siyanür biyoyıkımında da artma olduğu gözlemlendi (Şekil 4.63 ve Şekil 4.65).

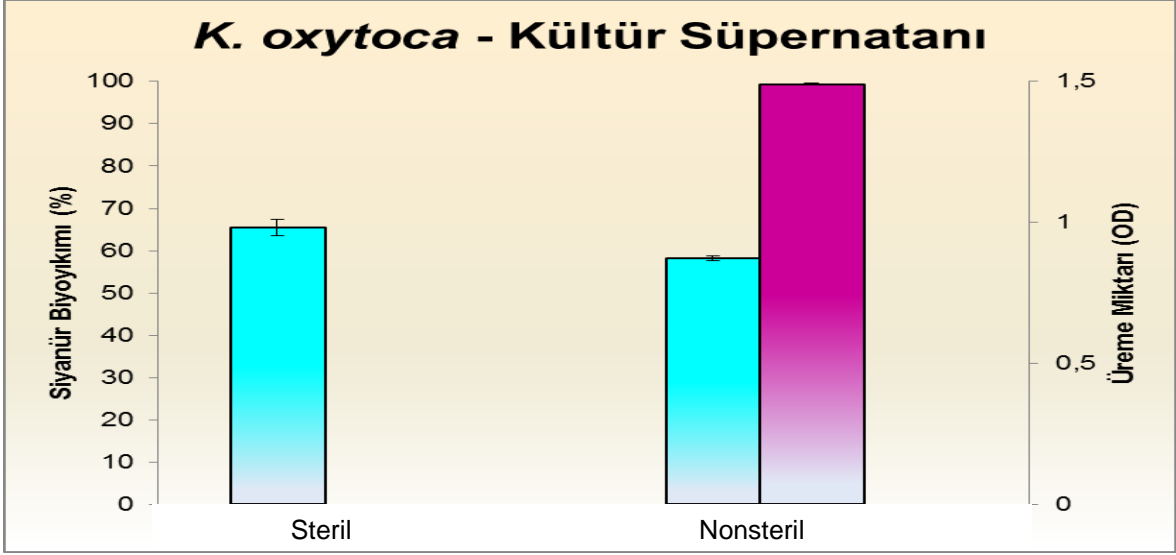
Sonuç olarak, *K. pneumoniae* türünün kültür ve kültür süpernatantının, *K. oxytoca* türünün kültür süpernatantının ve *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürünün 6 mg/kg siyanür içeren topraklı ortamda siyanür biyoyıkımında kullanılabilecekleri sonucuna varıldı (Şekil 4.57, Şekil 4.59, Şekil 4.63 ve Şekil 4.64).



Şekil 4.63. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün *K. pneumoniae*'nin kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

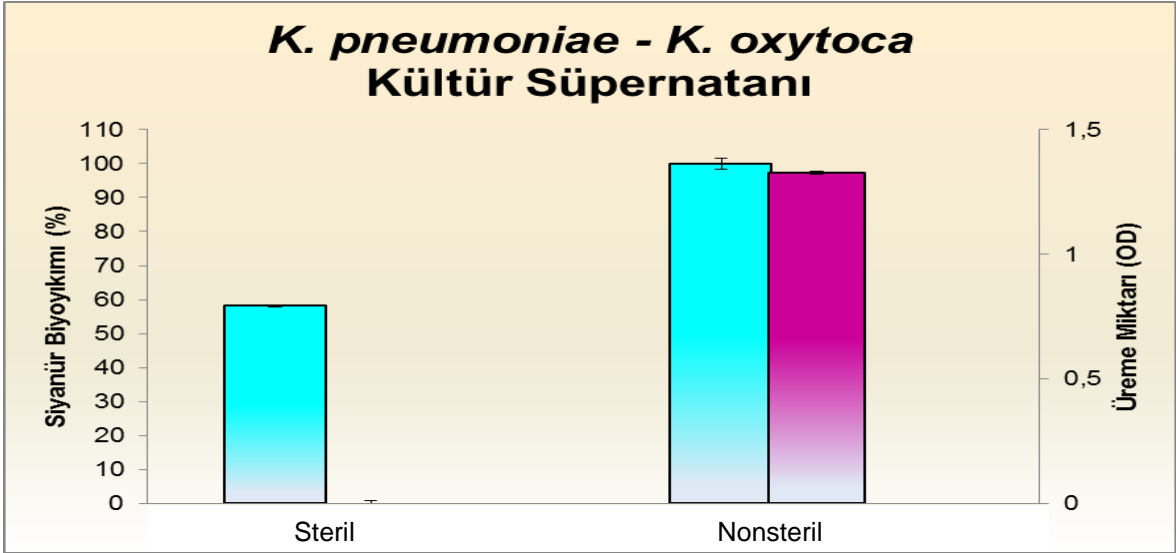
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.64. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün *K. oxytoca*'nın süpernatanı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.65. Steril ve steril olmayan toprak 1'deki siyanürün *K. pneumoniae*-*K. oxytoca* karışık kültürünün süpernatanı ile biyoyıkımı.

