

***Saccharomyces cerevisiae* İLE PİRİT KÜLÜNÜN
BİYODESÜLFÜRİZASYON SÜRECİNİN
MODELLENMESİ**

Yakup ERMURAT

**Doktora Tezi
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı
Doç. Dr. Turan ÇALBAN
2013
Her Hakkı Saklıdır**

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

Saccharomyces cerevisiae İLE PİRİT KÜLÜNÜN
BIYODESÜLFÜRİZASYON SÜRECİNİN MODELLENMESİ

Yakup ERMURAT

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ERZURUM
2013

Her Hakkı Saklıdır



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TEZ ONAY FORMU

Saccharomyces cerevisiae İLE PİRİT KÜLÜNÜN BİYODESÜLFÜRİZASYON
SÜRECİNİN MODELLENMESİ

Doç. Dr. Turan ÇALBAN danışmanlığında, Yakup ERMURAT tarafından hazırlanan bu çalışma 18/03/2013 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından. Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Doktora tezi olarak oybirliği/oy çokluğu (.../...) ile kabul edilmiştir.

Başkan : .Prof. Dr. M. MuhtarUHTAR KOCAKERİM İmza :

Üye : Doç. Dr. TURAN ÇALBAN İmza :

Üye : Doç. Dr. KEMAL ÇOMAKLI İmza :

Üye : Doç. Dr. SONER KUŞLU İmza :

Üye : Doç. Dr. FATİH SEVİM İmza :

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum


Prof. Dr. İhsan EFEOĞLU
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaklardan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak olarak kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Doktora Tezi

***Saccharomyces cerevisiae* İLE PİRİT KÜLÜNÜN BİYODESÜLFÜRİZASYON SÜRECİNİN MODELLENMESİ**

Yakup ERMURAT

Atatürk Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Turan ÇALBAN

Pirit külünde bulunan kükürdün (%0,5), *Saccharomyces cerevisiae* ve *Acetobacter aceti* kullanılarak giderilmesi için kesikli sıvı durum tepkime kabı içinde yapılan biyodesülfürizasyon işlemlerinin Michaelis-Menten ve Monod kinetik modellemesi ve aktivasyon enerji belirlemesi çalışılmıştır. Biyodesülfürizasyon deneyleri; 25°C, 30°C ve 35°C sıcaklıklarda sekiz haftada yapılmıştır. Glikoz, asetik asit ve etil alkol biyokimyasalları büyüme ortamında besin ve asit kaynağı olarak kullanılmıştır. Deneyler esnasında kükürt, Fe(III), proton (H⁺) ve redoks potansiyeli (mV) değişimleri gözlemlenmiştir. Kükürt giderimi yüzdesi ve Fe(III) yüzdesi hesaplanmış ve pH ve mV değişimlerinden elde edilen polinom eşitliklerden [Fe⁺³/Fe⁺²] oranı elde edilmiştir. Michaelis-Menten tepkime oranları ve kinetik sabitleri, pH değişiminden elde edilen Fe(II)'ye bağlı kükürt değişiminden ve Monod tepkime oranları ve kinetik sabitleri ise mV değişiminden elde edilen Fe(II) değerlerinden hesaplanmıştır. Biyodesülfürizasyon deneyleri için seçilen parametreler içerisinde *S.cerevisiae* ve *A. aceti*'nin kullanıldığı (Su+Pirit külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+ *A. aceti*) proseslerinde 35°C'de giderim en yüksek (%49,9) olarak bulunmuştur. Fe(III) dönüşümü %0,52 oranında gerçekleşirken, ortalama en düşük pH 4,7 ve ortalama en yüksek redoks potansiyeli 218 mV olmuştur. *S. cerevisiae*'nin pirit külü yanında diğer düşük yüzdeli kükürt içeren madenlerin biyodesülfürizasyon işlemlerinde de kullanılabileceği tespit edilmiştir.

2013, 112 sayfa

Anahtar Kelimeler: *Saccharomyces cerevisiae*, pirit külü, biyodesülfürizasyon, modelleme, kinetik

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

MODELING THE BIODESULFURIZATION PROCESS OF PYRITE ASH WITH *Saccharomyces cerevisiae*

Yakup ERMURAT

Atatürk University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Doç. Dr. Turan ÇALBAN

Modeling the kinetics of the biodesulfurization bioprocess for the refining of pyrite (FeS_2) ash by *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter aceti* have been studied in batch-type liquid-state bioreactors. The biodesulfurization experiments were performed at varying temperatures of 25°C, 30°C and 35°C for eight weeks. Glucose, acetic acid and ethyl alcohol were used in the incubation media as substrate and acid source. Sulfur, ferric iron (Fe^{+3}), proton (H^+) and redox potential (mV) changes were observed during the experiments. The percentages of the sulfur and ferric iron have been calculated and the ferric to ferrous iron [$\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}$] ratios have been determined by using the polynomial equations of pH and mV changes. The Michaelis-Menten predictive specific growth rates and activation energies were estimated from the observations of the pH related Fe(II) equivalent sulfur changes and the Monod kinetic constants were determined from the redox potential related ferros iron changes. The pyrite ash biodesulfurization processes using *S.cerevisiae* and *A. aceti* with the selected parameters in (Water+Pyrite ash+Glucose+Alcohol+Asetic acid+S. *cerevisiae*+ *A. aceti*) at 35°C has shown 49% of sulfur removal. While ferric iron biooxidation was found to be % 0.52. The observations of the average min pH was found to be 4,7 and the average maximum ORP was found to be 218 mV. The percentages of the dissolved sulfur have shown some future promising results for *S. cerevisiae* to be used as a biodesulfurization and refining microorganism for pyrite ash.

2013, 112 pages

Keywords: *Saccharomyces cerevisiae*, pyrite ash, biodesulfurization, modeling, kinetic

TEŞEKKÜR

Bu alışmadaki yardım ve desteklerinden dolayı tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Turan ÇALBAN'a teşekkür ederim. Ayrıca, çalışmalarım esnasında yardımlarından dolayı Sayın Prof. Dr. Sabri ÇOLAK, Sayın Prof. Dr. M. Muhtar KOCAKERİM, Ms. Prof. Dr. Joanne M. SAVINEL BELOVICH, Sayın Prof. Dr. Sinan YAPICI, Sayın Prof. Dr. Ahmet ERDOĞAN, Sayın Prof. Dr. Mehmet ÇOPUR, Sayın Prof. Dr. Recep BONCUKÇUOĞLU, Sayın Prof. Dr. Taner TEKİN, Sayın Yrd. Doç. Dr. İbrahim KARATAŐ, Sayın Dr. Derya TEKİN, Sayın ArŐ. Gör. Zeynep KARCIOĞLU KARATAŐ'a ve çalışmalarımda destek olan Kimya Mühendisliği ve evre Mühendisliği bölümleri akademik ve idari personellerine teŐekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarım süresince desteklerinden dolayı ailem, yakınlarım ve öğrencilerime Őükranlarımı sunarım.

Yakup ERMURAT

Mart, 2013

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	3
2.1. Pirit Minerali	3
2.1.1. Pirit külü.....	4
2.2. Biyodesülfürizasyon Süreci.....	5
2.3. Pirit Külünün Biyodesülfürizasyonu	11
2.3.1. Biyodesülfürizasyon enzimleri.....	11
2.3.2. Demirin biyooksitlenmesi	14
2.3.3. Kükürdün biyooksitlenmesi	15
2.4. Mikroorganizmalar ve Mineraller Arasındaki İlişki	17
2.4.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ve <i>Acetobacter aceti</i>	20
2.4.2. Mikroorganizmaların mineral yüzeyine tutunması	22
2.4.3. Mineral yüzeyinde biyofilm oluşumu	23
2.5. Pirit Külü Biyodesülfürizasyon İşleminin Stokiyometrisi	24
2.6. Demir ve Kükürdün Çözünmesi.....	24
2.7. Nernst Eşitliği.....	25
2.8. Michaelis-Menten ve Monod Modellerinin Uygulanması	26
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	34
3.1. Materyallerin Temini ve Hazırlanması.....	34
3.2. Deneyleerde Kullanılan Araç ve Gereçler	35
3.3. Deneyle Tasarımı, Analiz ve İşlem Yöntemleri.....	35
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....	38
4.1. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>A. aceti</i> 'nin Ayrılması ve Büyümesi	39

4.2. Biyodesülfürizasyon Denemeleri	41
4.2.1. Biyodesülfürizasyon sürecinde gerçekleşen biyoliçing yöntemleri	41
4.3. <i>S. cerevisiae</i> ve <i>A. aceti</i> 'nin Pirit Mineral Yüzeyine Tutunması	43
4.3.1. Pirit mineral yüzeyinde biyofilm oluşumu	43
4.4. Biyodesülfürizasyon Denemelerinde Kullanılan Parametreler	44
4.5. Sıcaklığın Biyodesülfürizasyon Sürecine Etkisinin İncelenmesi	45
4.5.1. Sıcaklığın biyodesülfürizasyon sürecinde Fe(III) oluşumuna etkisi	45
4.5.2. Sıcaklığın kükürt biyooksitlenmesine etkisi.....	50
4.5.2.1. Kükürt ve Fe(II)'nin stokiyometrik olarak elde edilmesi.....	58
4.5.3. Sıcaklığın pH'ın değişimine etkisi	59
4.5.4. Sıcaklığın redoks potansiyeli (mV)'nin değişimine etkisi	68
4.5.5. Ortalama pH ve ortalama mV'un sıcaklıklar ile değişimi.....	78
4.5.6. pH ve mV ile $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi	78
4.5.7. $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'dan elde edilen kükürdün değişimi.....	81
4.6. Fe(II) Biyooksitlenme Oranı ($q_{Fe^{+2}}$).....	84
4.7. Pirit Tüketim Oranının (r_{FeS_2}) Değişimi	87
4.8. Michaelis-Menten ve Monod Kinetik Modellerinin Uygulanması	90
4.9. Michaelis-Menten ve Monod Katsayılarına Bağlı Aktivasyon Enerjisinin Belirlenmesi	98
5. SONUÇ	100
KAYNAKLAR	103
ÖZGEÇMİŞ	113

SİMGELER DİZİNİ

A	: Arrhenius sabiti
C	: Derişim (mol L^{-1})
E	: Enzim
E_a	: A maddesi için aktivasyon enerjisi
E_H	: Elektrik potansiyeli
E_o	: Standart elektron potansiyeli
F	: Faraday sabiti (C mol^{-1})
K, k	: Tepkime denge sabiti
K_a	: Adsorpsiyon denge sabiti
K_{MM}	: Michaelis - Menten sabiti
K_M	: Monod sabiti
n	: Elektron sayısı
P	: Ürün
q	: Mikrobiyal spesifik büyüme oranı ($\text{mol (mol C)}^{-1}\text{h}^{-1}$)
q^{mak}	: Maksimum spesifik büyüme oranı ($\text{mol Fe}^{+2}(\text{mol C})^{-1}\text{h}^{-1}$)
r	: Tepkime oranı
r_y	: Yarıçap
r_{FeS_2}	: Kimyasal pirit tüketim oranı ($\text{mol Fe}^{+2} \text{L}^{-1} \text{h}^{-1}$)
r_{MM}	: Michaelis - Menten tepkime oranı
r_{MMmak}	: Michaelis - Menten maksimum tepkime oranı
r_M	: Monod tepkime oranı
r_{Mmak}	: Monod maksimum tepkime oranı
R_g	: Üniversal gaz sabiti
R	: Küresel partikül çapı
S	: Besin
T	: Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)
t	: Süre
X	: Mikroorganizma sayısı (cfu ml^{-1})

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Pirit mineralinin görünüşü ve kristal yapısı	3
Şekil 2.2. Mikroorganizma ile mineral arasında gerçekleşen biyokimyasal tepkimeler.....	16
Şekil 3.1. Pirit külünün tane büyüklüğü grafiği.....	34
Şekil 3.2. Deney odaları, araç ve gereçleri	35
Şekil 4.1. Biyodesülfürizasyon sürecinde kullanılan <i>S. cerevisiae</i> ve <i>A. aceti</i> mikroorganizmaları	39
Şekil 4.2. Pirit külü çözeltilinde yaşayabilen değişik mikroorganizmalar (a- Lactobacillus, b- funji).	40
Şekil 4.3. Deneyleerde gerçekleşen biyoliçing yöntemleri	42
Şekil 4.4. Pirit mineraline <i>S. cerevisiae</i> 'nin tutunması ve biyofilm oluşumu.....	44
Şekil 4.5. Biyokimyasal süreçte 25°C'de %Fe(III)'ün değişimi.	47
Şekil 4.6. Biyolojik süreçte 25°C'de %Fe(III)'ün değişimi.	48
Şekil 4.7. Biyokimyasal süreçte 30°C'de %Fe(III)'ün değişimi.	48
Şekil 4.8. Biyolojik süreçte 30°C'de %Fe(III)'ün değişimi.	49
Şekil 4.9. Biyokimyasal süreçte 25°C'de % kükürdün değişimi.	54
Şekil 4.10. Biyolojik süreçte 25°C'de % kükürdün değişimi	54
Şekil 4.11. Biyokimyasal süreçte 35°C'de % kükürdün değişimi.	55
Şekil 4.12. Biyolojik süreçte 35°C'de % kükürdün değişimi.	55
Şekil 4.13. Biyokimyasal süreçte çözünen sülfürün toplam sülfüre oranı ($S_ç/S_t$).	57
Şekil 4.14. Biyolojik süreçte çözünen sülfürün toplam sülfüre oranı ($S_ç/S_t$).....	57
Şekil 4.15. Biyokimyasal süreçte 25°C'de pH değerlerinin değişimi	62
Şekil 4.16. Biyolojik süreçte 25°C'de pH değerlerinin değişimi	63
Şekil 4.17. Biyokimyasal süreçte 30°C'de pH değerlerinin değişimi.....	63
Şekil 4.18. Biyolojik süreçte 30°C'de pH değerlerinin değişimi.....	64
Şekil 4.19. Biyokimyasal süreçte 35°C'de pH değerlerinin değişimi.....	64
Şekil 4.20. Biyolojik süreçte 35°C'de pH değerlerinin değişimi.....	65
Şekil 4.21. Biyokimyasal süreçte en düşük pH değerleri	65
Şekil 4.22. Biyolojik süreçte en düşük pH değerleri	66

Şekil 4.23. Biyokimyasal süreçte 25°C’de mV değerlerinin değişimi	71
Şekil 4.24. Biyolojik süreçte 25°C’de mV değerlerinin değişimi	72
Şekil 4.25. Biyokimyasal süreçte 30°C’de mV değerlerinin değişimi	72
Şekil 4.26. Biyolojik süreçte 30°C’de mV değerlerinin değişimi	73
Şekil 4.27. Biyokimyasal süreçte 35°C’de mV değerlerinin değişimi	73
Şekil 4.28. Biyolojik süreçte 35°C’de mV değerlerinin değişimi	74
Şekil 4.29. Biyokimyasal süreçte en yüksek mV değerleri	77
Şekil 4.30. Biyolojik süreçte en yüksek mV değerleri.....	77
Şekil 4.31. Biyolojik süreçte 25°C’de $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’dan bulunan %kükürt’ün değişimi.....	82
Şekil 4.32. Biyolojik süreçte 30°C’de $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’dan bulunan %kükürt.....	82
Şekil 4.33. Biyolojik süreçte 35°C’de $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’dan bulunan %kükürt.....	83
Şekil 4.34. Biyolojik süreçte 25°C’de $(q_{Fe^{+2}})$ ’nin değişimi.....	85
Şekil 4.35. Biyolojik süreçte 30°C’de $(q_{Fe^{+2}})$ ’nin değişimi.....	86
Şekil 4.36. Biyolojik süreçte 35°C’de $(q_{Fe^{+2}})$ ’nin değişimi.....	86
Şekil 4.37. Biyolojik süreçte 25°C’de (r_{FeS_2}) ’nin süre ile değişimi	88
Şekil 4.38. Biyolojik süreçte 30°C’de (r_{FeS_2}) ’nin süre ile değişimi	88
Şekil 4.39. Biyolojik süreçte 35°C’de (r_{FeS_2}) ’nin süre ile değişimi	89
Şekil 4.40. Biyolojik süreçte 25°C’de $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’dan bulunan kükürt için Michaelis- Mentenin Eadie-Hofsee değişimi.....	91
Şekil 4.41. Biyolojik süreçte 30°C’de $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’dan bulunan kükürt için Michaelis- Menten değişimi.....	91
Şekil 4.42. Biyolojik süreçte 35°C’de $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’dan bulunan kükürt için Michaelis- Menten değişimi.....	92
Şekil 4.43. Biyolojik süreçte 25°C’de $[FeII]_{mV}$ için Monod değişimi	95
Şekil 4.44. Biyolojik süreçte 30°C’de $[FeII]_{mV}$ için Monod değişimi	95
Şekil 4.45. Biyolojik süreçte 35°C’de $[FeII]_{mV}$ için Monod değişimi	96

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Biyokimyasal süreçte 25°C’de %Fe(III) değerleri	46
Çizelge 4.2. Biyolojik süreçte 25°C’de %Fe(III) değerleri	46
Çizelge 4.3. Biyokimyasal süreçte 30°C’de %Fe(III) değerleri	47
Çizelge 4.4. Biyolojik süreçte 30°C’de %Fe(III) değerleri	47
Çizelge 4.5. Biyokimyasal süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri.....	49
Çizelge 4.6. Biyolojik süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri	49
Çizelge 4.7. Biyokimyasal süreçte 30°C’de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri.....	49
Çizelge 4.8. Biyolojik süreçte 30°C’de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri	50
Çizelge 4.9. Biyokimyasal süreçte 25°C’de %kükürt değerleri	52
Çizelge 4.10. Biyolojik süreçte 25°C’de %kükürt değerleri	52
Çizelge 4.11. Biyokimyasal süreçte 30°C’de %kükürt değerleri	52
Çizelge 4.12. Biyolojik süreçte 30°C’de %kükürt değerleri	53
Çizelge 4.13. Biyokimyasal süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri.....	56
Çizelge 4.14. Biyolojik süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri.....	56
Çizelge 4.15. Biyokimyasal süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri.....	56
Çizelge 4.16. Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri.....	56
Çizelge 4.17. Biyokimyasal süreçte 25°C’de Fe(II) ve kükürt’ün stokiyometrik değerleri.....	58
Çizelge 4.18. Biyolojik süreçte 30°C’de Fe(II) ve kükürt’ün stokiyometrik değerleri ..	58
Çizelge 4.19. Biyokimyasal süreçte 30°C’de Fe(II) ve kükürt’ün stokiyometrik değerleri.....	59
Çizelge 4.20. Biyolojik süreçte 30°C’de Fe(II) ve kükürt’ün stokiyometrik değerleri ..	59
Çizelge 4.21. Biyokimyasal süreçte 25°C’de bulunan pH değerleri	60
Çizelge 4.22. Biyolojik süreçte 25°C’de bulunan pH değerleri	60
Çizelge 4.23. Biyokimyasal süreçte 30°C’de bulunan pH değerleri	61