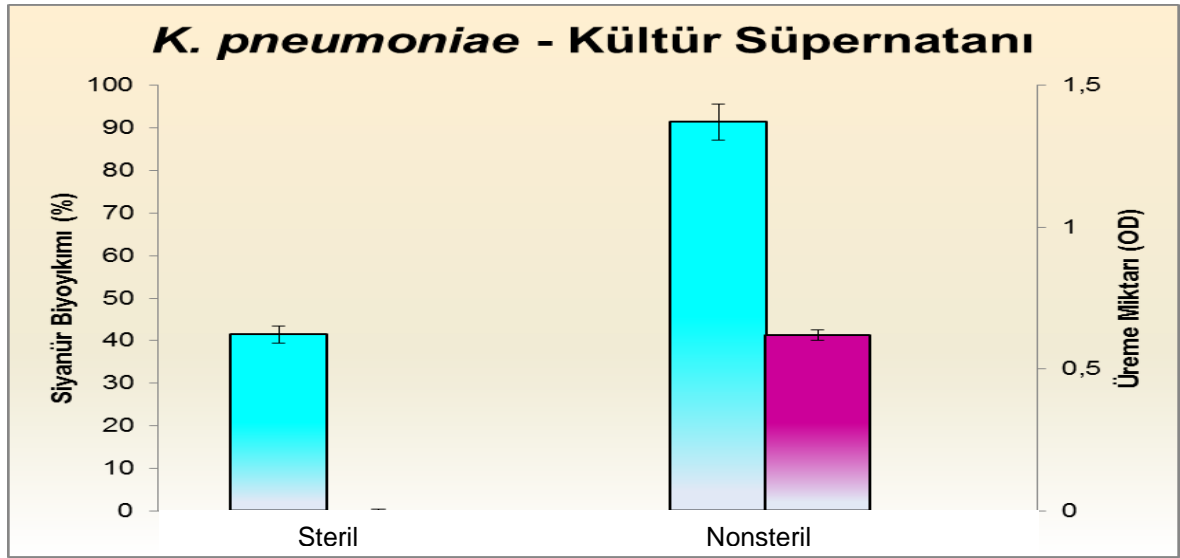
■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Klebsiella türlerinin 240 mg/kg siyanür içeren ortamda kültür süpernatantlarının siyanür biyoyıkımına etkisi incelendiğinde ise *K. pneumoniae* kültür süpernatantının %41, *K. oxytoca* kültür süpernatantının %51 ve *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültür süpernatantının ise %60 oranında siyanür biyoyıkımı yaptığı belirlendi (Şekil 4.66, Şekil 4.67 ve Şekil 4.68).

Steril olmayan koşullar altında ise dış ortamdan biyoyıkım ortamına dahil olan mikroorganizmaların topraklı ortamda üremelerine bağlı olarak siyanür biyoyıkımında da artış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.66, Şekil 4.67 ve Şekil 4.68).

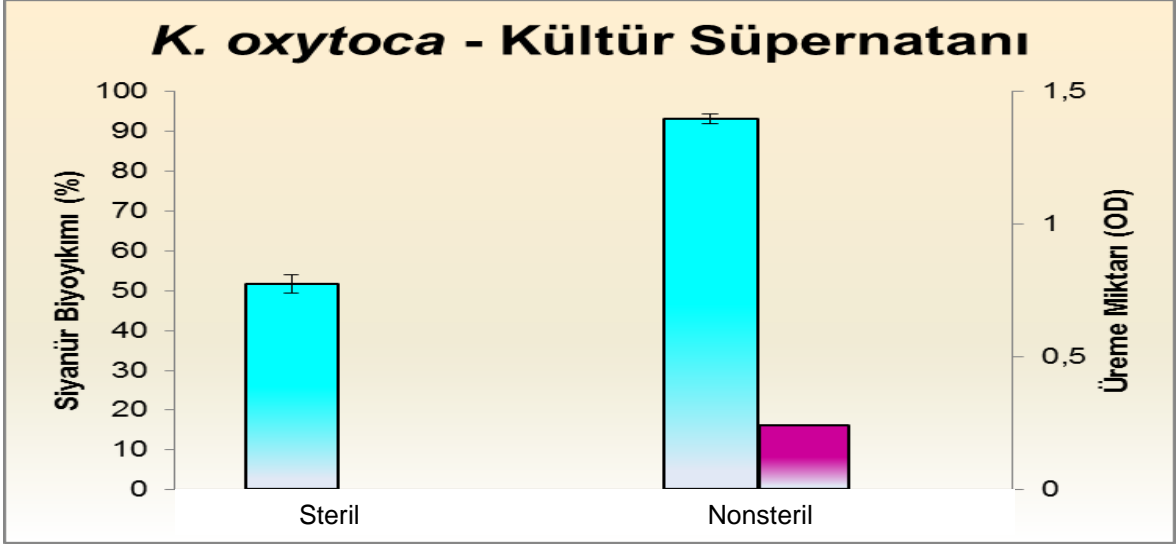
Sonuç olarak, 240 mg/kg siyanür içeren topraklı ortamda *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültür süpernatantının *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* kültür süpernatantlarına kıyasla siyanür biyoyıkımında daha etkin olduğu gözlemlendi (Şekil 4.68).



Şekil 4.66. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün *K. pneumoniae*'nin kültür süpernatantı ile biyoyıkımı.

■: Siyanür Biyoyıkımı (%), ■: Üreme (OD)

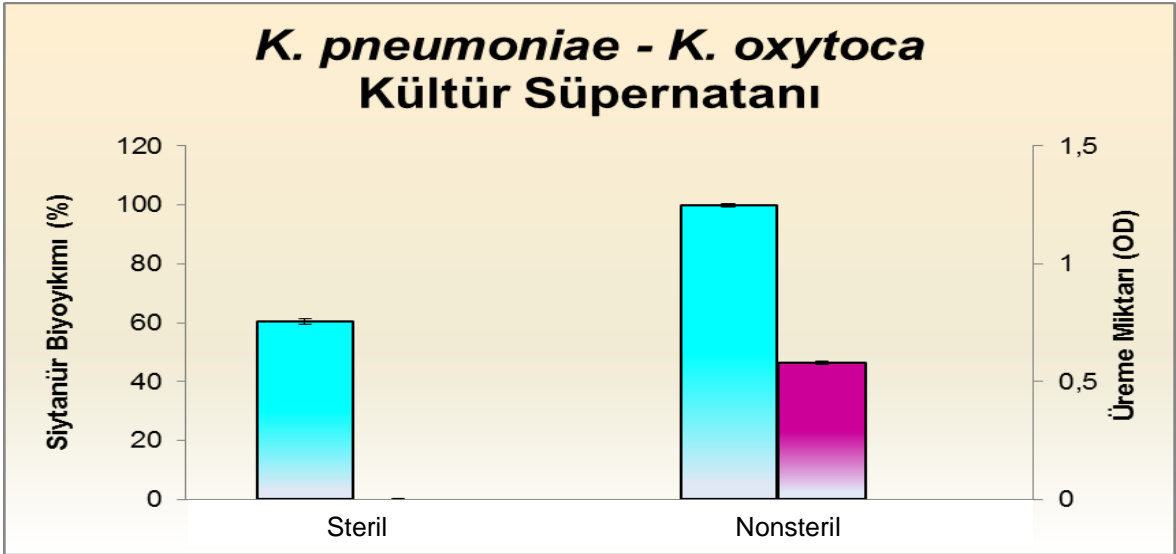
*Suşların üretimi 25°C'de 150 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 3 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.67. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün *K. oxytoca*'nın kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.



Şekil 4.68. Steril ve steril olmayan toprak 2'deki siyanürün *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* karışık kültürünün kültür süpernatanı ile biyoyıkımı.

■ : Siyanür Biyoyıkımı (%), ■ : Üreme (OD)

*Suşların üretimi 30°C'de 100 rpm çalkalama hızına ayarlanmış olan inkübatörde 5 gün süresince gerçekleştirildi. Sonuçlar üç çalışmanın ortalamasıdır. Standart sapmalar grafik üzerinde gösterilmektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda, 6 mg/kg siyanür içeren toprak ortamında *K. pneumoniae* kültürünün ve *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türlerinin kültür süpernatantlarının ve *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* karışık kültürünün siyanür biyoyıkımında etkin oldukları gözlemlendi (Şekil 4.57, Şekil 4.59, Şekil 4.63 ve Şekil 4.64). 240 mg/kg siyanür içeren toprak ortamında ise siyanür miktarının çok fazla olmasına bağlı olarak biyoyıkımın 6 mg/kg siyanür içeren toprak ortamına kıyasla daha az olduğu ve söz konusu ortamda *K. pneumoniae* – *K. oxytoca* kültür süpernatantının siyanür biyoyıkımında etkin olduğu saptandı (Şekil 4.68). Bu bağlamda, kültür süpernatantlarında bulunan siyanür biyoyıkım ürünlerinden etkilenmeden siyanür biyoyıkımının yapılabilmesi siyanür biyoyıkım süreçlerinde kültür süpernatantlarının kullanılabilirlikleri açısından önemlidir. Buna ek olarak kültür süpernatantlarındaki enzimlerin henüz saflaştırılmamış olmasına rağmen biyoyıkımda bu denli aktif olmaları *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımında kullanılan enzimlerinin saflaştırılarak gelecekte yapılacak olan çalışmalarda kullanılabilirlikleri açısından da önem taşımaktadır.

5. YORUM

Siyanür pekçok endüstriyel faaliyette kullanılmakta ve üretim sonucu oluşan siyanürlü atıklar çevreye deşarj edilmektedir. Yılda yaklaşık 14 milyon kg siyanürlü katı ve sıvı atığın oluşturularak ekosisteme verildiği ve biyojeokimyasal döngüyü önemli ölçüde etkilediği belirtilmektedir [34]. Toksik, karsinojenik ve mutajenik etkileri nedeniyle önemli bir çevre ve canlı zararlısı olarak karşımıza çıkan siyanürün, çevreye deşarj edilmeden önce ön arıtımının yapılarak endüstriyel atığın içerdigi siyanür miktarının düşürülmesi canlılar açısından önemlidir [30].

Siyanürün ortamdan uzaklaştırılmasında fiziksel ve kimyasal yöntemler kullanılmakta ancak arıtım sonucunda toksik olmayan son ürünlerin oluşturulduğu biyolojik yöntemler avantajları nedeniyle tercih edilmektedir. Bu bağlamda, siyanürün biyoyıkım süreçlerinde rol oynayan mikroorganizmaların tespiti, son yıllarda önemli bir çalışma konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Günümüzde halen siyanür biyoyıkımında kullanılacak potent suşlar ve bu suşların siyanür biyoyıkımında kullanılan enzimlerinin belirlenmesi için çalışmalar devam etmektedir.

Çalışmamızda, farklı *Klebsiella* türleri (*K. ornithinolytica*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. rhinoscleromatis* ve *K. terrigena*) siyanür biyoyıkım oranları açısından değerlendirildiğinde, en etkin siyanür biyoyıkımı yapan türlerin *K. pneumoniae* (% 95,28) ve *K. oxytoca* (% 98,27) olduğu bulundu. Çalışmada siyanür biyoyıkımı incelenen *K. ornithinolytica* ve *K. rhinoscleromatis* türlerinde yer alan suşlar arasında da %70'in üzerinde biyoyıkım yapan suşların varlığı göz önüne alındığında söz konusu suşların da uygun fizyolojik koşullar sağlandığı takdirde siyanür biyoyıkımında etkin olabilecekleri belirlendi. Bu bağlamda *Klebsiella* türlerinin siyanür biyoyıkımında potent mikroorganizma suşları olduğu saptandı. *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* türlerinin inkübasyonun ilk 24 saati içerisinde bile %70'in üzerinde siyanür biyoyıkımı yapıyor olmaları biyoyıkımda kullanılabilirlikleri için önemli bir etken olarak değerlendirildi. Buna ek olarak, *Klebsiella* türlerinin uygun fizyolojik koşulları *K. pneumoniae* türü için 0,5 mM potasyum siyanür konsantrasyonunda, pH 7'de, 25°C'de, 150 rpm çalkalama hızında, 3 gün, *K. oxytoca* türü için ise 0,5 mM potasyum siyanür konsantrasyonunda, pH 7'de, 30°C'de, 100 rpm çalkalama hızında, 5 gün olarak belirlendi. Bunun yanı sıra, *K.*