Çizelge 4.24. Biyolojik süreçte 30°C’de bulunan pH değerleri	61
Çizelge 4.25. Biyokimyasal süreçte 35°C’de bulunan pH değerleri	61
Çizelge 4.26. Biyolojik süreçte 35°C’de bulunan pH değerleri	62
Çizelge 4.27. Biyokimyasal süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri.....	66
Çizelge 4.28. Biyolojik süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri.....	67
Çizelge 4.29. Biyokimyasal süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri	67
Çizelge 4.30. Biyolojik süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri.....	67
Çizelge 4.31. Biyokimyasal süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri	68
Çizelge 4.32. Biyolojik süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri.....	68
Çizelge 4.33. Biyokimyasal süreçte 25°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri.....	69
Çizelge 4.34. Biyolojik süreçte 25°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri.....	69
Çizelge 4.35. Biyokimyasal süreçte 30°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri.....	70
Çizelge 4.36. Biyolojik süreçte 30°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri .	70
Çizelge 4.37. Biyokimyasal süreçte 35°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri.....	70
Çizelge 4.38. Biyolojik süreçte 35°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri .	71
Çizelge 4.39. Biyokimyasal süreçte 25°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri.....	74
Çizelge 4.40. Biyolojik süreçte 25°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri.....	75
Çizelge 4.41. Biyokimyasal süreçte 30°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri.....	75
Çizelge 4.42. Biyolojik süreçte 30°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri.....	75
Çizelge 4.43. Biyokimyasal süreçte 35°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri.....	76
Çizelge 4.44. Biyolojik süreçte 35°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri.....	76
Çizelge 4.45. Biyokimyasal süreçte ortalama pH ve ortalama mV’un sıcaklıklar ile	

değişimi	78
Çizelge 4.46. Biyolojik süreçte ortalama pH ve ortalama mV'un sıcaklıklar ile değişimi	78
Çizelge 4.47. Biyolojik süreçte 25°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'dan bulunan en düşük ve en yüksek %kükürt değerleri	83
Çizelge 4.48. Biyolojik süreçte 30°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den bulunan en düşük ve en yüksek %kükürt değerleri 59,72	83
Çizelge 4.49. Biyolojik süreçte 35°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den bulunan en düşük ve en yüksek %kükürt değerleri	84
Çizelge 4.50. Biyolojik süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri	87
Çizelge 4.51. Biyolojik süreçte 30°C'de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri	87
Çizelge 4.52. Biyolojik süreçte 35°C'de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri	87
Çizelge 4.53. Biyolojik süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2}) değerleri.....	89
Çizelge 4.54. Biyolojik süreçte 30°C'de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2}) değerleri.....	89
Çizelge 4.55. Biyolojik süreçte 35°C'de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2}) değerleri.....	90
Çizelge 4.56. $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'dan bulunan kükürt için r_{MMmak} ve K_{MM} değerleri.....	92
Çizelge 4.57. $[FeII]_{mV}$ için r_{Mmak} ve K_M değerleri.....	96
Çizelge 4.58. Michaelis-Menten katsayısına bağlı aktivasyon enerjisi E_{aMM} ($Jmol^{-1}$) ve Arrhenius sabitleri A_{MM}	99
Çizelge 4.59. Monod katsayısına bağlı aktivasyon enerjisi E_{aMM} ($Jmol^{-1}$) ve Arrhenius sabitleri A_{MM}	99

1. GİRİŞ

Biyoteknolojik yöntemler ile mikroorganizmalar kullanılarak madenlerden kükürt giderilmesi işlemleri yaygınlaşmaya başlamıştır. Biyoliçing yöntemlerinden biri olan biyodesülfürizasyon işlemi, mineral içerisinde bulunan kükürdün mikroorganizmalar kullanılarak mineralden çıkarılmasını içermektedir. Biyodesülfürizasyon yöntemi kükürt içeriği az olan ham petrol, petrol ürünleri ve kömürden kükürdün giderilmesinde uygulama alanı bulmaktadır. Kükürt giderme işlemlerinde mikroorganizmaların tercih edilmelerinin en önemli nedeni, kullanılan mikroorganizmaların kükürt dışında diğer bileşenleri bozundurmaması ve uygulanan sürecin daha ekonomik olmasıdır (Beyer *et al.* 1986).

%60-65 Demir ve %0,5-1 kükürt içeren pirit külü, sülfürik asit üretiminde kullanılan kükürt dioksit gazı eldesi için pirit mineralinin kavrulması sonucu elde edilen katı pirit cevheri atığıdır. Yüksek demir miktarına rağmen pirit külü, içerdiği sülfür bileşenlerinden dolayı yüksek fırınlara gönderilerek demir üretiminde kullanılamamakta ve genel olarak çevreye atılmaktadır. Pirit külünün içerdiği düşük miktarda kükürdün giderilmesi ile demir üretimine daha uygun hale geleceği hedeflenmiştir.

Türkiyede demir ve çelik üretimi ülkemizin gereksinimlerini karşılayacak ölçüde değildir. Gittikçe azalan demir cevheri yatakları yurtiçinde kurulu Karabük, İskenderun ve Ereğli demir-çelik tesislerinin üretimine yetmemektedir. Bu yetersizliğin en önemli nedeni demir cevherlerinin düşük oranda demir içeriklerinden dolayıdır. Demir cevherinin doğrudan yüksek fırınlarda işlenebilmesi için yüksek demir içermesi ve fazla safsızlık içermemesi gerekmektedir. Bunun için demir cevherinin yüksek fırına beslenmeden önce safsızlıklarından arındırılması ve demir oranı bakımından zenginleştirilmesi gerekmektedir. Düşük tenörlü demir cevherlerinin içeriğini yükseltmek ve pirit külü gibi atıkları değerlendirerek demir üretimi için hazırlamak çok büyük önem taşımaktadır. Türkiye’de piritin endüstriyel ve ekonomik önemi üzerine geniş çalışmalar resmi kurumlar tarafından yapılmaktadır (DPT 1994).

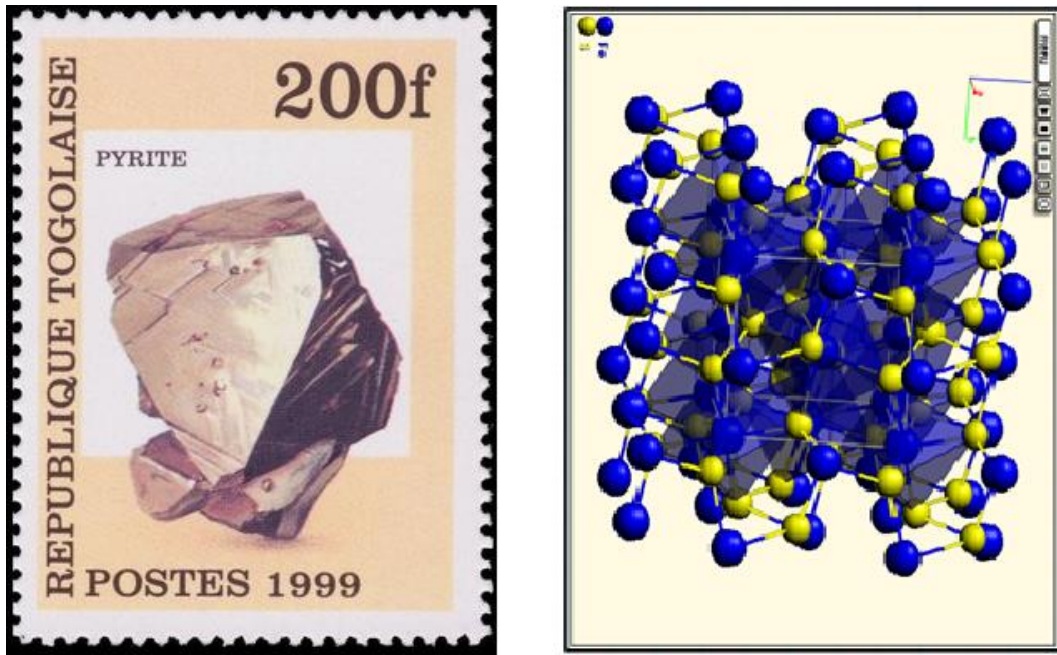
Kükürt doğada kimyasal ve biyolojik ortamlarda doğal çevrim gerçekleştirir (Kellogg *et al.* 1972). Elementel kükürt meyve ve sebze kurutulması ve gıdaların bozunmadan saklanması koruyucu madde olarak ve ayrıca kimya sanayiinde kibrit, barut ve havai fişek yapımında kullanılmaktadır. Çeşitli polimerik yapıların oluşturulmasında da kükürt kullanılmaktadır.

Bu çalışmada; mikroorganizma kullanımı ile pirit külünde bulunan demiri oksitlemeden kükürdün uzaklaştırılması amaçlanmıştır. Bunun için funguslardan *S. cerevisiae* ve bakterilerden *A. aceti* doğada ortaklaşa yaşayan maya ve sirke mikroorganizmalarının kullanımı denenmiştir. Kükürt içeren sistein, metiyonin, glutatyonin ve hidrojen sülfür üretme özelliği olan *S. cerevisiae*'nin pirit külünde bulunan kükürdü metabolizmasında kullanması ve böylece pirit külünün içerdiği kükürdün giderilmesi hedeflenmiştir. *A. aceti* ise, *S. cerevisiae* ile ortaklaşa yaşamalarından dolayı ve ortamın asitliğinin birlikte yaşayabilecekleri değerde tutulması için deney ortamında kullanılmıştır. *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının ortaklaşa yaşama özelliklerinden (simbiyotik) yola çıkılarak bu çalışmanın deney kurguları yapılmış ve deney karışımları glikoz, etanol ve asetik asit biyokimyasalları ile hazırlanmıştır (Krisch and Szajáni 1997). Deneyler etüvde (25°C, 30°C ve 35°C) sıcaklık ortamlarında yapılarak pH, mV, Fe(III) ve sülfat (SO_4^{2-}) değerleri deneysel olarak belirlenmiştir. Elde edilen deneysel veriler biyodesülfürizasyon denemelerinin kinetik modellemelerinde kullanılmış ve kuramsal olarak Fe(II) ve kükürt miktarları hesaplanmıştır. İşlemler ve eğrilerin çizimleri MATLAB yazılımı kullanılarak yapılmıştır.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1. Pirit Minerali

Pirit minerali doğada mikron büyüklüğünde framboitlerden milimetre büyüklüğündeki öhedral kristallere kadar birçok değişik kristal morfolojilerde bulunur. Pirit volkanik bölgelerdeki magmatik kayalarda, metamorfik yataklarda, bazı sedimenter kayalarda ve hidrotermal damarlarda, yaygın olarak bulunan ve demir ve sülfür oranı fazla olan bir sülfürlü mineraldir.

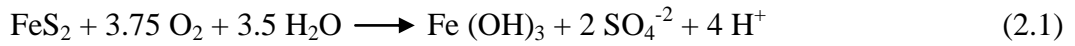


Şekil 2.1. Pirit mineralinin görünüşü ve kristal yapısı (www.webmineral.com)

Pirit elektriği iletir ve ısıtıldığında zayıf bir elektrik akımı üretir. Altın cevheri rengi ve yapısına benzediği için sahte altın olarak tanımlanır ve pirit dış görünüşü ile altın cevheri sanılmaktadır (Şekil 2.1). Ayrıca formül yapısı aynı ancak kristal yapısı çok farklı olan markazit olduğu da sanılabilmektedir. Kızılderililer tarafından düzgün yüzeyli pirit kayaları parlatılarak ayna olarak kullanılmıştır. Parlaklığından ötürü çok

eskiden beri pirit mineralinden küpe, yüzük, kolye ve bilezik gibi takı süsleri de yapılmaktadır.

Pirit Mineralinin Özellikleri: En önemli demir ve kükürt kaynağı olan pirit, endüstriyel olarak bakır cevherlerinin flotasyonu sırasında yan ürün olarak elde edilir. Çok bulunan ve sülfür içeren bir mineral olduğu için, aşağıda denklem (2.1)'de verilen kimyasal reaksiyona göre, piritin kavrulması ile kükürt dioksit gazı üretilir ve sülfürik asit üretiminde temel hammadde olarak kullanılır.



Pirit sülfürik asit üretiminde kükürt kaynağı olarak kullanılırken, içerdiği demir bakımından en önemli demir hammaddesi kaynağı olarak görülmektedir.

2.1.1. Pirit külü

Pirit külü pirit mineralinin sülfürik asit üretim tesislerinde kavrulması sonucunda elde edilen yüksek demir (~%60-65), çok az miktarda toplam kükürt (~%0,50-1) ve az oranlarda bakır ve diğer bileşikleri içeren değerli bir katı atıktır. Dünya demir tüketiminin artması ve mevcut demir cevheri yataklarının yetersiz hale gelmesinden dolayı, yüksek fırınlarda pirit külünden demir üretimi üzerine çalışmalar yapılmaktadır (Borulu 2009).

Canlı vücudunda amino asitler ve proteinlerin yapısında bulunan kükürt, protein moleküllerinde kükürt bağı içeren Fe/S köprüleri yaparlar (Brosnan and Brosnan 2006). Kükürt doğada kimyasal ve biyolojik ortamlarda doğal çevrim gerçekleştirir.

2.2. Biyodesülfürizasyon Süreci

Biyodesülfürizasyon süreci, mikroorganizmalar kullanılarak gaz, sıvı veya katı haldeki kükürlü maddelerde bulunan kükürdün uzaklaştırılması işlemlerini kapsamaktadır. Sülfür sindirebilen mikroorganizmalardan mayalar, sülfür metabolizmalarında kükürdü besin maddesi olarak kullanabilmektedirler (Pilkington and Rose 1988).

Biyodesülfürizasyon çalışmalarında liçing ve biyolojik liçing yöntemleri kullanıldığı için biyoliçing konuları ile ilgili olarak aşağıda bazı tanımlar hakkında bilgiler verilmiştir.

Liçing Süreci: Liçing işlemi, bir çözücü yardımı ile katı içinde bulunan çözünebilir bileşenleri çıkararak çözelti içine alma işlemidir. Cevherlerde bulunan bileşenler kimyasal ve biyokimyasallar veya mikroorganizmalar kullanımı ile çözeltiye alınarak ayrılabilir. Liçing işlemi, bir çözücü yardımı ile katı içinde bulunan çözünebilir bileşenleri çıkararak çözelti içine alma işlemidir. Cevherlerde bulunan bileşenler kimyasal ve biyokimyasallar veya mikroorganizmalar kullanımı ile çözeltiye alınarak ayrılabilir.

Liçing çeşitleri: Hidroetallurji alanında uygulanan liçing işlemi başlıca iki ana başlık altında incelenmektedir. Bunlar kimyasal liçing ve biyolojik liçing işlemleridir.

- **Kimyasal liçing işlemi:** Kimyasal liçing işlemi başta asidik kimyasallar olmak üzere çeşitli kimyasal maddelerin kullanımı ile açık atmosferde veya basınç altında gerçekleşmektedir. Sülfürlü cevherlerin liçing işlemi için gerekli kimyasalların kullanımı ile su ve oksijen ortamında sülfürlü maddelerin çözünerek sülfatlara dönüşmesi sağlanmaktadır (Schippers *et al.* 1996).

- **Biyolojik liçing işlemi:** Biyoliçing olarak adlandırılan biyolojik liçing işleminde mikroorganizmaların mineral bileşenlerini biyooksitleme özelliklerinden yararlanılmaktadır. Sülfür oksitleyen mikroorganizmalar sülfürlü mineraller ile tepkimeleri sonucunda açığa çıkan elementel kükürdü okside ederek biyoliçing işlemi için gerekli Fe(III), sülfat ve sülfürik asidi üretirler (Ehrlich 1996).

Biyoliçing süreci: Biyoliçing, mineraller içerisinde bulunan bileşenlerin sulu ortamlarda mikroorganizmalar kullanılarak çözüldürülmesi ile elde edilmesi sürecidir.

Biyoliçing yöntemi ile katı mineraller içerisinde bulunan bileşenler mikroorganizmalar tarafından biyooksitleme işlemi ile indirgenerek çözümler ve su içerisinde iyon olarak geçerler. Sulu çözelti içerisinde geçen iyonlar çeşitli ayırma yöntemleri uygulanarak elde edilirler (Bosecker 1997; Akçıl 2004; Kocadağıstan 2007; Tekin 2010). Mikrobik bir yöntem olan biyoliçing ayrıca düşük tenörlü minerallerin kazanılması ve mineral tenörünün yükseltilmesi için kullanılan en ekonomik ve çevreci bir yöntemdir. Biyoliçing yöntemi daha verimli ve çevreye zararsız süreçler içermesine rağmen sürecin çok uzun sürmesi, işletme verimini düşüren en önemli neden olarak kabul edilmektedir.

Pirit biyoliçing süreçleri demir ve kükürdün biyooksitlenmesini içermektedir. Bazı mikroorganizmalar demir ve kükürdün her ikisini de biyooksitleme özelliği taşıırken bazıları sadece demir ve bazıları da sadece kükürdü oksitleme özelliğine sahiptir (Lipman 1923). Mikroorganizmalarda hücre içinde biyokimyasal yollar ile demir ve kükürdün oksidasyonu sitokrom oksidaz gibi enzimler ile veya Fe(III) iyonları ile gerçekleşmektedir (Suzuki 1994).

Biyoliçing mikroorganizmalarından Thibacillus grubu bakteriler mineral sülfürünü sülfat'a dönüştürebilmektedirler. Ferrobacillus grubu bakteriler ise; Fe(II) iyonlarını Fe(III) iyonlarına biyooksitleyerek, elde edilen enerji ile yaşamlarını sürdürmektedirler. Sıcaklık (T), proton derişimi (H⁺) veya (pH), oksijen (O₂) ve karbondioksit (CO₂) miktarı ve katı madde oranı gibi değışkenler biyoliçing mikroorganizmalarının çalışmasına doğrudan etki etmektedirler.

Ülkemizde akademik alanda ve üretim alanında yapılan çalışmalar ile birçok maden üzerinde biyoliçing denemeleri gerçekleştirilmiştir (Akçıl 2004; Kocadağıstan 2007; Tekin 2010).