pneumoniae'nin 1 mM ve 1,5 mM konsantrasyonlar da %90'ın üzerinde biyoyıkım yapması, 2 mM siyanür konsantrasyonunda ise %50'nin üzerinde biyoyıkım yapıyor olması artan siyanür konsantrasyonlarında söz konusu türün kullanılabilirliğine işaret etmektedir. Benzer şekilde *K. oxytoca* da 1mM siyanür konsantrasyonunda %80'in üzerinde biyoyıkım yapmakta, 1,5mM ve 2mM siyanür konsantrasyonlarında ise siyanür biyoyıkımı azalmakla beraber halen devam etmektedir.

Endüstriyel süreçlerde çoğunlukla kullanılan pH 7 çalışmamızda da her iki *Klebsiella* türü için de uygun pH olarak belirlendi. Bunun yanı sıra, *K. pneumoniae*'nin pH 5 ile 9 arasında %90'ın üzerinde ve her iki *Klebsiella* türünün de çalışmada incelenen 3-10 geniş pH aralığında %70'in üzerinde biyoyıkım yapıyor olmaları *Klebsiella* türlerinin endüstriyel işlemlerde pH stabilitesi göstermeleri bakımından önem taşımaktadır. Buna ilave olarak, *K. pneumoniae* türünde 20-40°C, *K. oxytoca* türünde ise 25-45°C arasında siyanür biyoyıkımının %70'in üzerinde gerçekleştirdiği gözlemlendi. Bu bağlamda her iki *Klebsiella* türünün de siyanür biyoyıkımında sentezledikleri enzimlerinin geniş sıcaklık aralığında çalışıyor olması suşların endüstriyel kullanımını avantajlı hale getirmektedir. Endüstriyel arıtım süreçlerinde statik ve çalkalamalı inkübasyon koşulları kullanılmaktadır. Çalışmamızda *K. pneumoniae* türünün statik koşullarında bile %60'ın üzerinde biyoyıkım yapıyor olması söz konusu suşun endüstriyel işlemlerde az enerji kullanımı ile biyoyıkım yapabileceğine işaret etmektedir. Buna ek olarak 50-200 rpm arasında *K. pneumoniae*'de %70'in üzerinde, *K. oxytoca*'da ise %80'in üzerinde biyoyıkım yapıyor olmaları, *Klebsiella* türlerinin biyoyıkım işlemlerinde değişen çalkalama hızlarına adaptasyonları yönünden avantajlı bir parametre olarak karşımıza çıkmaktadır. Endüstriyel süreçlerde atık olarak farklı siyanür bileşikleri oluşturulmaktadır. Çalışmamızda kullanılan farklı siyanür kaynaklarından *K. pneumoniae*'nin potasyum hekzasiyanoferrat (II) trihidrat'ı %84, sodyum ferrosiyanür dekahidratı %87,5, *K. oxytoca*'nın ise %87,5 ve %78,5 oranında biyoyıkıma uğrattıkları belirlendi. Dolayısıyla uygun fizyolojik koşullar sağlandığında *Klebsiella* türlerinin farklı siyanür kaynaklarının da tamamen biyoyıkımın gerçekleştirebileceği görülmektedir. Endüstriyel atık sularda siyanürün beraberinde bulunabilecek değişen konsantrasyonlarda (0,1 mM, 0,25 mM ve 0,5 mM) farklı iyonların (magnezyum, nikel, kobalt, demir, kalsiyum, krom, arsenik,

bakır ve çinko) varlığında da *K. oxytoca*'nın biyoyıkım yapabildiği, *K. pneumoniae*'nin ise 0,5 mM bakır içeren ortam dışında diğer tüm iyonların varlığında siyanür biyoyıkımını gerçekleştirebileceği belirlendi. Bu bağlamda söz konusu *Klebsiella* türlerinin farklı kirleticilerinin varlığında da siyanür biyoyıkımı açısından aktif oldukları saptandı. Siyanür kirliliğinin *Klebsiella* türleri ile biyoyıkımının yapıldığı ortama tekrar siyanür kaynağı eklenmesi sonucunda ilave edilen siyanür kaynağının ilk 24 sonunda %50'den fazlasının biyoyıkıma uğratıldığı, inkübasyon süresinin uzamakla beraber biyoyıkımın tamamen gerçekleştirilebildiği belirlendi. Bu sonuç da suşların aynı ortamda tekrar kullanılabilirliklerine işaret etmektedir. *Klebsiella* kültürlerine ek olarak kültür süpernatantları ile de siyanür biyoyıkımı araştırılarak her iki *Klebsiella* türünün de kültür süpernatantlarındaki ekstrasellüler enzimlerin yer aldığı ve siyanür biyoyıkımında etkin oldukları belirlendi. Bu bağlamda gelecek çalışmalarda söz konusu enzimlerin saflaştırılması ile daha etkin sonuçlar elde edilebileceği sonucuna varıldı. Buna ek olarak *Klebsiella* suşlarının enzimlerinin immobilizasyonu ile uygulanabilecek siyanür biyoyıkım süreçleri oluşturularak siyanür biyoyıkım veriminin artırılabilirliği öngörülmektedir. *Klebsiella* kültür ve kültür süpernatantlarının sadece besiyerinde değil aynı zamanda laboratuvar ortamında hazırlanmış elektro-kaplama suyunda da %98-%99 oranında biyoyıkım yaptıkları, dolayısıyla söz konusu atık suyun arıtımında yüksek oranda aktif oldukları belirlendi. Metal kaplama sanayi atık suyunda ise *K. pneumoniae* kültürünün biyoyıkımda etkin olduğu (%94) belirlendi. Son olarak 6 mg/kg siyanür içeren topraklı ortamlarda ise *K. pneumoniae*'nin kültür ve kültür süpernatantının, *K. oxytoca*'nın kültür süpernatantının ve *K. pneumoniae* - *K. oxytoca* kültürünün etkin biyoyıkım yapabildiği belirlendi.

Sonuç olarak, çalışmamızda kullanılan *Klebsiella* türlerinin siyanürlü atıklardaki siyanürün biyoyıkımında değişen konsantrasyonlardaki farklı iyonların ve farklı siyanür kaynaklarının varlığında, kültür ve kültür süpernatantlarının kullanımı ile etkin biyoyıkım gerçekleştirebilecekleri belirlendi.

KAYNAKLAR

- [1] Luque-Almagro, V.M., Huertas, M.J., Martinez-Luque, M., Moreno-Vivian, C., Roldan, M.D., Garcia-Gil, L.G., Castillo, F., Blasco, R., Bacterial degradation of cyanide and its metal complexes under alkaline conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 940-947, **2005**.
- [2] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton, 43-44, **2006**.
- [3] Yanase, H., Sakamoto, A., Okamoto, K., Kita, K., Sato, Y., Degradation of the metal-cyano complex tetracyanonickelate (II) by *Fusarium oxysporum* N-10, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 53, 328-334, **2000**.
- [4] Patil, Y.B., Paknikar, K.M., Development of a process for detoxification of metal cyanides from waste waters, *Process Biochemistry*, 35, 1139-1151, **2000**.
- [5] Kao, C.M., Lin, C.C., Liu, J.K., Chen, Y.L., Wu, L.T., Chen, S.C., Biodegradation of the metal-cyano complex tetracyanonickelate (II) by *Klebsiella oxytoca*, *Enzyme and Microbial Technology*, 35, 405-410, **2004**.
- [6] Kao, C.M., Liu, J.K., Lou, H.R., Lin, C.S., Chen, S.C., Biotransformation of cyanide to methane and ammonia by *Klebsiella oxytoca*, *Chemosphere*, 50, 1055-1061, **2003**.
- [7] Chen, C.Y., Kao, C.M., Chen, S.C., Application of *Klebsiella oxytoca* immobilized cells on the treatment of cyanide wastewater, *Chemosphere*, 71, 133-139, **2008**.
- [8] Chatpawala, K.D., Babu, G.R.V., Vijaya, O.K., Kumar, K.P., Wolfram, J.H., Biodegradation of cyanides, cyanates and thiocyanates to ammonia and carbon dioxide by immobilized cells of *Pseudomonas putida*, *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 20, 28-33, **1998**.
- [9] Dash, R.R., Gaur, A., Balomajumder, C., Cyanide in industrial wastewaters and its removal: A review on biotreatment, *Journal of Hazardous Materials*, 163, 1-11, **2009**.
- [10] Dursun, A.Y., Çalık, A., Aksu, Z., Degradation of ferrous (II) cyanide complex ions by *Pseudomonas fluorescens*, *Biochemistry*, 34, 901-908, **1999**.
- [11] Dindar, E., Topaç Şağban, F.O., Başkaya, H.S., Kirlenmiş toprakların biyoremediasyon ile ıslahı, *Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi dergisi*, 15, 123-137, **2010**.
- [12] Ingvorsen, K., Hojer-Pedersen, B., Godtfredson, S.E., Novel cyanide hydrolyzing enzyme from *Alcaligenes xylosoxidans subsp. denitrificans*, *Applied and Environmental Microbiology*, 57, 1783-1789, **1991**.

- [13] Kowalska, M., Bodzek, M., Bohdziewicz, J., Biodegradation of phenols and cyanide using membranes with immobilized microorganisms, *Process Biochemistry*, 33, 189-197, **1998**.
- [14] Potivichayanon, S., Kitleartpornpairat, R., Biodegradation of cyanide by a novel cyanide-degrading bacterium, *World Academy of Science, Engineering and Technology*, 42, 1362-1365, **2010**.
- [15] Kaewkannetra, P., Imai, T., Garcia-Garcia, F.J., Chiu, T.Y., Cyanide removal from cassava mill wastewater using *Azotobacter vinelandii* TISTR 1094 with mixed microorganisms in activated sludge treatment system, *Journal of Hazardous Materials*, 172, 224-228, **2009**.
- [16] Atkinson, A., Bacterial cyanide detoxification, *Biotechnology and Bioengineering*, 17, 457-460, **1975**.
- [17] Meyers, P.R., Gokool, P., Rawlings, D.E., Woods, D.R., An efficient cyanide degrading *Bacillus pumilus* strain, *Journal of General Microbiology*, 137, 1397-1400, **1991**.
- [18] Mahunraj, P., Prabakaran, J.J., Kamaraj, M., Isolation and characterization of potential cyanide degrading *Bacillus nealsonii* from different industrial effluents, *International Journal of ChemTech Research*, 5, 2357-2364, **2013**.
- [19] Castric, P.A., Strobel, G.A., Cyanide metabolism by *Bacillus megaterium*, *The Journal of Biological Chemistry*, 244, 4089-4094, **1969**.
- [20] Adjei, M.D., Ohta, Y., Factors effecting the biodegradation of cyanide by *Burkholderia cepacia* strain C-3, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 89, 274-277, **2000**.
- [21] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton, 95, **2006**.
- [22] Figueira, M.M., Ciminelli, S.T.V., Andrade, M.C., Linardi, V.R., Cyanide degradation by an *Escherichia coli* strain, *Canadian Journal of Microbiology*, 42, 519-523, **1996**.
- [23] Barclay, M., Hart, A., Knowles, C.J., Meeussen, J.C.L., Tett, V.A., Biodegradation of metal cyanides by mixed and pure cultures of fungi, *Enzyme and Microbial Technology*, 22, 223-231, **1998**.
- [24] Dumestre, E., Chare, T., Portal, J., Gerard, M., Berthelin, J., Cyanide degradation under alkaline conditions by a strain of *Fusarium solani* isolated from contaminated soils, *Applied and Environmental Biotechnology*, 63, 2729-2734, **1997**.
- [25] Pereira, P.T., Arrabaça, J.D., Amaral-Collaco, M.T., Isolation, selection and characterization of a cyanide-degrading fungus from an industrial effluent, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 45-52, **1996**.