Biyoliçing sürecinin çeşitleri:

- **Biyodesülfürizasyon:** Biyodesülfürizasyon işlemlerinde mineral içerisinde bulunan kükürdün biyooksitlenme ile mineralden ayrılması amaçlanmaktadır (Torma 1988; Bhattacharya *et al.* 1990; Olsson *et al.* 1993; Dastidar *et al.* 2000; Malik *et al.* 2001).
- **Biyoyararlılık:** Biyoyararlılık ile metal cevherinde bulunan katı safsızlıkların giderilerek istenen metalin cevher içerisindeki oranının artırılması yapılmaktadır (Groudev 1999).
- **Biyomadencilik:** Biyomadencilik ve biyoliçing işlemlerini kapsayan biyohidrometallurji, madenlerdeki metallerin biyoliçing ve biyoeleştirasyon işlemleri ile sulu çözeltiye geçirilmesi sürecidir (Brierley 1982).
- **Biyoozütleme:** Biyoozütleme süreçleri ile elementlerin katı madenlerden çıkarılarak etkin hale geçirilmeleri sağlanmaktadır (Gaylarde and Videla 1995).
- **Biyoremediyasyon:** Biyoremediyasyon yöntemi ile çevrecilikte toprak ve suyun ağır metallardan arıtılması işlemleri yapılabilmektedir (Alexander 1999). Sulara karışan ağır metallerin biyoliçing yöntemi ile giderilmesi kimyasal yöntemlere göre çok daha ucuz yapılabilmektedir.
- **Biyosorpsiyon:** Biyosorpsiyon yöntemi ile metaller canlı veya ölmüş mikroorganizma biyokütlerine tutundurularak ayrılabilirler. Biyosorpsiyon işlemlerinde kullanılan biyokütler bakteri, fungi veya alg mikroorganizmaları olabilmektedir (Fourest *et al.* 1994).

Biyoliçing sürecinin yöntemleri: İlk yapılan çalışmalarda biyoliçing süreçlerinde doğrudan ve dolaylı olmak üzere iki yöntemin gerçekleştiği belirlenmiştir (Tributsch 2001). Pirit biyoliçinginin ilk evresinde mineral yüzeyine tutunmuş olan mikroorganizmaların kontakt yönteminin gerçekleşmesini sağlayarak mineral

çözünmesi yapmakta ve ikinci evrede ise indirekt olarak biyoliçing yönteminin gerçekleşmesi ile mikroorganizmalar Fe(II) iyonlarından Fe(III) üretimini gerçekleştirmektedir.

Bununla birlikte, son yapılan çalışmalarda biyoliçing işleminin üç evrede gerçekleştiği sonucuna varılmıştır. Mikroorganizmaların mineral yüzeyine tutunması ile gerçekleşen doğrudan etkinin her iki yöntemi de kullanılarak, pirit biyoliçing mekanizması üzerine çalışma yapılmıştır (Rodriguez *et al.* 2003). Çalışmada $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının proste gerçekleşen tepkime biyooksitlemesinin oranı ile kontrol edildiği belirlenmiştir. Ayrıca pirit çözünmesinin Fe(II) ile Fe(III) arasındaki kemisorpsiyon tarafından yönetildiği ortaya konmuştur. Fe(II) iyonlarının mineral yüzeyinde birikmesi ile Fe(III) yayılım ataklarının engellendiği ve böylece ortamda Fe(III) derişiminin arttığı bunun da mikroorganizmanın biyooksitleme yeteneğini inhibe ettiği belirtilmiştir (Cabral and Ignatiadis 1999). Böylece bu çalışmada mineral yüzeyine tutunma ile çözünme oranı arasında doğrudan bir bağlantı olduğu sonucuna varılmıştır ve pirit biyoliçingi için kooperatif biyoliçing yöntemi yanında tiyosülfat mekanizması ile kontakt ve indirekt yöntemlerin de gerçekleştiği belirlenmiştir (Silverman 1967).

- **Doğrudan (kontakt) biyoliçing:** Mikroorganizmalar mineral yüzeyine tutunmakta ve elektrokimyasal çözünme yoluyla oluşan Fe(III) ataklarına yer tutmaktadırlar. Doğrudan biyoliçing yönteminde mikroorganizmalar mineral yüzeyine tam olarak tutunarak immobilize olmakta ve mineral yüzeyi ile fiziksel kontakt yapmaktadırlar. Yapılan araştırmalarda radyoaktif olarak etiketlenmiş *T. ferrooxidans* hücreleri $NaH^{14}CO_3$ üzerinde yetiştirilmiş ve mineral yüzeyine tutunmuş bakterinin oksidatif kapasitesi belirlenmiştir. Burada ekzopolimerler salgılayan hücreler Fe(III) bileşenlerinin glukuronik asit ile kompleks yapmalarını sağlamaktadırlar. Doğrudan indirgenmiş minerallerin elektronları ile metal sülfür bileşenlerinin biyooksitlemesi sonucunda tiyosülfatlar oluşmaktadır (Sand *et al.* 2001).

- **Dolaylı biyoliçing:** Dolaylı (indirek) biyoliçing yönteminde mineral yüzeyine mikroorganizma tutunması olmamakta ve etkili olmaları liçing maddesi olan Fe(III)'ün

yenilenmesine bağlı bulunmaktadır. İndirgenmiş metallerin oksidasyonu, minerallerde bulunan Fe(II) mikrobiyal oksidasyonu ile oluşan Fe(III) iyonları tarafından yönlendirilmektedir. Biyoliçing sürecinde Fe(III) bir biyooksitleme elemanıdır ve metal sülfidlerini kimyasal olarak indirgeyerek Fe(II) indirgenebilmekte ve elektron taşıyıcı görevi yapmaktadır (Yamanaka *et al.* 1991). Demirin biyooksitlenmesi için mineral ve mikroorganizma arasında herhangi bir tutunma olması gerekmemektedir.

- **Ortaklı biyoliçing:** Bazı mikroorganizmalar mineral yüzeyine tutunarak çözeltilerinde serbest halde bulunan diğer mikroorganizmalar ile ortaklık yapmaktadırlar. Ortaklı (kooperatif) biyoliçing yönteminde, tutunmuş mikroorganizmalar biyooksitlenebilen metalleri iyonlaştırarak çözeltilerindeki mikroorganizmalar için enerji kaynağı haline getirmektedir (Brierley 1982).

Biyoliçing sürecinin kinetiğini etkileyen genel faktörler: Biyoliçing sürecinin kinetiğini etkileyen parametrelerin en önemlileri olan mineral ve mikroorganizma çeşitleri, enzimlerinin aktivitesi, Fe(II) ve Fe(III) derişimleri, pH, mV, sülfat, sıcaklık, çözünmüş oksijen ve karbondioksit değerleri dikkate alınarak birçok araştırma yapılmıştır (Das *et al.* 1999).

- **Metallerin etkileri:** Arsenik gibi bazı metallerin biyoliçing ortamında bulunmasının mikrobik büyümeyi engellediği gözlemlenmiştir. Diğer taraftan metallerin minerallerden ayrılarak sıvı ortama geçmesinde çözünmeye oranı ile Fe(III) derişimi arasında doğru orantılı bir ilişki bulunduğu belirlenmiştir (Dutrizac and MacDonald 1974). Pirit (FeS_2), sfalerit (ZnS) ve kalkopirit ($CuFeS_2$) minerallerinin biyoliçingi sürecinde gerçekteşen tepkimelerin spesifik oranlarının çözeltilerinde bulunan Fe(III) derişimi ile yönetildiği ve Fe(II)'nin pirit yüzeyinde birikmesi ile birlikte yüzeyde bir koruyucu Fe(II) kalkan tabakası oluştuğu ve böylece Fe(III)'ün mineral yüzeyine tepkime amaçlı yaptığı saldırılarının önlendiği belirlenmiştir. Aynı çalışmada; bakır ve çinko çözünlüğünün sfalerit yüzeyinde oluşan elementel kükürt ile yönetildiği bulunmuştur.

- **pH'nin etkisi:** Piritin biyoliçingi işlemi asit üreten bir süreç olduğu için biyoliçing işlemi başladıktan sonra karışımın pH değerinde azalma olmaktadır. Her ne kadar pH'nın azalması mikroorganizmaların etkinliklerinin azalmasına neden oluyorsa da pH'nın 2 değerinin altına düşmesi pirit biyoliçinginin verimini en yüksek seviyelere çıkardığı kesinleşmiştir (Edwards *et al.* 1998). Bakteri, funji ve alg başta olmak üzere birçok çeşitte mikroorganizmaların düşük pH aralığındaki biyoliçing çevre ortamında yaşayabildiği de belirlenmiştir (Valix *et al.* 2001). Çözeltilerdeki metal (M^+) iyonları asidik veya bazik iyonlar ile tepkimeye girerek ortam pH'sının değişimine neden olurlar. pH değerleri doğrudan $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranını etkilemektedir.

- **Redoks potansiyelinin (mV) etkisi:** Piritin biyoliçingi deneylerinde mV değerinin yükseldiği gözlemlenmiş ve $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranı ile birlikte ifade edilmiştir. Piritin biyoliçingi kinetiği $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranı veya redoks potansiyelinin fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Biyoliçing çalışmalarında olduğu gibi biyodesülfürizasyon deneylerinde de redoks potansiyeli (mV) ölçümleri, Fe(II)'nin Fe(III)'e biyooksitlenmesi sürecinin gözlemlenmesi için çok önemli görülmüştür (May *et al.* 1997).

- **Sıcaklığın etkisi:** Mikroorganizmaların spesifik büyüme oranı üzerine sıcaklığın etkisi ve özellikle *T. ferrooxidans* ile hammadde Fe(II) ve ürün Fe(III) derişimleri arasındaki ilişkilerin matematiksel yönden araştırılması üzerine çalışmalar yapılmıştır (Ahonen and Tuovinen 1989).

- **Karışım yoğunluğunun etkisi:** Karışım yoğunluğunun artmasının biyoliçing verimini azaltıcı yönde etki ettiği belirlenmiştir. 20 gL^{-1} oranını aşan sudaki mineral karışımının, kömürden çıkarılmış piritin biyoliçinginde oksidasyonda gecikmelere neden olduğu ortaya konmuştur (Chen and Lin 2000). Biyoliçing işleminde katı madde artırıldıkça pirit biyoliçing veriminde azalma olduğu belirlenmiş, bunun en önemli nedeni olarak aşırı katı madde ortamında oksijen ve karbondioksit kütlelerinin taşınımlarının azalması gösterilmiştir (Edwards 1970). Aynı çalışmada %2 pirit içeren biyoliçing deneylerinde karışımın redoks potansiyeli 600 mV'tan yukarı çıkmış, redoks

potansiyelinin yüksek çıkmasının biyoliçing daha verimli olduğunun bir belirtisi olduğu ifade edilmiştir.

Biyoliçingi yapılacak sülfürlü minerallerin özellikleri: Biyoliçing alanında yapılan araştırmaların büyük bir bölümünü sülfürlü mineraller üzerine yapılmış çalışmalar oluşturmaktadır. Kaliforniyanın Demir Dağı bölgesindeki pirit biyoliçing alanında yapılan uygulamalı biyoliçing işlemlerinde havanın sıcaklığı ve çözeltinin pH'sının ölçümleri kaydedilmiş, alan kimyası bölgesinde bulunan önemli mikrobik flora belirlenmiş ve birçok etken dikkate alınarak biyoliçing araştırmaları yapılmıştır. Pirit madeni biyoliçing alanında doğal olarak gelişen litotrofik, heterotrofik ve arkea mikroorganizmaları ile belirlenememiş birçok mikrobik tür üzerine çalışmalar yapılmıştır (Edwards *et al.* 1998; Hu *et al.* 1999).

2.3. Pirit Külünün Biyodesülfürizasyonu

Pirit külünün biyodesülfürizasyonu, mikroorganizmanın mineral içerisinde bulunan kükürdü besin maddesi olarak tüketmesi ve böylece mineralde bulunan kükürdün giderilmesi ilkesine dayanmaktadır. Metallerin ve kükürdün besin maddesi olarak kullanılması, metabolik yollarda görev yapan çeşitli enzimlerin yardımı ile gerçekleşmektedir.

2.3.1. Biyodesülfürizasyon enzimleri

Mineral bileşiklerinin, enzimlerin katıldığı tepkimeler ile oksitlenerek çözünmesi biyokimyasal tepkimeler sonucunda gerçekleşmektedir.

- **Sülfite oksidaz:** Sülfür içeren amino asitlerden sistein ve metiyonin metabolizmasında görev yapan sülfite oksidaz enzimi, sülfürleri sülfatlara oksitleyen tüm ökaryotik hücrelerin mitokondrilerinde heme grubu ve molibdopterin kofaktörünün sağlanmasında işlevi olan bir metallo enzimdir. Stokrom c aracılığı ile elektron taşınmasında görev alan sülfite oksidaz enzimi oksidatif fosforilleme tepkimesi ile ATP

üretimini gerçekleştirmektedir. *S. cerevisiae*'nin sülfür alımının, protein temel elementi olan azota bağlı olduğu belirlenmiştir.

- **Metalloenzimler:** Metallo-çaperon proteinleri metal iyonlarının metalloenzimlere tutunmasında görev yapmaktadırlar. Metallo-çaperon proteinler ve protein yapılı enzimlerden olan metalloenzimler birlikte hücreler içerisinde demir, bakır veya çinko gibi biyolojik tepkimelerin önemli unsurlarından olan metal iyon ($M^{+/+}$)'ların özel bölgelere taşınmasında görev almaktadırlar.

- Biyokimyasal ve genetik analizler, iki sitokrom c (stokrom1 ve stokrom2), mavi bakır proteini olan rustisyanin ve stokrom oksidaz enzimi biyokimyasallarının Fe(II)'den moleküler oksijen'e elektron taşınımının gerçekleşmesinde görev aldıklarını ortaya koymaktadır (Bohinski 1970; Zubay 1998). Thiobacillus türleri ile yapılan çalışmalarda Fe(II) iyonlarının biyooksitlenmesinin elektronların hücre dışı duvarından hücre içine doğru elektron transferi ile ilgili olduğu belirlenmiştir. Bu elektron taşınımında rustisyanin, sitokrom a, sitokrom b ve sitokrom c enzimleri görev yapmaktadırlar (Corstjens *et al.* 1992).

Mikroorganizmaların yaşamaları için hücre iç ve dış ortamlarındaki elektropotansiyel çok önem taşımaktadır ve metabolizmalarında oluşan (Fe^{+3}/Fe^{+2}) oranı sitokromların oluşturduğu elektropotansiyele bağlıdır. Biyolojik öneme sahip bazı enzimlerin yarı tepkimelerinin standard indirgenme potansiyelleri aşağıda verilmiştir:

- Sitokrom a: Fe^{+3}/Fe^{+2} 0.29 V
- Sitokrom b: Fe^{+3}/Fe^{+2} 0.08 V
- Sitokrom c: Fe^{+3}/Fe^{+2} 0.22 V

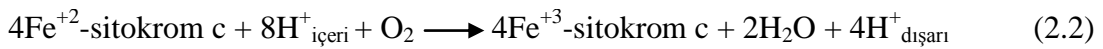
Solunum basamaklarındaki elektron transport zincirinin son üyesi olan ve substrat moleküllerinin dehidrojenaz enzimleri ile oksidasyonu sonucu oluşan elektronların son alıcıları olan oksijenlere aktarılması tepkimelerini katalizleyen stokrom oksidaz enzimi, mitokondri iç membranında yer almaktadır. Sitokrom a ve c, koenzim Q ile birlikte

Fe(II)'nin oksitlenmesinde görev almaktadırlar. Koenzim Q, Fe(II)-sülfat organik kompleksi oluşması esnasında ara elektron taşıyıcı olarak görev yapmaktadır. Fe(III) bulduran Fe-stokrom-c-oksidoredüktaz enzimi Fe(II)'ye bağlanarak indirgeme yapmaktadır. Oksitlenmiş stokrom c enzim tarafından tutulur ve stokrom a'nın Fe(II)'sini indirger. Böylece enzimin Fe(III)'ne oksitlenerek stokrom c serbest kalır. Rustisiyanin tarafından taşınan elektronlar ise oksijen atomuna aktarılır (Suzuki 1994).

Birçok biyomolekül, indirgenmiş sülfür ve demir bileşenlerindeki hava solunumuna katılmaktadır. Örneğin *T. ferrooxidans*'nin çözünmüş protein oranının %5'inin asite dayanıklı olan ve rustisiyanin olarak adlandırılan mavi bakır proteini olduğu belirlenmiştir (Blake *et al.* 1993). Ayrıca Fe(II) solunum sistemi yeşil bakır proteini, iki çeşit sitokrom c, bir çeşit sitokrom a, bir porin ve bir de Fe-sülfat (Fe-SO₄) çelati içermektedir. Thiobacillus'un elektron taşınım zincirinde rustisiyanin, sitokrom, Fe-sülfür proteinleri gibi birçok bileşenin periplazmik alanda bulunduğu kanıtlanmıştır (Charles and Suzuki 1966).

Biyolojik demir bileşikleri: Biyolojik çevrelerde demir ve bakır birbiri ile ilişkili olarak yükseltgenen minerallerdendir. *S. cerevisiae* metabolizmasında dışardan bakır ve Fe(III) alınmasında metalloredüktaz enzimlerinin görev yaptığı belirlenmiştir. Mikroorganizmalar Fe(II) iyonunu enzimlerin işlevleri için bir substrat olarak kullanılmakta ve Fe(III) üretilmektedir. *S. cerevisiae* içerisinde demir alımının bakıra bağlı olduğu ortaya konmuş ve bunun nedeninin bakırın ferooksidaz enzimi için bir kofaktor görevi gördüğü belirlenmiştir. Genetik ve biyokimyasal çalışmalar demir alımında ferooksidaz enziminin Fe(II)'nin Fe(III)'e biyooksitlenmesini katalizlediğini ortaya koymaktadır. İnsan biyoortamında ise Fe(II) biyooksitlenerek biyokimyasal çevrimlere katılmaktadır. Mikrobik Fe(II) oksidasyonu sitokrom oksidaz gibi enzimler ile veya Fe(III) iyonları ile gerçekleşmektedir. Fe(II)'den moleküler oksijen'e elektron taşınımının hücrenin dış çeperinden sitoplazmik iç çepere bağlanmış stokrom c oksidaz enzimine doğru olduğu belirlenmiştir (Corvest *et al.* 2010).

Sitokrom-Fe kompleksleri: Elektron transfer sistemlerinde bulunan sitokromlar hem proteinleridir ve kompleks yapmış bir Fe içerirler. Sitokromlar içerdikleri Fe metal iyonu üzerinden yükseltgenme-indirgenme reaksiyonlarına uğrarlar. Sitokrom-c türündeki hem demiri Fe(II) ve Fe(III) oksidasyon halleri arasında dönüştür ve elektropotansiyel (mV) oluştururlar. Rustisiyanin, sitokrom c ve sitokrom a enzimleri ile Fe(II)'nin Fe(III)'e mikrobik olarak oksitlenmesi denklem (2.2)'te gösterilmiştir (Johnson *et al.*2005).



Fe(II) her dört sitokrom c molekülünden bir tane elektron alarak bunları bir oksijen molekülüne transfer eder ve moleküler oksijeni iki molekül suya çevirir.

2.3.2. Demirin biyooksitlenmesi

Biyoliçing sürecinde mikroorganizmaların en önemli işlevi Fe(II)'yi Fe(III)'e biyooksitlemek ve böylece biyoliçing ortamında yüksek redoks potansiyeli (mV) oluşturmaktır (Mandl *et al.* 1999). Mineralin kimyasal olarak verdiği Fe(III) tepkimesi ve Fe(II)'nin mikrobiyal oksidasyonunun tamamen ortamın redoks potansiyeli ile bağlantılı olduğunu ortaya konmuştur. Tepkime süreci, demir oranının mineral ve bakteri arasındaki denge oluşumuna varıncaya kadar devam etmektedir. mV üzerine kurulmuş oran eşitlikleri veya $[\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}]$ oranı, biyoliçing sürecinin kinetiğinin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Biyoliçing kinetiği $[\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}]$ oranı veya redoks potansiyelinin fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Yapılan çalışma ile pirit için biyoliçing sürecinin nasıl gerçekleşeceği konusunda tahminler yapmaya yarayacak modeller geliştirilmiş ve sülfid minerallerinin kimyasal, elektrokimyasal ve biyolojik temelleri ile biyooksidasyon kinetiğinin anlaşılmasına çalışılmıştır (Asai *et al.* 1992; Konishi and Asai 1998). Elektrokimyasal mekanizmalarda $[\text{Fe}^{+3}/\text{Fe}^{+2}]$ oranı veya redoks potansiyelinin, Fe(II) biyooksitlenmesi kinetiği için asıl belirleyici etken olduğu belirlenmiştir (Wiersma and Rimstidt 1984).

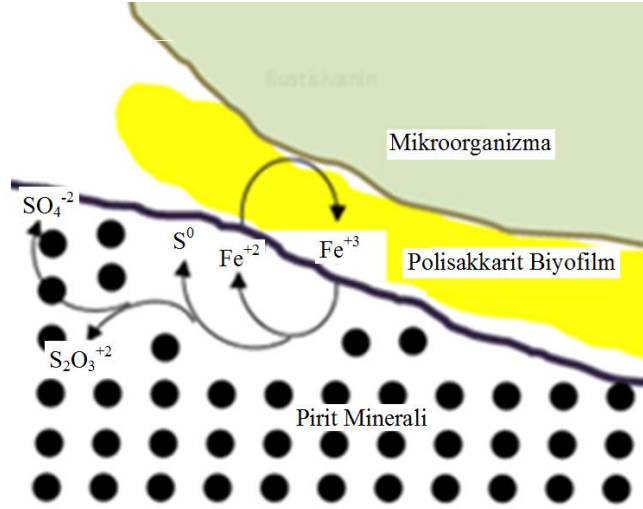
Fe(III)'ün pirit mineralini oksitleme etkisi: Metal sülfid biyooksitlenmeleri, Fe(III) iyonlarının Fe(II) iyonlarına ve sülfürlerin ise sülfat veya elementel sülfür, polisülfid, tiyosülfat veya politiyonat gibi diğer sülfürlü maddelere indirgenmesini içeren biyokimyasal tepkimeler kümesidir. Örneğin metal sülfürleri (MS), Fe(III) iyonları ile metal (M^{+2}) ve elementel sülfüre indirgenmektedir (Holmes and Crundwell 2000). Buna göre; pirit'in indirgenmesi aşağıdaki denklemde (2.3) verildiği gibi gerçekleşir:



2.3.3. Kükürdün biyooksitlenmesi

Sülfürün hücre içi biyooksitlenmesinde sülfür oksidaz enzimi gibi birçok enzim görev yapmaktadır. Piritin biyoliçingi sürecinde tepkime ortamında bulunan kükürdün değişik oksitlenme düzeyleri bulunmaktadır. Kükürt elementel halde (S) 0, (SO_2) bileşiğinde +4, (SO_4^{-2}) bileşiğinde +6 ve (H_2S) bileşiğinde ise -2 değerliğinde bulunmaktadır.

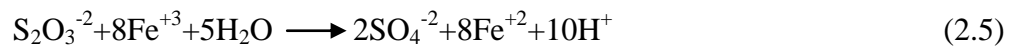
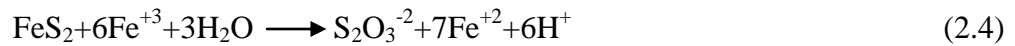
Sülfat ve sülfidin biyokimyasal tepkime yolları: Tiyosülfat ve polisülfat tepkime işleyişlerinin her ikisinde de elementsel kükürt oluşabilmektedir. Sülfid mineralleri gerek Fe(III) iyonları gerekse proton (H^+)'lar tarafından biyooksitlenmiş olsun, mikroorganizmaların bakteriyel liçingindeki en önemli görevi Fe(III) iyonu oluşturarak ortamda kükürdü biyooksitleyecek kadar yeterli değerde redoks potansiyeli (mV) ve düşük pH sağlamaktır. Tüm bu tepkimelerin hücre ile metal yüzeyi arasına salgılanan polisakkarit tabaka alanı içerisinde gerçekleştiği ortaya konmuştur (Bruynesteyn and Duncan 1971). Şekil 2.2'de mineral yüzeyine tutunmuş mikroorganizma ile mineral yüzeyi arasına salgılanan polisakkarit tabaka alanı içerisinde gerçekleşen biyokimyasal demir ve kükürt tepkimeleri gösterilmiştir (Sand *et al.* 2001).



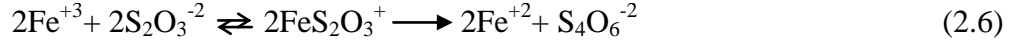
Şekil 2.2. Mikroorganizma ile mineral arasında gerçekleşen biyokimyasal tepkimeler (Sand *et al.* 2001)

Çözünme özelliklerine göre doğada iki çeşit metal sülfürleri bulunduğu için iki değişik metal sülfür biyooksitlenme mekanizması bulunmaktadır (Brown and Jurinak 1989; Donati and Sand 2007).

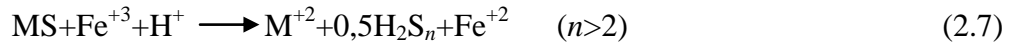
Tiyosülfat mekanizması: Pirit gibi asit içerisinde çözünmeyen metal sülfürleri çözünürken tiyosülfat tepkime yolunu izlemektedirler. Yapılan çalışmalarda mineral sülfürlerinin oksidasyonu sürecinde tiyosülfat ve sülfür bileşenlerinin oluştuğu belirlenmiştir. Tiyosülfat tepkime yolu metalin çözünmesi, Fe(III) ve sülfat üretimine neden olur (Schippers and Sand 1999). Tiyosülfat tepkime yolunda pirit mineraline yapılan birincil saldırı Fe(III) tarafından yapılır. Pirit'in su ve Fe(III) ortamında tiyosülfat ($S_2O_3^{+2}$) ve Fe(II)'e dönüşmesi aşağıdaki tepkimeler ile verilmektedir:



Bu işleyişte tiyosülfatın başka bir oksidasyona uğradığı varsayılmaktadır.



Polisülfat mekanizması: Sfalerit veya kalkopirit gibi asit içerisinde çözünebilir metal sülfürleri çözünürken polisülfat tepkime yolunu izlemektedirler. Polisülfat tepkime yolu da hem Fe(III) ve hem de elementel sülfür'ün her ikisinin de üretilmesine neden olan bir yoldur. Polisülfat ve elementel sülfür bileşenleri polisülfat işleyişinin ana geçiş bileşenleri olduğu galena, sfalerit, kalkopirit, hōrit, orpiment veya realgar biyooksitlenmelerinde belirlenmiştir (Conner 2005).



2.4. Mikroorganizmalar ve Mineraller Arasındaki İlişki

Mikroorganizmalar yaşamaları için demir ve kükürt başta olmak üzere birçok minerali besin maddesi olarak kullanmak zorundadırlar. Minerallere bağlı beslenme tarzlarından dolayı doğada minerallerin biyolojik çevrimini yaparlar. Mikroorganizmaların mineralleri besin maddesi olarak kullanabilme özelliklerinden yararlanılarak biyoliçing işlemlerinde kullanılmaktadırlar.

Mikroorganizmalar ve metaller: Mikroorganizmalar yaşamaları için doğada az miktarda metaller ile etkileşim halindedirler (Rawlings and Silver 1995). Prokaryotik veya ökaryotik olsunlar tüm mikroorganizmalar metalleri, yapılarında veya enerji metabolizmalarında katalitik etkileri için işleyebilmektedirler. Ca ve Mg gibi alkali metaller mikroorganizmaların yapılarında kullanılırken, Cr, Co, Cu, Fe, Mn, Ni ve Zn,

gibi bazı metalleri prokaryotlar enerji metabolizmalarında elektron alıcı veya verici olarak kullanabilmektedirler. Çekirdekçiği olmayan basit yapıli mikroorganizmalar olan prokaryotik ve çekirdekçiği olan yüksek yapıli ökaryotik mikroorganizmalar metal iyonlarını hücre yüzeylerine bağlama ve daha sonra da hücre içersine alma özelliğine sahiptirler. Mikroorganizmaların yapıları metaller ile bağlanmaya öylesine uygundur ki ölü mikroorganizma biyokütleleri bile metaller ile bağ yapabilmektedir. Yapılan bir araştırmada, kolon yöntemi kullanılarak ponza taşına immobilize edilmiş *S.cerevisiae* üzerine Fe(II) iyonlarının adsorbe olmaları incelenmiş ve yüksek adsorpsiyon sağlanmıştır (Lale vd 2005). Mikroorganizmaların metaller ile yapmış oldukları etkileşimler sonucunda oluşan metalloenzimlerden en yaygın olanları sitokromlardır. Mikroorganizmalar enzimatik tepkimeler ile zehirli metalleri daha az zararlı hale dönüştürebilmektedirler. Diğer bir çalışmada *S. cerevisiae* çinko, bakır ve kurşun gibi metallerin filtre tozlarından çıkarılmasında kullanılmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Wenzl *et al.* 1990).

Mikroorganizmalarının hücre duvarı yapısı: Metaller mikroorganizmaların hücre duvarlarını oluşturan peptidoglikan, protein, glukoprotein ve polisakkarit gibi maddelere tutunma yapabilmektedirler.

Hücre duvarı içersinde glikoproteinlerin olduğu lipit tabakası bulunduğundan hücre yüzeyi negatif (-) yük taşımaktadır. Birçok hücre duvarı yüzeyinde negatif değerli anyonik sülfat grupları bulunmakta, pozitif değerli iyonlar elektrostatik etkileşimlerle anyonik hücre yüzeyi iyonlarına tutunmaktadırlar. Ayrıca hücre membranlarında bulunan hormonlar ve proteinlerden oluşan tutunma bölgeleri de bulunmaktadır. Mikroorganizma hücre duvarı yapısında bulunan fonksiyonel gruplar hücre yüzeyinde, yüzey reaktivitesi oluşturur.

Biyoliçing sürecinde kullanılan mikroorganizmalar: Biyoliçing süreçlerinde en yaygın olarak kullanılan bakteri *T. ferrooxidan*, elementel sülfürler veya metal sülfürleri üzerinde az oksijenli (anoksik) koşullarda Fe(II)'yi okside ederek Fe(III)'e

dönüştürebilmekte, Fe(III)'ü elektron kabul edici olarak kullanarak yaşam enerjisi elde etmektedir (Stuedel 1996).

Biyoliçing işleminde kullanılan funjiler arasında *Aspergillus niger*, *Penicillium simplicissimum*, *S. cerevisiae*, *Yarrowia lipolytica* gibi sitrik ve okzalik asit üreten mikroorganizmalar bulunmaktadır (Burgstaller and Schinner 1993; Gadd 1993). Biyoliçing mikroorganizmaları konusunda çok kapsamlı çalışmalar yapılmış ve tüm biyoliçing mikroorganizmaları hakkında bilgiler verilmiştir.

Acetobacter türlerinin bazıları biyoliçing işlemlerinde kullanılmıştır. Literatür araştırmalarında *Acetobacter aceti* ile tek başına veya *S. cerevisiae* ile birlikte biyoliçing veya biyodesülfürizasyon çalışmaları yapılmamış olup her iki mikroorganizmanın bir biyodesülfürizasyon işlemlerinde kullanımı bu çalışmada denenecektir.

Biyoliçing süreçlerinde kullanılan bazı mikroorganizmalar şöyle sınıflanmaktadırlar (Rawlings and Silver 1995):

- Mezofiller (30°C): *Leptospirillum*, *Acidithiobacillus ferrooxidans*, *Acidithiobacillus thiooxidans*
- Ilıman Termofiller (50°C) : *Acidianus*, *Sulfobacillus*, *Sulfolobus*
- Aşırı Termofiller (68-85°C): *Acidianus*, *Metallosphaera*, *Sulfolobus*

Biyoliçing Mikroorganizmaları ve Genetik Çalışmalar: Biyoteknolojik araştırmaların genetik çalışmalar aşamasına gelmesiyle birlikte biyoliçing mikroorganizmalarının genomu ile ilgili olarak birçok araştırma yapılmıştır. Her bir biyoliçing mikroorganizmasının biyokimyasal yolları ve metabolitlerinin genetik yönetimleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Biyoteknolojik yöntemler kullanılarak mikroorganizmaların tanımlanması, genetik özelliklerinin belirlenmesi ve iyileştirilmesi için DNA ve PCR teknikleri denenmiştir (Croal *et al.* 2004; Siezen and Greer 2009).

2.4.1. *Saccharomyces cerevisiae* ve *Acetobacter aceti*

Saccharomyces cerevisiae: Endüstriyel öneme sahip funjilerden *S. cerevisiae*, en çok üretilen ve tüketilen mikrobiyal üründür ve hamurun mayalanması ve alkol üretiminde kullanımı başta olmak üzere, birçok amino asidi içeren yüksek protein değerinden dolayı tek hücre proteini (THP) olarak tanımlanmaktadır (Pekin 1983; Piotrowska and Paszewski 1990; Telefoncu 1995; Walker 1998). Biyokütlesinde %0.2-0.9 oranına kadar toplam sülfür içeren ve yüksek kükürtlü ortamlarda yaşayabilme toleransına sahip olan *S. cerevisiae* inorganik ve organik sülfür kaynaklarından yararlanmak için yüksek sayıda taşıma ve biyokimyasal aktivite özellikleri bulundurmaktadır (Maw 1955; Maw 1986; Rauhut 1993; Ono *et al.* 1999; Surdin-Kerjan 2003). *S. cerevisiae* Fe/S bağları bulduran metalloproteinler için sülfür metabolizması yapabilen ve sülfat, sülfid ve elementel sülfürü indirgeyen en önemli mikroorganizmalardandır (Eschenbruch 1974; Breton and Surdin-Kerjan 1977; Gelling 2008; Mendes-Ferreira *et al.* 2009). Diğer sülfür indirgeyen mikroorganizmalarda olduğu gibi *S. cerevisiae* içinde de indirgenmiş kükürtler genellikle cystein, metiyonin, glutatyonin, tiyamin ve biyotin sentezlenmesinde kullanılmaktadır (Shapiro *et al.* 1965; Masselot and De Robichon-Szulmajster 1975; Cherest *et al.* 1993; Duncan and Derek 1996; Miyake *et al.* 1999; Penninckx 2002; Dickinson 2002; López del Castillo-Lozano *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2007).

Yapılan bir araştırmada metionin gerektiren *S. cerevisiae* türlerinin hidrojen sülfür ürettiği ortaya konmuş ve üretimin genetik tanımlanması yapılmıştır (Wainwright 1970; Acree *et al.* 1972; Linderholm *et al.* 2008). Benzer olarak mayalar tarafından H₂S üretimi ile ilgili birçok çalışma yapılmış ve etkenler incelenmiştir (Wainwright 1971; Schütz and Kunkee 1977; Pagella *et al.* 1996; Spiropoulos and Bisson 2000; Spiropoulos *et al.* 2000; Henschke and Jiranek 1991; Yoshida *et al.* 2011). Metabolizma faaliyetlerini yürütmek amacı ile *S. cerevisiae* içinde sitokrom a, sitokrom b, sitokrom c ve Fe-sülfür proteinleri görev yapmaktadırlar (Chiao and Peterson 1953; Elskenz *et al.* 1991). Biyokimyasal süreçlerde mayalar biyokatalizör olarak kullanılmaktadırlar (Strehaiano *et al.* 2006). Mayaların üreme sıcaklık ve pH ortamları belirlenerek, enerji

oluşumu ve fizyolojileri üzerine çalışmalar yapılmıştır (Hinze and Holzer 1986; Heard and Fleet 1988; Gancedo and Serrano 1989). *S. cerevisiae* 'nın tanınması ve sayımı yeni geliştirilen hızlı PCR teknikleri kullanılarak yapılabilmektedir (Mortimer *et al.* 1992; Arlorio *et al.* 1999; Feng *et al.* 2000; Martorell *et al.* 2005).

S. cerevisiae ayrıca, madencilikte pirit ve kömür flotasyonunda diğer biyoliçing mikroorganizmaları ile birlikte depressant olarak kullanılmaktadır. Konu ile ilgi olarak yapılan mikro ve makro düzeyde flotasyon bastırma çalışmalarında, hidrofobik yapıda olan pirit mineralinin bastırılmasında kullanılan *S. cerevisiae*'nin asidik pH'larda başarılı sonuçlar verdiği belirlenmiştir (Kawatra and Eisele 1999).

S. cerevisiae'nin alkol üretimine paralel olarak en yaygın kullanım alanlarından biri de alkollü içecek üretimidir ve özellikle şaraplarda hidrojen sülfür gibi kükürt bileşiklerinin oluşumu üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Şarap fermentasyonunda enzimatik ve enzimatik olmayan yollar ile sülfat, sülfid, sülfür içeren amino asitler, tiyoller, dimetil sulfid ve hidrojen sülfür oluşumlarının biyokimyasal yolları belirlenmiştir (De Mora *et al.* 1986; Fleet and Heard 1993; Kuenen *et al.* 1993; Thomas *et al.* 1993; Swiegers *et al.* 2007).

S. cerevisiae'nin inorganik ve organik sülfür bileşiklerini biyokimyasal olarak sülfat assimilatori redüksiyon yolu veya sülfat redüksiyon seküens yolu ile metabolize ettiği belirlenmiştir (Surdin-Kerjan 2003). Bu yollarda belirlenmiş 30 civarında enzimin sülfürlü bileşiklerin metabolizmasında görev yaptığı kanıtlanmıştır. Sistein ve metionin biyosentezinde *S. cerevisiae*'nin yaptığı sülfat assimilatori redüksiyon yolu ile aşırı miktarda HS⁻ ve hidrojen sülfür oluşumu gerçekleştiği, sistein ve metiyonin gibi sülfürlü bileşiklerin metabolizmasında hidrojen sülfürün ara madde olarak oluştuğu ve azotlu besinlerin yetersiz olduğu fermentasyon süreçlerinde hidrojen sülfür oluşumunun çok arttığı ortaya konmuştur (Jiranek *et al.* 1995; Barnett *et al.* 2000). Hidrojen sülfür oluşumu yanında *S. cerevisiae* metabolik ürünleri arasında dimetilsülfid ve karbon sülfür (CS₂) bileşiklerinin de üretildiği belirlenmiştir.