- [26] Nolan, L.M., Harnedy, P.A., Turner, P., Hearne, A.B., O'Reilly, C., The cyanide hydratase enzyme of *Fusarium lateritium* also has nitrilase activity, *FEMS Microbiology Letters*, 221, 161-165, **2003**.
- [27] Aksu, Z., Çalık, A., Dursun, A.Y., Demircan, Z., Biosorption of iron (III) cyanide complex anions to *Rhizopus arrhizus*: application of adsorption isotherms, *Process Biochemistry*, 34, 483-491, **1999**.
- [28] Kwon, H.K., Woo, S.H., Park, J.M., Degradation of tetracyanonickelate (II) by *Cryptococcus humicolus* MCN2, *FEMS Microbiology Letters*, 214, 211-216, **2002**.
- [29] Bhattacharya, R., Flora, S.J.S., Cyanide toxicity and its treatment, *Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*, 255-270, **2009**.
- [30] Perumal, M., Prabakaran, J.J., Kamaraj, M., Isolation and characterization of potential cyanide degrading *Bacillus nealsonii* from different industrial effluents, *International Journal of ChemTech Research*, 5, 2357-2364, **2013**.
- [31] Gupta, N., Balomajumber, C., Agarwal, V.K., Enzymatic mechanism and biochemistry for cyanide degradation: A review, *Journal of Hazardous Material*, 176, 1-13, **2010**.
- [32] Baxter, J., Cummings, S.P., The current and future applications of microorganism in the bioremediation of cyanide contamination, *Antonie van Leeuwenhoek*, 90, 1-17, **2006**.
- [33] Dubey, S.K., Holmes, D.S., Biological cyanide destruction mediated by microorganisms, *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 11, 257-265, **1995**.
- [34] Ebbs, S., Biological degradation of cyanide compounds, *Current Opinion in Biotechnology*, 15, 231-236, **2004**.
- [35] Chen, C.Y., Kao, C.M., Chen, S.C., Chen, T.Y., Biodegradation of tetracyanonickelate by *Klebsiella oxytoca* under anaerobic conditions, *Desalination*, 249, 1212-1216, **2009**.
- [36] Özel, Y.K., Gedikli, S., Aydar, P., Ünal, A., Yamaç, M., Çabuk, A., Kolonkaya, N., New fungal biomasses for cyanide biodegradation, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 110, 431-435, **2010**.
- [37] Knowles, C.J., Microorganisms and cyanide, *Bacteriological Reviews*, 40, 652-680, **1976**.
- [38] Zagrobelny, M., Bak, S., Moller, B.L., Cyanogenesis in plants and arthropods, *Phytochemistry*, 69, 1457-1468, **2008**.
- [39] Kremer, R.J., Souissi, T., Cyanide production by *Rhizobacteria* and potential for suppression of weed seedling growth, *Current Microbiology*, 43, 182-186, **2001**.

- [40] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton, 28-38, **2006**.
- [41] Cabuk, A., Taspinar Unal, A., Kolankaya, N., Biodegradation of cyanide by a White rod fungus, *Trametes versicolor*, *Biotechnological Letters*, 28, 1313-1317, **2006**.
- [42] Akcil, A., Karahan, A.G., Ciftci, H., Sagdic, O., Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas sp.*), *Minerals Engineering*, 16, 643-649, 2003.
- [43] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton, 43-44, **2006**.
- [44] Dursun, A.Y., Aksu, Z., Effect of internal diffusivity of ferrous (II) cyanide complex ions in Ca-alginate immobilized *Pseudomonas fluorescens* gel beads on the biodegradation rate, *Process Biochemistry*, 37, 747-752, **2002**.
- [45] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton, 227-228, **2006**.
- [46] Dwivedi, N., Majumder, C.B., Mondal, P., Dwivedi, S., Biological treatment of cyanide containing waste water, *Research Journal of Chemical Sciences*, 1, 15-21, **2011**.
- [47] Kumar, V., Kumar, V., Bhalla, T.C., In vitro cyanide degradation by *Serratia marcescens* RL2b, *International Journal of Environmental Sciences*, 3, 1969-1979, **2013**.
- [48] Nwokoro, O., Dibua, M.E.U., Degradation of soil cyanide by single and mixed cultures of *Pseudomonas stutzeri* and *Bacillus subtilis*, *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 65, 113-119, **2014**.
- [49] Maniyam, M.N., Sjahrir, F., Ibrahim, A.L., Bioremediation of cyanide by optimized resting cells of *Rhodococcus* strains isolated from Peninsular Malaysia, *International Journal of Bioscience*, 1, 98-101, **2011**.
- [50] Renklidağ, T., Karaman, A.G., Siyanür Zehirlenmesi, *Sted*, 12, 350-353, **2003**.
- [51] Yarar, B., Cyanides in the environment and their long-term fate, *International Mining Congress an Exhibition of Turkey*, 85-92, **2001**.
- [52] Mirizadeh, S., Yangmaei, S., Nejad, Z.G., Biodegradation of cyanide by a new isolated strain under alkaline conditions and optimization by response surface methodology (RSM), *Journal of Environmental Health Science & Engineering*, 12, 1-9, **2014**.