***Acetobacter aceti*:** Mikrobiyal endüstride çok yaygın olarak kullanılan mikroorganizmalardan olan *Acetobacter* türleri biyoliçing çalışmalarında denenmiştir. *A. aceti* aerobik ortamda yaşayan ve alkolü asetik asite dönüştüren, asetat'ı ve laktat'ı CO₂ ve H₂O'ya oksitleyen gram negatif bir Proteobacteria bakterisi türüdür (Carr 1968). Oksidatif fermentasyon yaparak alkolden asetik asit üreten *A. aceti*'nin en uygun yaşama sıcaklığı 30°C'dir. *A. aceti* en önemli oksitleme yapan bakteridir ve *A. Aceti* etanol bulunmadığı ortamda asetat'ı oksitleyerek asetat karbonunu enerji kaynağı olarak kullanmaktadır. *A. aceti*, asetik asit üretiminde kullanılan enzimlerin üretimini yapabilmektedir. Etanol veya asetat, sitokrom c ortamında oluşan dehidrojenez enzimlerinden gelen elektronlar ile oksitlenmektedirler. *A. aceti* içerisinde etanol tarafından asetat oksitlenmesinin durdurulması üzerine bir çalışma yapılmıştır. Real-time PCR and nested PCR teknikleri kullanılarak *A. aceti*'nin sayımı ve tanımlanması yapılmıştır (González *et al.* 2006).

S. cerevisiae ve *A. aceti*'nin ortaklaşa yaşayarak (simbiyotik) yaptığı asetik asit üretiminin ilk basamağında *S. cerevisiae* ile glikoz oksijensiz ortamda alkole dönüştürülür (McGee *et al.* 1972). *S. cerevisiae* tarafından üretilen etil alkol ise *Acetobacter* spp. (*A. aceti*, *A. acetogenum*, *A. curum* vb.) türü bakteriler ile asetik asite dönüşmektedir.

Asetik asit fermentasyon süreci etil alkol, çözülmüş oksijen ve asetik asit derişim parametrelerine bağılı olarak gerçekleşmektedir. Asetik asit biyodönüşümüne ilişkin matematiksel modeller birçok çalışma ile belirlenmiştir (Holzberg *et al.* 1967). *A. aceti* and *G. roseus* mikroorganizmalarının biyoelektrokatalitik özellikleri incelenmiş, akım üretimine çalışılmıştır (Karthikeyan *et al.* 2009).

2.4.2. Mikroorganizmaların mineral yüzeyine tutunması

Biyoliçing mikroorganizmalarının mineral yüzeyine tutunmaları veya yüzeyden kopmaları salgılama ve ortam koşullarına bağılı olduğu belirtilmiştir (Porro *et al.* 1997). Mineral yüzeyinde immobilize olan mikroorganizmalar ise mineral yüzeyindeki

biyofilm tabakasına tutunarak Fe(II)'yi biyooksitlemektedirler (Gonzalez *et al.* 1999). Mikroorganizmalar biyofilm içerisinde biyokütle büyümesi veya bölünme gibi biyokimyasal tepkimelere katılarak taşınma yapmaktadırlar ve mineral yüzeyinde yeterli Fe(II), sülfür, proton ve oksijen sağlayabildikleri sürece yüzeyden kopmamaktadırlar (Laca *et al.* 1998). Pirit gibi mineral yüzeylerine bakterilerin tutunarak immobilize olmalarında hücre dışı polimerik bileşenlerin tutucu görev yaptığı belirlenmiştir. Hücre dışı polimerik bileşenler glikuronik asit yoluyla Fe(III) iyonları ile kompleks yaparak metal yüzeyine mikroorganizmanın tutunmasını sağlamaktadırlar. Yapılan araştırmada hücre tarafından salgılanan bu polimerlerin ortamdan çekilmesi ile hücrelerin metal yüzeylerine tutunmaları engellenmiş ve sonuç olarak biyoliçing işleminin veriminin düştüğü belirlenmiştir (Fukui and Tanaka 1982). Mikroorganizmaların mineralin katı yüzeyine tutunmalarının ekzopolimer biyofilm membran içindeki $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranına çok bağlı olduğu belirtilmiştir. Sülfidlerin biyoliçinginde genel olarak bakterinin önemli bir bölümü geçici veya kalıcı olarak sülfür minerali yüzeyine tutunmuş haldedirler. Bu bakteriler sadece çözeltideki Fe(II) iyonunu biyooksitlemekten başka katı sülfidleri yenilenebilir enerji kaynağı olarak kullandıkları için mikroorganizmaların mineral yüzeylerine immobilize olmaları çok önem taşımaktadır.

Metallerin diri organizmalara ya da ölü biyokütlenin içerdiği biyokimyasallara tutunarak immobilize olması biyosorplama işlemini oluşturmaktadır. Biyosorplama işleminde fizikokimyanın adsorpsiyon modeli uygulanmaktadır (Gadd 1993; Koch 1998; Rodriguez *et al.* 2003). Biyosorplama oluşma mekanizması fiziksel kuvvetler ile adsorpsiyon, kapiler içerisine tuzaklama ve polisakkarit yapılara tutunma şeklinde gerçekleşmektedir. Hücre metabolizmasına bağlı olarak elementlerin hücre içinde birikimine neden olmaktadır ki bu tür biyosorplama ancak canlı hücreler ile gerçekleşmektedir.

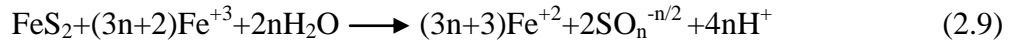
2.4.3. Mineral yüzeyinde biyofilm oluşumu

Biyofilmler mikroorganizmaların bir yüzeye tutunarak kendi ürettikleri polisakkaritler içerisinde yaşama ortamlarıdır (Crundwell 1996). Metallere tutunan mikroorganizmalar

polisakkarit biyofilm içerisinde besin, mineral, O₂ ve H⁺ taşınımı ile birçok tepkime gerçekleştirirler. Biyofilm içinde gerçekleşen tepkime oranları teorik olarak yayınıma bağlı tepkime hızı ile belirlenebilmektedir (Brito and Melo 1999).

2.5. Pirit Külü Biyodesülfürizasyon İşleminin Stokiyometrisi

Stokiyometrik olarak her bir kmol Fe(II)'nin biyooksitlenmesi ile 300 g biyokütle oluşumunun sağladığı ortaya konmuştur (May *et al.* 1997; Yalçın ve Gürü 2005). Piritin Fe(III) ile biyooksitlenmesinde değişik kükürt bileşiği oluşabilme olasılıkları aşağıdaki gibi genelleştirilmiştir. Fe(III)'ün mol katsayısı (3n+2) olarak kabul edilerek, aşağıda verilen denklem belirlenmiştir.



Burada n=0'dan n=4'e kadar değer verildiğinde 0'dan +6'ya kadar değişen valanslarda çok sayıda kükürt ürünü oluşabilme olasılığı ortaya çıkmaktadır. n=4 değeri verildiğinde ise sadece sülfat iyonu oluşmaktadır. Örnek olarak, n=0 değeri için elementel sülfür açığa çıkmakta ve tepkime denklemi aşağıdaki gibi olmaktadır.



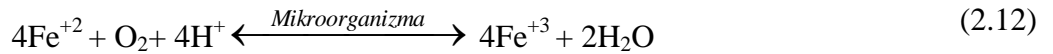
2.6. Demir ve Kükürdün Çözünmesi

- **Fe(II) oluşumu:** Pirit mineralinin biyooksitlenmesi sadece Fe(III) ortamında gerçekleştiği için pirit ancak Fe(II)'yi Fe(III)'e biyooksitleyen mikroorganizmalar tarafından çözündürülebilmektedir. Kimyasal ve mikrobiyal yollar ile Fe(II) oluşum tepkimeleri aşağıda verilmiştir (Boon and Heijnen 1997).

Kimyasal yol ile piritten Fe(II) ve sülfat oluşum tepkimesi:



Mikrobial yollar ile Fe(II)'nin biyooksitlenme tepkimesi:



- **Fe(III) oluşumu:** Mineral bileşenlerinin biyooksitlenmesi genel olarak çözeltilerde bulunan çözünmüş oksijen tarafından veya Fe(II)'nin kemilitotrofik mikroorganizmalar tarafından biyokimyasal biyooksitlenmesi ile oluşan Fe(III) iyonlarının atağı ile gerçekleşmektedir. Fe(III) iyonları metal sülfidleri için biyooksitleme iyonudur. Metal sülfidlerinin biyooksitlenmesi tepkimelerinde oksijen her ne kadar en son elektron kabul edici olsa da Fe(III) iyonları biyoliçing tepkimelerinde en önemli görevi yapmaktadır.

Kükürt oluşumu: Kükürt oksitleyen mikroorganizmalar yaşamaları için gerekli olan enerjiyi sülfür'ün sülfat'a birkaç basamaktaki tepkimeler ile oksitlenmesi sonucu elde etmektedirler (Schippers 2003). Kükürd'ün sülfat'a biyolojik olarak oksitlenmesi tiyosülfat ve polisülfid gibi çeşitli tepkime yolları ile gerçekleşmektedir. Sülfid minerallerinin biyoliçingi sürecinde sülfür bileşenlerinin oluştuğu belirlenmiştir. Pirit minerali ile yapılan bir çalışmada, mineral yüzeyinde *T. ferrooxidans* tarafından salgılanan hücre dışı polisakkarit biyofilm içerisinde kolloid sülfürler oluşumu gözlemlenmiştir (Rojas-Chapana *et al.* 1996).

2.7. Nernst Eşitliği

Biyokimyasal tepkimelerde metallerin indirgenme ve yükseltgenmelerinde elektron alışverişlerini içeren ve mikroorganizmaların enzimleri ile yönetilen solunum süreçleri Gibbs enerji değişim değeri E_h (mV) ile ölçülmektedir ve Nernst tarafından bir eşitlik ile

ifade edilmiştir. Eşitlik (2.13)'te Nernst eşitliği verilmiştir (Biegler and Horne 1985; Pesic and Kim 1993; Sandler 1999; Hammes 2000; Tekin *et al.* 2001).

$$E_H = E_o + 2,303 \frac{R_g T}{nF} \log \frac{[M^{+3}]}{[M^{+2}]} \quad (2.13)$$

Nernst eşitliği tepkimeye giren indirgenen ve yükseltgenen maddeler yanında hidrojen iyonlarının da miktarını bulmakta kullanılabilir. Elektron alışverişinde gerekli olan elektrik potansiyeli mili volt (mV) birimi ile gösterilmiştir. Bileşiklerin elektron (e^-) ilgisi standart indirgeme potansiyelini ifade eder, elektronlara olan ilgiyi ölçer ve indirgeme potansiyeli E_0 ile gösterilir.

Yükseltgenmiş veya indirgenmiş şekilde bulunan bir maddenin uygun koşullarda hidrojene göre elektron alışverişini ölçen elektrokimyasal değer, redoks potansiyeli olarak tanımlanmaktadır. Tepkime ortamında gerçekleşen yarı tepkimelerden negatif (-) redoks potansiyeli indirgenmeyi ve pozitif (+) redoks potansiyeli ise yükseltgenmeyi belirtir (Ikeda and Kano 2001). Standart elektrik potansiyeli E_0 25°C ve 1 atm de tepkimeye giren iyonların 1 M derişimi ile ölçülmektedir. Buna göre Fe(II)'nin Fe(III)'e oksitlenmesinde 0.77 V elde edilmektedir.

2.8. Michaelis-Menten ve Monod Modellerinin Uygulanması

Michaelis-Menten Eşitliği: 1913 yılında Michaelis ve Menten tarafından yayınlanan eşitlik, besin derişiminin kısa sürede sabit hale geçtiği ve enzim ile besinin ürüne dönüşümünden önce enzim molekülü ile birleşik yaptığını varsayarak, üç basamaklı gerçekleşen tepkime denge sabitleri ile enzim kinetiğinin çıkarılmasını içermektedir (Michaelis and Menten 1913; Sinclair and Kristiansen 1987; Shuler and Kargi 2002; Türker 2005). Michaelis ve Menten enzim kinetiği 1925 yılında Briggs ve Haldane tarafından geliştirilmiştir (Briggs and Haldane 1925).

Michaelis-Menten modellemesinin uygulanması için gerekli koşullar:

- Sıcaklık, iyonik dayanıklılık, pH ve diğer fiziksel koşullar sabittir
- Herbir enzim birim zamanda tek bir molekül için işlev yapmaktadır
- Enzim miktarı birim zamanda değişmez kabul edilir
- Besin derişimi enzim derişiminden çok fazladır

Michaelis-Menten eşitliğinin çıkarılış basamakları aşağıda verilmiştir:

Biyokatalizörler olarak tanımlanan protein yapılı enzimler (E) substratları (S) ürünlere (P) dönüştürerek tepkimeden bozunmamış olarak ayrılırlar:



Biyotepkimeler gerçekleşirken enzimler ara kademede substratlar ile kompleks yaparlar:



Her bir tepkime dengesi bir (t) anında aşağıdaki gibi yazılabilir:

$$\frac{d[E]}{dt} = k_{-1}[ES] + k_2[ES] - k_1[E][S] \quad (2.16)$$

$$\frac{d[S]}{dt} = k_{-1}[ES] - k_1[E][S] \quad (2.17)$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (2.18)$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \quad (2.19)$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \quad \text{kabul edilerek [E] için çözüm yapılır.}$$

Besinlerin ürüne dönüşüm oranını ifade eden genel eşitlik şöyle yazılır:

$$r_{MM} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} \quad (2.20)$$

$$- [k_{-1}[ES] - k_1[E][S]] = k_2[ES] \quad (2.21)$$

Başlangıç enzim miktarı, ortamdaki toplam enzim miktarına eşit kabul edilir:

$$[E]_T = [E] + [ES] \quad (2.22)$$

$$- [k_{-1}[ES] - k_1[[E]_T - [ES]][S]] = k_2[ES] \quad (2.23)$$

$$[ES] = \frac{k_1[E]_T[S]}{k_1[S] + k_2 + k_{-1}} = \frac{[E]_T[S]}{\left[\frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \right] + [S]} \quad (2.24)$$

Denge sabitleri (k_1 , k_{-1} , k_2), Michaelis-Menten sabiti olarak tanımlanan K_{MM} olarak gösterilerek yerine yazıldığında eşitlik (2.25) elde edilir.

$$K_{MM} = \left[\frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \right] \quad (2.25)$$

$$[ES] = \frac{[E]_T[S]}{K_{MM} + [S]} \quad (2.26)$$

Enzim tepkime hızı ürün oluşumuna eşit olduğundan tepkime hızı şöyle yazılır.

$$r_{MM} = \frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] = \frac{k_2[E]_T[S]}{K_{MM} + [S]} \quad (2.27)$$

$$r_{MMmaks} = k_2[E]_T \quad (2.28)$$

En yüksek denge sabiti yerine yazıldığında Michaelis-Menten eşitliği son halini alır:

$$r_{MM} = \frac{r_{MMmak} [S]}{K_{MM} + [S]} \quad (2.29)$$

Bu çalışmada; Michaelis-Menten modeli kuramsal olarak pH değişiminden elde edilen Fe(II)'ye bağlı kükürt değişiminin belirlenmesi için uygulanmıştır. pH, sıcaklık ve besin gibi parametrelerin dışarıdan herhangi bir etki ile değiştirilmediği tepkimelerde, sadece sülfür besini üzerinden değerlendirme yapılmış ve enzim üzerine inhibisyon etkilerinin dikkate alınmadığı kabul edilmiştir.

Monod eşitliği: Monod eşitliği besin tüketimine bağlı olarak mikrobik büyümenin ifade edilmesidir ve mikrobik büyüme sürecinde elde edilen deneysel verilerin kinetik sabitlerinin bulunması için kullanılmaktadır (Monod 1949; Koch 1998; Liu 2006; Liu 2007; Snoep *et al.* 2009). Michaelis-Menten modellemesinin uygulanması için gerekli koşullar Monod modellesi için de geçerli olmaktadır.

Mikroorganizma büyümesinde besin [S], mikroorganizma [X] ve ürün [P] arasındaki ilişkiyi gösteren genel denklem şöyledir.



Besin ile mikroorganizma birleşiminin ara kademesi gösterilerek genel denklem aşağıdaki gibi yazılır.



Burada [SX], besin-mikroorganizma birleşimidir.

Michaelis-Menten modelindeki substrat ve enzim eşitlik basamakları, burada mikroorganizma ve substrat basamaklarına uygulanır.

Ürün birikim oranı:

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[SX] \quad (2.32)$$

$\frac{d[SX]}{dt} = 0$ koşulu ile denklem biyokütle [X] için yazılırsa:

$$[X] = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1[S]} [SX] \quad (2.33)$$

Toplam biokütle değerinin $[X_T]$ değişmez olduğu koşulu ile denklem şöyle yazılır:

$$[X]_T = [X] + [SX] \quad (2.34)$$

[X] yerine konur ve $[X_T]$ için çözülürse:

$$[SX] = \frac{[S][X]_T}{(k_{-1} + k_2)(k_1 + [S])} \quad (2.35)$$

$[SX]$ yerine yazılarak aşağıdaki denklem elde edilir:

$$\frac{d[X]}{dt} = k_2[X]_T \frac{[S]}{K_M + [S]} \quad (2.36)$$

$$\frac{d[X]}{dt} = k_2 \frac{[S]}{K_M + [S]} [X]_T \quad (2.37)$$

Burada;

$$K_M = \left[\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \right] \quad (2.38)$$

$r_{Mmak}=k_2$ değişikliği yapıldığında;

$$r_M = \frac{r_{Mmak} S}{K_M + S} \quad (2.39)$$

Bu çalışmada; Monod modeli mikroorganizmaların mV değişiminden elde edilen Fe(II) tüketim oranının kinetik sabitlerinin bulunması için kullanılmıştır. pH, sıcaklık ve besin gibi parametrelerin sabit tutulduğu süreçlerde değişim sadece Fe(II) besini üzerinden değerlendirilmiş ve mikrobiyal büyüme sürecinde enzimler üzerine inhibisyon etkileri dikkate alınmamıştır.