- [53] Barclay, M., Tett, V.A., Knowles, C.J., Metabolism and enzymology of cyanide metallocyanide biodegradation by *Fusarium solani* under neutral and acidic conditions, *Enzyme and Microbial Technology*, 23, 321-330, **1998**.
- [54] Cluness, M.J., Turner, P.T., Clements, E., Brown, D.T., O'Reilly, C., Purification and properties of cyanide hydratase from *Fusarium lateritium* and analysis of the corresponding chy1 gene, *Journal of General Microbiology*, 139, 1807-1815, **1993**.
- [55] Sorokin, P.Y., Tourova, T.P., Lysenko, A.M., Kuenen, J.G., Microbial thiocyanate utilization under highly alkaline conditions, *Applied and Environmental Microbiology*, 67, 528-538, **2001**.
- [56] Çabuk, A., Beyaz Çürükçül Funguslarla Siyanür Biyodegradasyonu, Doktora Tezi, Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, **2015**.
- [57] Sankaranarayanan, A., Gowthami, M., Cyanide degradation by consortium of bacterial species isolated from sago industry effluent, *Journal of Environmental Treatment Techniques*, 3, 41-46, **2015**.
- [58] Ricano-Rodriguez, Ramirez-Lepe, M., Purification and characterization of a cyanide-degrading nitrilase from *Trichoderma harzianum* VSL291, *Turkish Journal of Biology*, 39, 248-257, **2015**.
- [59] Ezzi, M.I., Lynch, J.M., Biodegradation of cyanide by *Trichoderma* spp. and *Fusarium* spp., *Enzyme and Microbial Technology*, 36, 849–854, **2005**.
- [60] Mekuto, L., Ntwampe, S.K.O., Jackson, V.A., Biodegradation of free cyanide and subsequent utilisation of biodegradation by-products by *Bacillus* consortia: optimisation using response surface methodology, *Environmental Science and Pollution Research*, 22, 10434-10443, **2015**.
- [61] Gurbuz, F., Ciftci, H., Akcil, A., Biodegradation of cyanide containing effluents by *Scenedesmus obliquus*, *Journal of Hazardous Materials*, 162, 74-79, **2009**.
- [62] Watanabe, A., Kazuyoshi, Y., Ikebukuro, K., Karube, I., Cyanide hydrolysis in a cyanide degrading bacterium, *Pseudomonas stutzeri* AK61, by cyanidase, *Microbiology*, 144, 1677-1682, **1998**.
- [63] Harris, R., KNOWLES, C.J., Isolation and growth of a *Pseudomonas* species that utilizes cyanide as a source of nitrogen, *Journal of General Microbiology*, 129, 1005-1011, **1983**.
- [64] Kunz, D.A., Nagappan, O., Silva-Alvalos, J., Delong, G.T., Utilization of cyanide as a nitrogenous substrate by *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764, Evidence for multiple pathways of metabolic conversion, *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 2022-2029, **1992**.
- [65] Kunz, D.A., Wong, C.S., Chen, J.L., Alternative routes of enzymatic cyanide metabolism in *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764, *Microbiology*, 140, 1705-1712, **1994**.

- [66] Dursun, A.Y., Aksu, Z., Biodegradation kinetics of ferrous (II) cyanide complex ions by immobilized *Pseudomonas fluorescens* in a packed bed column reactor, *Process Biochemistry*, 35, 615-622, **2000**.
- [67] Wang, C., Kunz, D.A., Venables, B.J., Incorporation of molecular oxygen and water during enzymatic oxydation of cyanide by *Pseudomonas fluorescens* NCIMB 11764, *Applied and Environmental Microbiology*, 62, 2195-2197, **1996**.
- [68] Karavaiko, G.I., Kondrat'eva, T.F., Savari, E.E., Grigor'eva, N.V., Avakyan, Z.A., Microbial degradation of cyanide and tiocyanate, *Microbiology*, 69, 167-173, **2000**.
- [69] Abdoul-Raimi, B., Ara, B.S., Ynoussa, M., Nosa O.E., Biodegradation of Cyanide Complex Compounds in Aqueous Media by *Pseudomonas resinovorans*, *Environmental Engineering Science*, 30, 757-764, **2013**.
- [70] Santoshkumar, M., Veeranagouda, Y., Lee, K., Karegoudar, Utilization of aliphatic nitrile by *Paracoccus* sp. SKG isolated from chemical waste samples, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 65, 153-159, **2011**.
- [71] Ibrahim, K.K., Syed, M.A., Shukor, M.Y., Ahmad, S.A., Effect of heavy metals on cyanide biodegradation by resting cells of *Serratia marcescens* strain AQ07, *Journal of Environmental Microbiology and Toxicology*, 2, 58-60, **2014**.
- [72] Singh, N., Agarwal, B., Majumder, C.B., Comparative studies on simultaneous biodegradation of phenol and cyanide using different strains, *International Journal of Engineering Research and Applications*, 4, 827-831, **2014**.
- [73] Maniyam, M.N., Sjahrir, F., Ibrahim, A.L., Cass, A.E.G., Cyanide degradation by immobilized cells of *Rhodococcus* UKMP-5M, *Biologia*, 67, 837-844, **2012**.
- [74] Chaudhari, A.U., Kodam, K.M., Biodegradation of thiocyanate using co-culture of *K. pneumoniae* and *Ralstonia* sp., *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85, 1167-1174, **2010**.
- [75] Ürkmez, N.H., *Klebsiella* Suşlarının Antibiyotik Dirençliliğinin ve Plazmid Profillerinin Araştırılması ve Tiplendirilmesi, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2007**.
- [76] <http://atccmicrobiology.blogspot.com.tr/2013/09/rapid-and-sensitive-detection-of-blakpc.html> (**Aralık, 2015**)
- [77] Mahon, C.R., Manuselis, G., Textbook of Diagnostic Microbiology, 472-475. **2000**.
- [78] Alves, M.S., Dias, R.C.S., Castro, A.C.D., Lee, W.R., Moreira, B.M., Identification of clinical isolates of indole-positive and indole-negative *Klebsiella* spp., *Journal of Clinical Microbiology*, 44, 3640-3646, **2006**.