Michaelis-Menten ve Monod kinetik sabitlerin bulunmasında kullanılan grafik yöntemler: Michaelis-Menten ve Monod kinetik sabitlerin bulunmasında Fe(II) değişiminin türevinin polinoma uydurma yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır (Fogler 2006). Lineer olmayan Michaelis-Menten ve Monod tepkime oranı eşitliklerinin lineer forma dönüşmesi için, Langmuir, Lineweaver-Burk ve Eadie-Hofstee dönüşümleri kullanılmaktadır (Lineweaver and Burk 1934).

Michaelis-Menten ve Monod sabitlerinin belirlenmesi amacıyla geliştirilen lineerleştirme denklemleri aşağıda verilmiştir:

Langmuir-Hanes:

$$\frac{[S]}{r} = \frac{K}{r_{mak}} + \frac{[S]}{r_{mak}} \quad (2.40)$$

Lineweaver-Burk:

$$\frac{1}{r} = \frac{1}{r_{mak}} + \frac{K}{r_{mak}} \frac{1}{[S]} \quad (2.41)$$

Eadie-Hofstee:

$$r = r_{mak} - K \frac{r}{[S]} \quad (2.42)$$

Doğrusal grafiklerde en yüksek x ve y eksen değerleri kullanılarak $y_{mak} = r_{mak}$ ve $x_{mak} = r_{mak}/K$ değerleri bulunmatadır.

2.9. Biyosülfürizasyon Sürecinde Taşınım Olayları

Biyoliçing sürecinde kütle taşınımı: Biyoliçing sürecinde kütle taşınımında mineral yüzeyinde oluşan biyofilm tabakasının çok etkili olduğu çalışmalar ile belirlenmiş ve biyofilm ortamında kütle taşınımını ifade eden matematiksel modeller geliştirilmiştir. Mineral cevherlerinden biyolojik metal liçingine uyarlanmış mikroorganizma düzeyinde kimyasal ve biyokimyasal tepkimeleri incelemek için iki boyutlu homojen olmayan biyofilm modeli üzerine çalışmalar yapılmıştır (Bird *et al.* 1960; Jenson and Jeffreys 1963; Roman *et al.* 1974; Wylie 1975; Crank 1983; Shonnard and Bell 1989; Boon 1996; Boon and Heijnen 1997; Liu *et al.* 2005; Olivera-Nappa *et al.* 2010). Mikroorganizmalar ve inorganik maddeler için doğrudan tepkimelerin nasıl geliştiğinin belirlenmesini sağlamak için yapılan partikül temelli model, kimyasal ve mikrobiyolojik mineral çözünmesi üzerindeki fazların etkisini ortaya koymuştur (Kreft *et al.* 2001; Picioreanu *et al.* 2004; Ma and Banfield 2011).

Biyofilm sistemlerinde yayılım en önemli transport sürecini oluşturmakta ve biyofilm içerisinde besin, oksijen ve su akışının azalması nedeni ile yayılım sınırlaması ortaya çıkmaktadır (Boon and Heijnen 2007; Caşcaval *et al.* 2011). Mineral üzerinde oluşan biyofilmin kalınlığı doğrudan yayılımı sınırlayıcı özellik göstermekte ve konvektif transportun azalmasına neden olmaktadır (Sand *et al.* 1995).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyallerin Temini ve Hazırlanması

Pirit külü: Biyoliçing çalışmalarında kullanılan pirit külü Eti Maden Genel Müdürlüğüne bağlı Bandırma Boraks ve Asit Fabrikaları'ndan alınmıştır. Deneylede yüksek demir (%61.08 Fe) ve düşük toplam kükürt oranı (%0.59) içeren pirit külü numuneleri kullanılmıştır. Pirit külünün partikül büyüklük analizi Malvern Instruments Ltd. Mastersizer 2000 Ver. 5.60 cihazı ile yapılmıştır. Şekil 3.1'de verilen pirit külünün tane büyüklük analiz sonuçları diyagramında görüldüğü gibi, 100 mikron altı partikül büyüklüğünden oluşan numune içerisinde en yüksek oranda 50 mikron partiküllerin bulunduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılan biyoliçing çalışmalarında tane büyüklüğünün süreci etkileyen en önemli etken olmasından dolayı 100 mikron altı tane büyüklüğündeki numuneler kullanılmıştır (Tekin 2010).



Şekil 3.1. Pirit külünün tane büyüklüğü grafiği

Biyodesülfürizasyon işleminde kullanılan mikroorganizmalar: Biyoliçing deneylerinde kullanılan *S. cerevisiae* ticari maya kaynağından ve *A. aceti* ise sirkeden uygun besiyerleri ile ayrılmış ve büyütülmüştür. Deneylede mikroorganizma bulunan ortamlara *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının gelişebileceği özellikle kükürt

içermeyen besin maddeleri katılmış bununla birlikte deney kurulumuna göre sınırlı miktarlarda glikoz, alkol ve asetik asit katkıları yapılmıştır.

3.2. Deneylerde Kullanılan Araç ve Gereçler

Biyoliçing sürecinin gözlemlenmesinde yapılacak olan deneylerde kullanılan olan bazı araç ve gereçlerin görselleri Şekil 3.2’de verilmiştir:



Şekil 3.2. Deney odaları, araç ve gereçleri

3.3. Dney Tasarımı, Analiz ve İşlem Yöntemleri

Deney tasarımı: Biyodesülfürizasyon deney tasarımı değişik madde ve mikroorganizmaların düzenli bir şekilde hazırlanan karışımları kullanılarak yapılmıştır. Tüm deneylerde pirit külü %5 kuru madde oranında ve diğer maddeler ise ayrı ayrı %1 oranında karışımlar halinde kullanılmıştır. Mikroorganizmaların başlangıç sayıları yaklaşık 10^5 cfu (colony forming unit) olacak şekilde deney ortamlarına katılmıştır. Mikroorganizma karışımı deneylerde pirit kükürdünün önce mikroorganizmalar tarafından tüketilmesi ve daha sonra da bu biyokütlelerden kükürdün hidrojen peroksit kullanılarak sülfata oksitlenmesi sağlanmıştır. Pirit külünün biyodesülfürizasyonu deneyleri 500 ml’lik yuvarlak plastik kaplar içerisinde kesikli ve karıştırma yapılmadan sıvı fermentör koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Değişik madde ve mikroorganizmalar içerecek şekilde tasarlanan deney numuneleri biyokimyasal ve biyolojik süreçler olarak belirlenmiştir. Biyodesülfürizasyon deney tasarımı su, pirit külü, glikoz, alkol, asetik asit, *S. cerevisiae* ve *A. aceti* madde ve mikroorganizmalarının düzenli bir şekilde hazırlanan karışımları kullanılarak yapılmıştır. Deney karışımları şekil ve çizelgelerde; a, b, c, d, e, f, g, h, i, j, k, l, m, n, o, p, q harfleri ile gösterilmişlerdir.

1-Biyokimyasal Süreç: Su, pirit külü, glikoz, alkol ve asetik asit karışımından oluşmaktadır.

- a) Su+Pirit Külü
- b) Su+Pirit Külü+Glikoz
- c) Su+Pirit Külü+Alkol
- d) Su+Pirit Külü+Asetik Asit
- e) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol
- f) Su+Pirit Külü+Glikoz+Asetik Asit
- g) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol++Asetik Asit

2-Biyolojik Süreç: Su, pirit külü, glikoz, alkol, asetik asit, *S. cerevisiae* ve *A. aceti* karışımından oluşmaktadır.

- h) Su+Pirit Külü+*S. cerevisiae*
- i) Su+Pirit Külü+Glikoz+*S. cerevisiae*
- j) Su+Pirit Külü+*A. aceti*
- k) Su+Pirit Külü+Asetik Asit+*A. aceti*
- l) Su+Pirit Külü+ Glikoz+*A. aceti*
- m) Su+Pirit Külü+Alkol+*A. aceti*
- n) Su+Pirit Külü+Glikoz+*S. cerevisiae*+*A. aceti*
- o) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+*S. cerevisiae*+*A. aceti*
- p) Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+*S. cerevisiae*+*A. aceti*
- q) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit+*S. cerevisiae*+ *A. aceti*

Analiz yöntemleri: Biyoliçing çalışmalarında karıştırmasız ortamlarda 25°C ve 30°C sıcaklıklarda haftalık olarak Fe(III), 25°C ve 35°C sıcaklıklarda sekiz haftalık deney dönemi sonunda kükürt, 25°C, 30°C ve 35°C sıcaklık ortamlarında ise pH ve mV değerlerinin ölçümleri yapılmıştır.

Fe(III) tayini: Biyoliçing sürecinde çözünen Fe(III)'ün belirlenmesi EDTA çözeltisi kullanılarak titrimetrik yöntem ile yapılmıştır. Bu yöntemle göre biyoliçing sürecinde yükseltgenerek çözülmüş demir (Fe^{+3}) Etilen diamin tetra asetik asit (EDTA) ile Fe(III) damlatmasında Variamine Blue B göstergesi kullanılmıştır. Damlatmada harcanan 1 mL 0.01 M EDTA, 0.5585 mg Fe(III)'e eşdeğer olarak alınmıştır.

Kükürt tayini: Kükürt ölçümleri 30°C ve 35°C sıcaklık ortamlarında sekiz hafta süren deney dönemi sonunda spektrofotometrik yöntem kullanılarak yapılmıştır.

pH ve mV ölçümleri: Deneylerde ortamın proton (H^+) ve redoks potansiyeli değişimleri pH ve mV ölçüm elektrotları kullanılarak yapılmıştır.

Mikroorganizma sayımı: Thoma lamı (hemositometre) kullanılarak yapılan mikroorganizma sayım yönteminde mikroskop altında *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının sayımları yapılmıştır. Thoma lamı ile mikroorganizma sayısı bulunmasında aşağıdaki formül kullanılmaktadır (Tekin 2010):

$$\text{Mikroorganizma sayısı} = A \cdot SF \cdot 10000$$

Burada; A, onaltı büyük karede sayılan mikroorganizma sayısı, SF ise seyreltme faktörüdür.

İşlem Yöntemleri: Deney verilerinin değerlendirilmesinde grafik yöntemler kullanılmış ve işlemler ve eğri çizimleri MATLAB (Matrix Laboratory) yazılımı kullanılarak yapılmıştır (Borse 1996; Sevela and Bertalan 2000; www.mathworks.com).

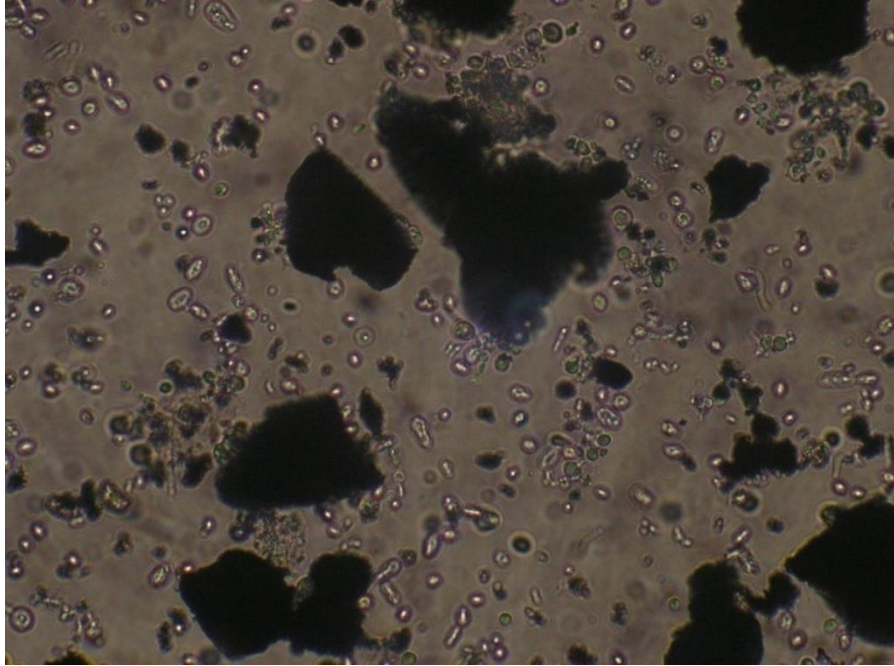
4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA

Biyodesülfürizasyon işlemini gerçekleştirebilecek birçok mikroorganizma ile ön denemeler yapılmış ve sonuç olarak kükürt kullanabilme özelliği çok yüksek olan fungi familyasından *S. cerevisiae*'nin kullanılmasına karar verilmiştir. *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin seçilmesinin ana nedeni pirit mineralindeki demirin çözündürülmeden sadece kükürdün giderilmesinin amaçlanmış olmasıdır. Bu amaca uygun olarak *S. cerevisiae*'nin pirit külündeki organik ve anorganik kükürt bileşiklerini metabolizmasında kullanabilme özelliğinden yararlanılmak istenmiştir. İyi bir demir oksitleyen mikroorganizma olmayan *A. aceti* ortamın asitliğini korumak için kullanılmıştır. Çalışmalarda *A. aceti*'nin etkili olmamasına rağmen, *S. cerevisiae*'nin pirit mineralinin yüzeyine tutunarak immobilize olması ve buna ilave olarak mikroorganizmaların pirit külü ortamında yaşayabilmeleri, mikroorganizma seçiminde en önemli etken olmuştur. Deneyler sonucunda *S. cerevisiae*'nin pirit külündeki kükürdün önemli bir kısmını metabolizmasında kullanabildiği belirlenmiştir. Pirit mineralinin biyoliçingi çalışmalarında yaygın olarak kullanılan mikroorganizmaların neredeyse tamamı mineraldeki demiri oksitleyen mikroorganizmalar olmuştur (Rawlings and Silver 1995; Brandl 2001). Pirit demirini oksitleyen mikroorganizmalar ile karşılaştırıldığında *S. cerevisiae*'nin pirit külündeki kükürt bileşiklerini besin olarak kullanabildiği tespit edilmiştir.

Daha önce yapılan pirit mineralinin mikroorganizmalar üzerine etkisi ile ilgili çalışmalarda ortaya çıktığı gibi bu çalışmada da pirit mineralinin mikroorganizma büyümesinde etkisi incelenmiştir. Pirit külünün mikroorganizmalar üzerindeki en önemli etkisi olarak mikrobik büyüme dikkate alınmış ve pirit külü ortamının mikroorganizmaların büyümesine herhangi bir zarar vermediği bilakis yaşamasına destek olduğu gözlemlenmiştir. Pirit mineralinin yapısında bulunan kükürdün büyük bir kısmı sülfürik asit üretim sürecinde ısıtma işlemine tabi tutularak alınmasıyla külde kalan yaklaşık %0,59 oranındaki kükürt ile diğer bileşenlerin mikroorganizma büyümesine engel olmadığı buna bağlı olarakta mikrobik ve enzimatik aktivitenin sürdüğü gözlemlenmiştir.

4.1. *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin Ayrılması ve Büyümesi

***S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin ayrılması:** *S. cerevisiae* ve *A. aceti* kaynaklarından standart analiz yöntemlerine uygun olarak seçimli kültür yapılarak ayrılmışlar ve deneyler öncesinde uygun besiyeri ortamlarında büyütülmüşlerdir. *S. cerevisiae* ticari mayadan YPG (yeast extract, peptone, glucose) agar ve eritromisin kullanılarak 30°C'de 72 saat süre ile seçimli kültürü yapılmıştır (Martorell *et al.* 2005). *A. aceti* geleneksel sirkeden GYC (glucose, yeast extract, calcium carbonate) agar ve pimarcin kullanılarak 30°C'de 48 saat süre ile seçimli kültürü yapılmıştır (Gullo *et al.* 2006). Şekil 4.1'de biyodesülfürizasyon deneylerinde kullanılan *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının görseli verilmiştir.

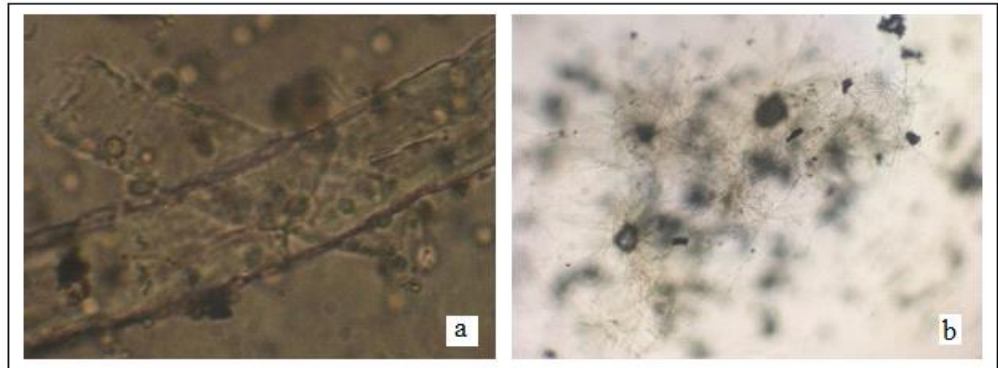


Şekil 4.1. Biyodesülfürizasyon sürecinde kullanılan *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmaları

***S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin büyütülmesi:** Yaklaşık olarak %60-65 demir, %0,5-1 toplam kükürt ve %0,6 bakır ile diğer birçok elementleri içeren pirit külünün bulunduğu sulu ortamın, *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının yaşaması için çok uygun bir ortam oluşturduğu çalışmalar süresince görülmüştür. Daha önceden *S. cerevisiae* ve

A. aceti'nin pirit külü çözeltileri içerisinde yaşama durumları üzerine araştırmalar yapılmadığı belirlendiği için asıl deneylere başlamadan önce yapılan ön denemelerde *S. cerevisiae* ve *A. aceti* çiftinin pirit külü çözeltileri içerisinde yaşayıp yaşayamayacakları incelenmiştir.

Ön denemelerde *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının pirit külü çözeltileri içerisinde gayet iyi gelişerek yaşadıkları ve toplu ölümlerin olmadığı tespit edilmiştir. Bu ön denemelerde ortaya çıkan en önemli sonuç pirit külü çözeltilerinin *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının her ikisi için de zehirli olmadıkları bilakis pirit külünün mineral bileşenleri bakımından bir besin kaynağı olduğu ve bu mikroorganizmaların yaşaması için uygun pH içerdiği belirlenmiştir. Pirit külü çözeltilerinin pH'larının 4-5 arası olmasından hareketle mikroorganizma seçimi yapılmış ve *S. cerevisiae* ve *A. aceti* ikilisinin bu çözelti pH ortamında yaşayabileceği kanaatine varılmıştır. Ön ve asıl deneylerde belirlendiği gibi ve *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının pirit külü çözeltileri içerisinde çok iyi derecede gelişmeleri yanında diğer mikroorganizmalarında geliştiği görülmüş ve bazı deneylerde çözelti yüzeylerinde bulaşma yoluyla küflerin oluşumuna rastlanmıştır. Şekil 4.2'de görüldüğü gibi, yapılmış olan bu ön deneylerde bakteri ve funjilerin birçoğunun pirit külü çözelti ortamında yaşadıkları ortaya çıkmıştır



Şekil 4.2. Pirit külü çözeltilerinde yaşayabilen değişik mikroorganizmalar (a- Lactobacillus, b- funji).