- [79] Ciu, D., Li, G., Zhao, D., Gu, X., Wong, C., Zhao, M., Microbial community structures in mixed bacterial consortia for azo dye treatment under aerobic and anaerobic conditions, *Journal of Hazardous Materials*, 221-222, 185-192, **2012**.
- [80] Franciscon, E., Zille, A., Fountinatti-Garboggini, F., Silva, I.S., Cavaco-Paulo, A., Durrant, L.R., Microaerophilic-aerobic sequential decolorizational biodegradation of textile azo dyes by a facultative *Klebsiella sp.* strain VN-31, *Process Biochemistry*, 44, 446-452, **2009**.
- [81] Shawabkeh, R., Khleifat, K., Al-Majali, I., Tarawneh, K., Rate of Biodegradation of Phenol by *Klebsiella oxytoca* in Minimal Medium and Nutrient Broth Conditions, *Bioremediation Journal*, 11, 13-19, **2007**.
- [82] Daware, V., Kesavan, A., Patil, R., Natu, A., Effects of arsenite stress on growth and proteome of *K. pneumoniae*, *Journal of Biotechnology*, 158, 8-16, **2012**.
- [83] Fishier, F.B., Brown, J.S., Colorimetric determination of cyanide in stack gas and waste water, *Analytical Chemistry*, 24,1440-1444, **1952**.
- [84] Greenberg, A.E., Clesceri, L.S. and Eaton, A.D., Standart Methods for the water and waste water, 1137, **1992**.
- [85] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton, 528-540, **2006**.
- [86] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton, 1-15, **2006**.
- [87] Dzombak, D.A., Ghosh, R.S., Wong-Chong, G.M., *Cyanide in Water and Soil, Chemistry, Risk and Management*, Taylor&Francis, Boca Raton,108-110, **2006**.
- [88] Khamar, Z., Makhdoumi- Kakhki, A., Mahmudy Gharaie, M.H., Remediation of cyanide from the gold mine tailing pond by a novel bacterial co-culture, *International Biodeterioration and Biodegradation*, 99, 123-128, **2015**.
- [89] Arbabi, M., Masoudipour, N., Amiri, M., Negative effects of cyanide on health and its removal options from industrial wastewater, *International Journal of Epidemiological Research*, 2, 44-49, **2015**.
- [90] Kaewkannetra, P., Imai, T., Garcia-Garcia, F.J., Chiu, T.Y., Cyanide removal from cassava mill waste water using *Azotobacter vinelandii* TISTR 1094 with mixed microorganisms in activated sludge treatment system, *Journal of Hazardous Materials*, 172, 224-228, **2009**.
- [91] Jeong, Y.S., Chung, J.S., Biodegradation of thiocyanate in biofilm reactor using fluidized-carriers, *Process Biochemistry*, 41, 701-707, **2006**.

- [92] Parmar, P., Soni, A., Desai, P., Enzymatic study of cyanide utilizing *Pseudomonas* species isolated from contaminated soil, *Journal of Scientific and Innovative Research*, 2, 1058-1066, **2013**.
- [93] Supromin, N., Potivihayanon, S., Toensakes, R., Degradation of metal-cyanide from real electroplating wastewater by mixed culture of SUTS1 and SUTS2, *3rd International conference on Biological, Chemical and Environmental Sciences*, Kuala Lumpur, Malazia, 75-80, **2015**.
- [94] Dünyada ve Türkiye’de Altın Madenciliği, <http://kozaaltin.com.tr/upl/turkiyemadencilerdernegialtin>, (Aralık, **2015**).
- [95] Yu, X., Xu, R., Wei, C., Wu, H., Removal of cyanide compounds from coking wastewater by ferrous sulfate: Improvement of biodegradability, *Journal of Hazardous materials*, 302, 468-474, 2016.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı: Nermin Hande AVCIOĞLU

Doğum Yeri: İzmir

Medeni Hali: Evli

E-posta: hurkmez@hacettepe.edu.tr

Adresi: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Beytepe Kampüsü ANKARA

Eğitim

Lise: Milli Piyango Anadolu Lisesi, İzmir.

Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Ankara

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

Doktora: Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Bölümü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce-ÜDS (88,75)

İş Deneyimi

17.08.2007 -: Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü, Biyoteknoloji Anabilim Dalı, Ankara.

Deneyim Alanları

Mikrobiyoloji, Biyoteknoloji

Tezden Üretilmiş Proje ve Bütçesi

Bu çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi tarafından bütçesi 18900,25 TL olan 014 D03 601 004 no'lu proje ile desteklenmiştir.

Tezden Üretilmiş Yayınlar

(-)

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

Avcioğlu, N.H., Seyis Bilkay, I., Siyanür Bileşiklerinin *K. pneumoniae* ve *K. oxytoca* ile Biyoyıkımı, 18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, 18-19 Aralık 2015, Konya (Poster Sunumu).

Avcioğlu, N.H., Seyis Bilkay, I., *Klebsiella oxytoca* ile Siyanür Biyoyıkımı için Uygun Fizyolojik Koşulların Araştırılması, 18. Ulusal Biyoteknoloji Kongresi, 18-19 Aralık 2015, Konya (Poster Sunumu).