Pirit külü içerisinde bulunan başta demir ve kükürt olmak üzere bakır gibi elementlerin mikroorganizmaların enzimatik tepkime yollarında görev yapmaları, pirit külü çözeltilerini mikroorganizmalar için yaşayabilecek uygun ortam haline getirmiştir. *S. cerevisiae* ve *A. aceti* ile pirit külündeki demir, kükürt ve bakır elementleri arasında gerçekleşen metabolik biyokimyasal olayların incelikleri bu çalışmanın dışında tutulmuştur.

Sekiz haftalık çalışma sürecinde *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının herhangi birinin tamamen öldüğü hiçbir deney olmamış, sekiz hafta sonunda kükürde karşı ilgisi olan *S. cerevisiae*'nin bazılarının renklerinin karardığı mikroskop ile yapılan incelemelerde görülmüştür. Diğer biyoliçing çalışmaları ile karşılaştırıldığında *S. cerevisiae*'nin pirit külü içerisindeki yaşama süresi yeterli bulunmuştur.

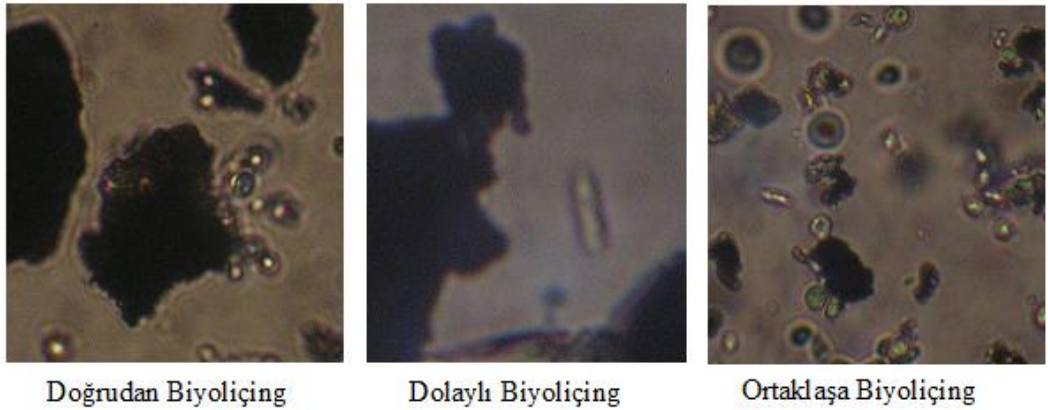
4.2. Biyodesülfürizasyon Denemeleri

4.2.1. Biyodesülfürizasyon sürecinde gerçekleşen biyoliçing yöntemleri

Giriş bölümünde belirtildiği gibi diğer çalışmalar ile karşılaştırma yapıldığında piritin biyoliçing yönteminin indirekt mekanizma ile gerçekleştiği ortaya konmuştur. Buna göre piritin biyoliçinginde mikroorganizmalar değil Fe(III) görev yapmakta ve Fe(II)'yi indirgemektedir (denklem (2.3)). *T. ferrooxidans* gibi Fe(II)'yi Fe(III)'e biyooksitleyen mikroorganizmalar bu deneylerde kullanılmadığı için değişik biyoliçing yöntemleri gerçekleştiği varsayılmıştır (Sand *et al.* 2001).

S. cerevisiae ve *A. aceti* ile yapılan biyodesülfürizasyon çalışmalarında gerçekleşen biyoliçing yöntemlerinden doğrudan, dolaylı ve ortaklaşa (kooperatif veya simbiyotik) olmak üzere üç yöntemin gerçekleştiği belirlenmiştir (Sand *et al.* 1995). Doğrudan biyoliçing yönteminde mikroorganizmalar mineral yüzeyine tam olarak tutunarak immobilize olmakta ve mineral yüzeyi ile fiziksel tutunma yapmaktadır (Schippers and Sand 1999).

Bu çalışmada; mineral tanelerinin üzerine tutunabilen *S. cerevisiae*'nin doğrudan biyoliçing işlemini gerçekleştirdiği varsayılmaktadır. Buna göre *S. cerevisiae*'nin içinde bulunduğu deneylerden (Su+PiritKülü+S. *cerevisiae*) ve (Su+PiritKülü +Glikoz+S. *cerevisiae*) doğrudan biyoliçing yönteminin gerçekleştiği deneyler olmuştur. *A. aceti* mineral yüzeyine mikrobik tutunma yapmayarak sadece proton (H^+) üretimi yapmış ve dolaylı olarak biyoliçing sürecine katkı sağlamıştır. *A. aceti*'nin içinde bulunduğu deney kurgularından (Su+Pirit Külü +Asetik Asit+A. *aceti*), (Su+PiritKülü +A. *Aceti*), (Su+Pirit Külü +A. *aceti*) ve (Su+Pirit Külü +Alkol+A. *aceti*) dolaylı biyoliçing yönteminin gerçekleştiği deneyler olmuştur. *S. cerevisiae* ve *A. aceti* ile birlikte ortak yaşayarak ortaklı biyoliçing yöntemini ortaya koymuştur. *S. cerevisiae* mineral yüzeyine tutunarak çözelti içerisinde serbest halde bulunan *A. aceti* ile ortaklık yapmıştır. *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin içinde bulunduğu deneylerden (Su+PiritKülü+Glikoz+S. *cerevisiae*+A. *aceti*), (Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. *cerevisiae*+A. *aceti*), (Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+A. *aceti*) ve (Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+A. *aceti*) ortaklaşa biyoliçing yönteminin gerçekleştiği deneyler olmuştur. Şekil 4.3'te doğrudan, dolaylı ve ortaklaşa biyoliçing yöntemlerini gösteren görseller verilmiştir.



Şekil 4.3. Deneylerde gerçekleşen biyoliçing yöntemleri

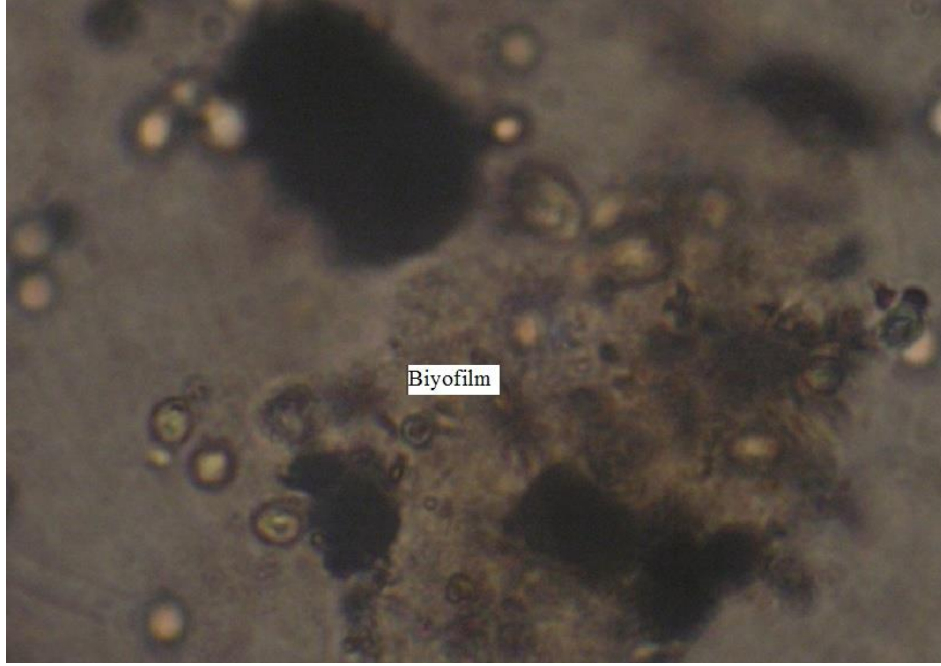
4.3. *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin Pirit Mineral Yüzeyine Tutunması

Bu çalışmada; *S. cerevisiae*'nin mineral yüzeyine tutunduğu *A. aceti*'nin ise ilk haftalarda hiç, son haftalarda ise biyofilm salgıları üzerine çok az tutunduğu tespit edilerek ışık mikroskobu altında fotoğrafları çekilmiştir. *A. aceti*'nin tane yüzeylerine çok az tutunma yapmasının nedeni ortam koşullarına bağlı olabileceği varsayılmakta ve değişik sıcaklık ve uzun zaman gerektiren salgılar ile oluşan biyofilmlere daha fazla tutunma olabileceği tahmin edilmektedir. Mikroorganizma tutunması ile ilgili yapılan diğer çalışmalara göre; metabolik tepkime, fiziksel adsorpsiyon, iyon değişimi ve kimyasal sorpsiyon gerçekleşmesine bağlı oluşan *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin mineral yüzeyine tutunmasının metabolizmaya bağımlı olan biyosorplama işlemi olduğu ve metal ve fonksiyonel gruplar arasındaki fiziko kimyasal etkileşimler sonucunda veya hücre dışı polimerik bileşenler glikuronik asit yoluyla Fe(III) iyonları ile kompleks yaparak mineral yüzeyinde tutundukları belirlenmiştir (Krisch and Szajáni 1997; Porro *et al.* 1997; Krisch and Szajáni 1997; Gomez *et al.* 2000; Lale *et al.* 2005; Wang and Chen 2006; Madden 2007). Hücre dışı polimerik bileşenler glikuronik asit yoluyla Fe(III) iyonları ile kompleks yaparak metal yüzeyine mikroorganizmanın tutunmasını sağlamaktadırlar. Pirit mineral yüzeyine tutunma meylinde olan *S. cerevisiae*'nin yaklaşık sayımları haftalık olarak yapılarak son haftanın sayımları alınmış ve buna karşılık *A. aceti*'nin ise tutunma sayıları az olduğu için dikkate alınmamıştır. Deney dönemi sonuna doğru, *S. cerevisiae*'nin bazı mineral yüzeylerinde kümeleşmeler yaptığı belirlenmiştir.

4.3.1. Pirit mineral yüzeyinde biyofilm oluşumu

Mineral yüzeyine tutunan mikroorganizmalar, bileşeni polisakkarit olan salgılar üreterek biyofilm oluşumunu gerçekleştirmektedirler (Crundwell 1996; Kreft *et al.* 2001). Bu çalışmada; pirit mineral yüzeyine tutunan *S. cerevisiae*'nin biyofilm tabakasına tutunduğu tespit edilmiş ve fotoğrafları çekilmiştir. Teorik yaklaşımlar yapılarak biyofilm tabakasında Michaelis-Menten ve Monod modellerinden elde edilen tepkime oranı değerleri aktivasyon enerjisi belirlenmesi işlemlerinde kullanılmıştır.

Şekil 4.4’de pirit mineral yüzeyine *S. cerevisiae* ve *A. aceti*’nin tutunması ve biyofilm oluşmasını gösteren fotoğraf verilmiştir.



Şekil 4.4. Pirit mineraline *S. cerevisiae*’nin tutunması ve biyofilm oluşumu

4.4. Biyodesülfürizasyon Denemelerinde Kullanılan Parametreler

Bu çalışmada; daha önceki yapılan çalışmalar ışığında biyodesülfürizasyon işlemini etkileyen etkenlerin en önemlilerinden mikroorganizma çeşidi, pH, redoks potansiyeli ve sıcaklık dikkate alınarak deneyler yapılmıştır (Das *et al.* 1999).

Biyodesülfürizasyon deneylerinde mikroorganizmaların yaşama durumları ve kükürt stokiyometrilere dikkate alınarak, Chen and Lin (2000) tarafından yapılan çalışmalardan yararlanılmış ve optimum madde karışımı olarak belirlenen %5 (g/g) oranında katı madde kullanımı ile deneyler yapılmıştır. %5 oranındaki pirit külü karışımı deneysel çalışmalar için belirlenmiş bir karışımdır. Süreç verimliliği bakımından alan uygulamalarında ise çok daha yüksek kuru madde oranları kullanılarak çalışmalar yapmak gerekmektedir. Değişik mineraller ile yapılan biyoliçing çalışmalarında karışım

yoğunluğunun artması ile biyoliçing veriminin düştüğü belirlenmiştir.

Mineral çözündürme işlemlerinin çoğunluğunda tane büyüklüğünün küçülmesi ile çözünme veriminin arttığı birçok çalışma ile ortaya konmuştur (Kuşlu *et al.* 2010). Bu çalışmada Mastersizer cihazı ile analizi yapılmış olan 100 mikron elek altı ve 50 mikron tane büyüklüğü çoğunlukta olan pirit külü numunesi kullanılmıştır. Deneylede daha küçük tane büyüklüğünün kullanılmasının verimi daha da artıracak tahmin edilirken, deney ortamlarında çekilen fotoğraflarda da görüldüğü gibi bu tane büyüklüğü *S. cerevisiae*'nin pirit mineralinin yüzeyine tutunması için yeterli olmuştur.

4.5. Sıcaklığın Biyodesülfürizasyon Sürecine Etkisinin İncelenmesi

Biyodesülfürizasyon süreçlerinde mikroorganizmaların spesifik büyüme oranı üzerine sıcaklığın etkili olduğu ve bu sıcaklığın mikroorganizmanın en uygun yaşama sıcaklığı ile sınırlı olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konmuştur. Pirit külü biyodesülfürizasyon işlemleri için *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin en uygun yaşama sıcaklık alanları olan 25, 30 ve 35°C olmak üç değişik sıcaklık aralığı kullanılmıştır. 25 ve 35°C sıcaklık ortamlarında sekiz hafta süren deneyler sonunda kükürt belirlenmesi yapılırken, 25 ve 30°C sıcaklıklarda Fe(III) tespitleri yapılmış ve 25, 30 ve 35°C sıcaklık ortamlarında ise pH ve mV değerleri ölçülmüştür. Seçilen sıcaklık ortamlarında yapılan çalışmalarda genel olarak sıcaklığın artmasına bağlı olarak pH'ın hafifçe düştüğü buna karşılık mV, kükürt ve demir çözünürlüğünün az oranda arttığı belirlenmiştir.

4.5.1. Sıcaklığın biyodesülfürizasyon sürecinde Fe(III) oluşumuna etkisi

Demir oksitlenmesini gözlemlemek amacı ile Fe(III) tayinlerinden çıkan sonuçlara göre *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin kullanıldığı pirit külü ile yapılan biyodesülfürizasyon deneylerinde Fe(II)'nin Fe(III)'e biyooksitlenmesinin az miktarda gerçekleştiği ortaya çıkmıştır. 25 ve 30°C sıcaklıklarda haftalık olarak yapılan Fe(III) tayinlerinden ortamda az miktarda oluşan Fe(III)'ün Fe(II) oksitlenmesinde etkili olmadığı ortaya çıkmıştır. Acetobacter türlerinin biyoliçing çalışmalarında kullanılmasına rağmen bu çalışmada

kullanılan *A. aceti*'nin pirit külündeki demirin biyooksitlenmesinde doğrudan etkili olmadığı ortaya çıkmıştır.

Ortamda oluşan Fe(III) miktarı diğer bileşikleri de doğrudan bağlamaktadır. Fe(II)'nin oksitlenmesinin en belirgin göstergesi olan Fe(III) yüzdesinde dikkate değer bir artış kaydedilmemiştir. Buna bağlı olarak deney süresince yapılan redoks potansiyeli ölçümleri ile demir oksitlenmesi incelenmiş ve $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının bir ifadesi olan redoks potansiyeli 218 mV'tan yukarı çıkmamıştır. Çizelge 4.2-5'de biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde, 25°C ve 30°C sıcaklıklarda %Fe(III) değerleri ve Şekil 4.5-8'de %Fe(III)'ün değişim grafikleri verilmiştir. Çizelge 4.6-9'da ise en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri gösterilmiş ve en yüksek %Fe(III) miktarı 30°C'de "q) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. aceti" deney karışımında, %0,526 bulunmuştur.

Çizelge 4.1. Biyokimyasal süreçte 25°C'de %Fe(III) değerleri

Biyokimyasal süreçte 25°C'de %Fe(III) değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	g
1	0,065	0,109	0,058	0,087	0,087	0,102	0,117
2	0,058	0,087	0,043	0,087	0,095	0,102	0,124
3	0,058	0,087	0,051	0,117	0,102	0,095	0,109
4	0,051	0,109	0,058	0,153	0,131	0,102	0,117
5	0,058	0,117	0,058	0,168	0,109	0,087	0,102
6	0,043	0,102	0,080	0,175	0,109	0,095	0,131
7	0,058	0,117	0,065	0,182	0,131	0,102	0,131
8	0,051	0,117	0,065	0,182	0,139	0,109	0,139

Çizelge 4.2. Biyolojik süreçte 25°C'de %Fe(III) değerleri

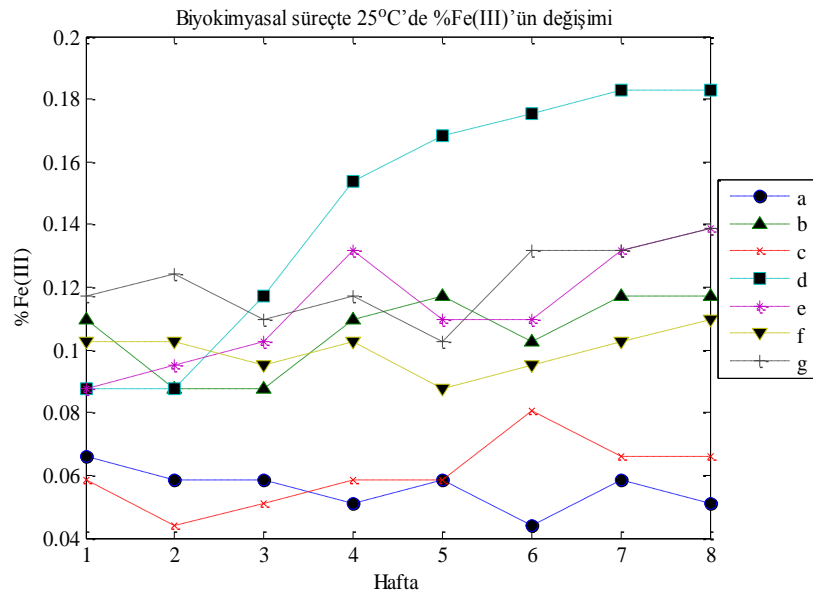
Biyolojik süreçte 25°C'de %Fe(III) değerleri										
Hafta	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q
1	0,131	0,153	0,131	0,146	0,182	0,204	0,197	0,248	0,248	0,234
2	0,160	0,182	0,175	0,168	0,270	0,175	0,219	0,329	0,270	0,241
3	0,160	0,197	0,197	0,168	0,278	0,197	0,248	0,373	0,278	0,256
4	0,131	0,204	0,182	0,175	0,263	0,182	0,278	0,365	0,299	0,278
5	0,175	0,219	0,168	0,190	0,270	0,168	0,285	0,395	0,329	0,307
6	0,190	0,212	0,175	0,190	0,248	0,190	0,278	0,387	0,336	0,321
7	0,197	0,234	0,182	0,204	0,263	0,204	0,270	0,380	0,321	0,343
8	0,204	0,226	0,197	0,197	0,278	0,212	0,285	0,395	0,343	0,351

Çizelge 4.3. Biyokimyasal süreçte 30°C’de %Fe(III) değerleri

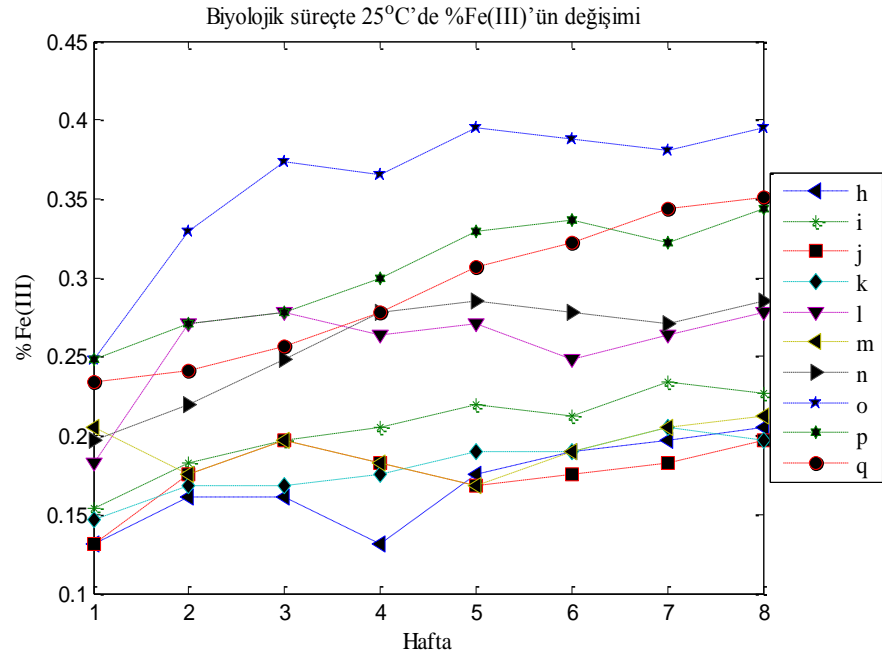
Biyokimyasal süreçte 30°C’de %Fe(III) değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	g
1	0,080	0,109	0,065	0,117	0,131	0,095	0,124
2	0,095	0,117	0,087	0,102	0,131	0,109	0,139
3	0,117	0,102	0,102	0,109	0,153	0,117	0,160
4	0,102	0,117	0,109	0,131	0,175	0,117	0,168
5	0,117	0,124	0,095	0,160	0,197	0,131	0,168
6	0,117	0,131	0,117	0,168	0,204	0,153	0,190
7	0,124	0,131	0,109	0,190	0,234	0,168	0,204
8	0,124	0,146	0,117	0,197	0,234	0,168	0,197

Çizelge 4.4. Biyolojik süreçte 30°C’de %Fe(III) değerleri

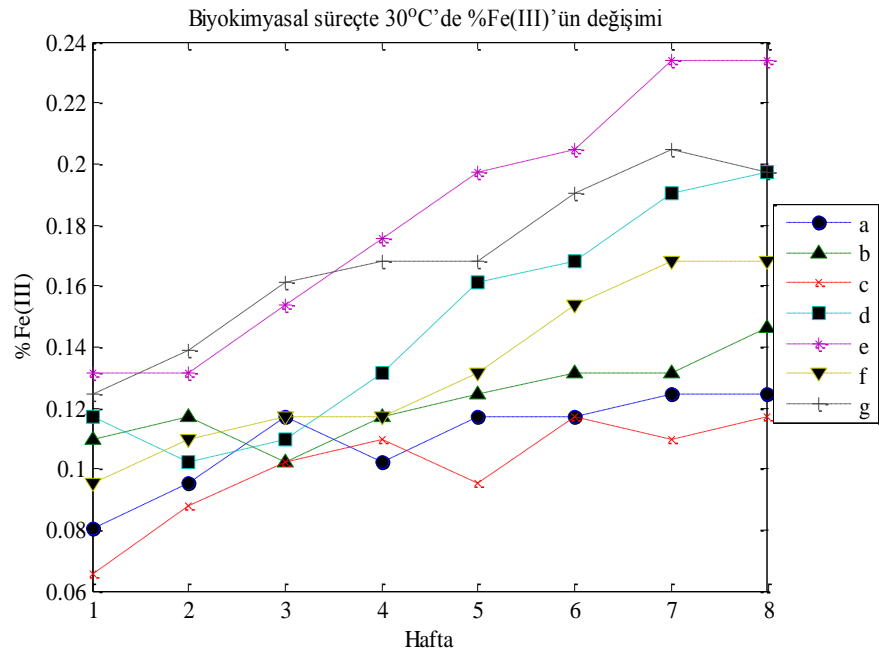
Biyolojik süreçte 30°C’de %Fe(III) değerleri										
Hafta	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q
1	0,146	0,153	0,168	0,190	0,168	0,175	0,226	0,270	0,299	0,321
2	0,168	0,182	0,182	0,197	0,182	0,204	0,248	0,285	0,329	0,343
3	0,175	0,212	0,204	0,212	0,190	0,212	0,270	0,314	0,351	0,380
4	0,168	0,182	0,204	0,204	0,182	0,219	0,278	0,329	0,446	0,402
5	0,190	0,204	0,197	0,241	0,204	0,241	0,285	0,387	0,468	0,424
6	0,204	0,212	0,190	0,256	0,234	0,248	0,307	0,409	0,475	0,468
7	0,197	0,212	0,212	0,270	0,256	0,270	0,314	0,424	0,482	0,490
8	0,226	0,204	0,248	0,307	0,278	0,299	0,321	0,460	0,490	0,526



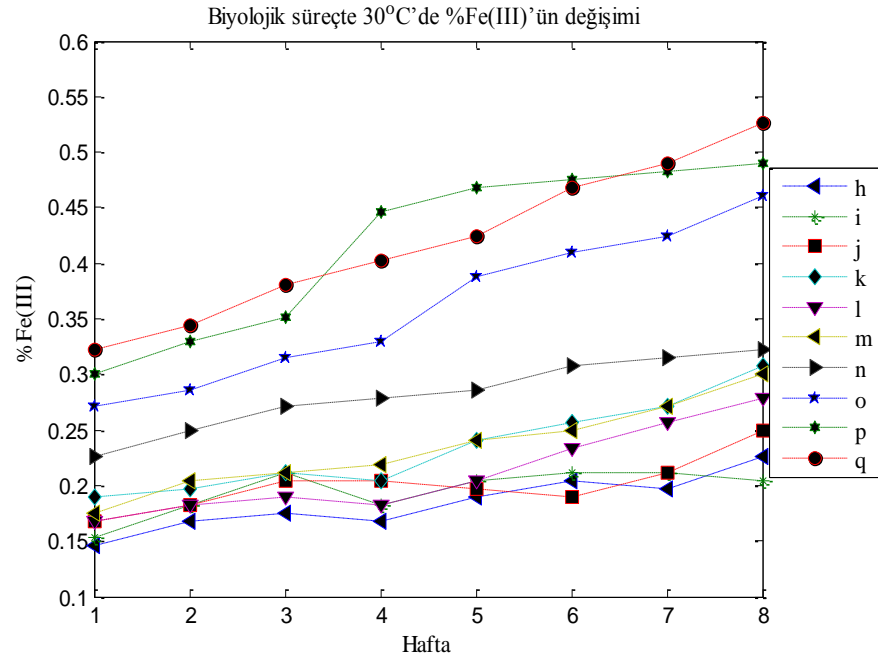
Şekil 4.5. Biyokimyasal süreçte 25°C’de %Fe(III)’ün değişimi.



Şekil 4.6. Biyolojik süreçte 25°C'de %Fe(III)'ün değişimi.



Şekil 4.7. Biyokimyasal süreçte 30°C'de %Fe(III)'ün değişimi.



Şekil 4.8. Biyolojik süreçte 30°C'de %Fe(III)'ün değişimi.

Çizelge 4.5. Biyokimyasal süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri

Biyokimyasal süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri		
En düşük %Fe(III)	a) Su+Pirit Külü	0,065
En yüksek %Fe(III)	d) Su+Pirit Külü+Asetik Asit	0,183

Çizelge 4.6. Biyolojik süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri

Biyolojik süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri		
En düşük %Fe(III)	m) Su+Pirit Külü+Alkol+A. <i>aceti</i>	0,212
En yüksek %Fe(III)	o) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. <i>cerevisiae</i> +A. <i>aceti</i>	0,395

Çizelge 4.7. Biyokimyasal süreçte 30°C'de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri

Biyokimyasal süreçte 30°C'de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri		
En düşük %Fe(III)	c) Su+Pirit Külü+Alkol	0,117
En yüksek %Fe(III)	e) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol	0,234

Çizelge 4.8. Biyolojik süreçte 30°C’de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri

Biyolojik süreçte 30°C’de en düşük ve en yüksek %Fe(III) değerleri		
En düşük %Fe(III)	i) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae	0,234
En yüksek %Fe(III)	q) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. aceti.	0,526

4.5.2. Sıcaklığın kükürt biyooksitlenmesine etkisi

Çalışmalarda kullanılan pirit külünde toplam kükürt az olması nedeniyle biyodesülfürizasyon deneylerinde kükürdün pH değişiminde etkili olması beklenmemiştir. Çalışmalarda kükürdün oksitlenmesinin ve ortama proton (H⁺) kazandırarak pH değişimine etkisinin az olduğu ve dolayısıyla sülfata dönüşümün az olduğu ortaya çıkmıştır. Pirit mineralinde bulunan anorganik kükürdün, metabolizmasında organik ve anorganik kükürt bileşiklerini kullanabilen *S. cerevisiae* ve dolayısıyla da *A. aceti*’nin büyümesinde etkili olduğu tahmin edilmektedir.

Biyoliçing çalışmalarında ortaya konduğu gibi kükürt bileşenlerinin pirit mineralinden koparılarak oksitlenmesi tiyosülfat tepkime mekanizması ile gerçekleşmekte ve oluşan tiyosülfat ve sülfid bileşenlerinin stokromlar aracılığı ile sülfat’a biyooksidasyonu, Fe(III) iyonları sayesinde oluşmaktadır. Pirit mineralinde bulunan organik ve inorganik kükürdün *S. cerevisiae* tarafından metabolizma ile alınarak biyokimyasal yollarla sülfata kadar yükseltgenebildiği belirlenmiştir. 25°C ve 35°C sıcaklıklarda sekiz hafta süren biyodesülfürizasyon deneyleri sonunda numuneler süzölmüş ve yıkanmıştır. Süzöntüde bulunan *S. cerevisiae* bünyesindeki ve çözelti ortamına geçen sülfürlü bileşiklerin tamamı hidrojen peroksit kullanılarak sülfata yükseltgenmiş ve spektrofotometrik olarak sülfat analizleri yapılmıştır.

Pirit külünde birçok değişik demir ve kükürt bileşikleri bulunmaktadır ve bu deneylerde *S. cerevisiae*’nın pirit külünde kükürdün giderilmesi hedeflenmiştir. Yapılan biyodesülfürizasyon deneylerinde *S. cerevisiae*’nın pirit kükürdünü tüketmesi için ortama kükürt içeriği yüksek olan besin maddeleri de katılmamıştır. Ayrıca amino asitlerin temel bileşeni olan azotlu bileşikler kükürt tüketimini artırdığı için deney

ortamına katılmıştır. Deney sonunda süzülerek ayrılan süzüntülere hidrojen peroksit eklenerek ortamdaki kükürt yanında mikroorganizma biyokütlesi içerisinde bulunan kükürdün de oksitlenmesi sağlanmış ve spektrofotometre ile yapılan kükürt tanıları yapılmıştır. Böylece mikroorganizma karışımı deneylerde pirit kükürdünün önce mikroorganizmalar tarafından tüketilmesi ve daha sonra da bu biyokütlelerden ayrılan kükürdün oksitlenmesi yöntemi uygulanmıştır. Çizelge 4.10-13'de biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde, 25°C ve 35°C sıcaklıklarda sekiz hafta sonunda ölçülen %Kükürt değerleri verilmiştir.

Kükürt analizlerinde kullanılan numune karışımları:

Biyokimyasal süreçte numune karışımları:

- 1) Su+Pirit Külü
- 2) Su+Pirit Külü+Glikoz
- 3) Su+Pirit Külü+Alkol
- 4) Su+Pirit Külü+Asetik Asit
- 5) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol
- 6) Su+Pirit Külü+Glikoz+Asetik Asit
- 7) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit

Biyolojik süreçte numune karışımları:

- 8) Su+Pirit Külü+*S. cerevisiae*
- 9) Su+Pirit Külü+Glikoz+*S. cerevisiae*
- 10) Su+Pirit Külü+*A. aceti*
- 11) Su+Pirit Külü+Asetik Asit+*A. aceti*
- 12) Su+Pirit Külü+Glikoz+*A. Aceti*
- 13) Su+Pirit Külü+Alkol+*A. Aceti*
- 14) Su+Pirit Külü+Glikoz+*S. cerevisiae*+*A. aceti*
- 15) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+*S. cerevisiae*+*A. aceti*

16) Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti

17) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. aceti

Çizelge 4.9. Biyokimyasal süreçte 25°C’de %kükürt değerleri

Biyokimyasal süreçte 25°C’de %kükürt değerleri	
Numuneler	%Kükürt
1) Su+Pirit Külü	2,40
2) Su+Pirit Külü+Glikoz	6,21
3) Su+Pirit Külü+Alkol	6,93
4) Su+Pirit Külü+Asetik Asit	8,68
5) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol	11,08
6) Su+Pirit Külü+Glikoz+Asetik Asit	11,57
7) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit	13,32

Çizelge 4.10. Biyolojik süreçte 25°C’de %kükürt değerleri

Biyolojik süreçte 25°C’de %kükürt değerleri	
Numuneler	%Kükürt
8) Su+Pirit Külü+S. Cerevisiae	17,34
9) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. Cerevisiae	18,06
10) Su+Pirit Külü+A. aceti,	18,99
11) Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti	18,89
12) Su+Pirit Külü+Glikoz+A. Aceti	19,51
13) Su+Pirit Külü+Alkol+A. Aceti	27,13
14) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae+A. aceti	27,23
15) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. cerevisiae+A. aceti	32,59
16) Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti	35,53
17) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. aceti	36,61

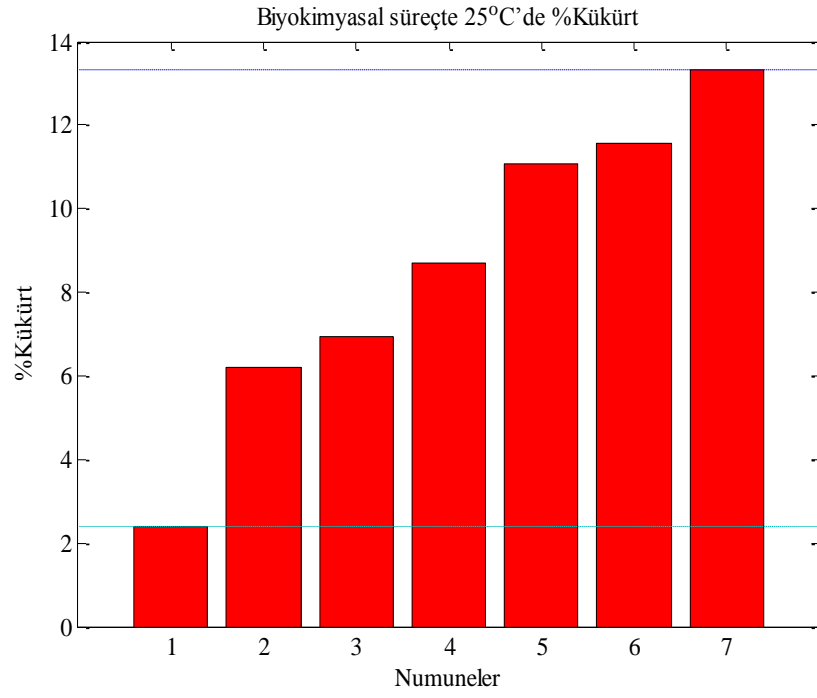
Çizelge 4.11. Biyokimyasal süreçte 30°C’de %kükürt değerleri

Biyokimyasal süreçte 35°C’de %kükürt değerleri	
Numuneler	%Kükürt
1) Su+Pirit Külü	10,75
2) Su+Pirit Külü+Glikoz	11,78
3) Su+Pirit Külü+Alkol	13,62
4) Su+Pirit Külü+Asetik Asit	12,70
5) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol	12,81
6) Su+Pirit Külü+Glikoz+Asetik Asit	15,38
7) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit	16,70

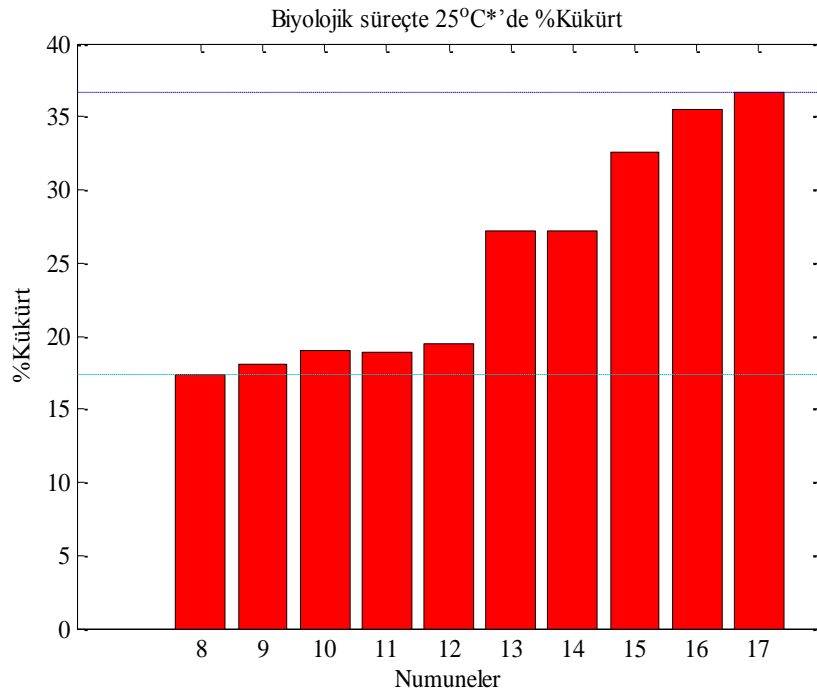
Çizelge 4.12. Biyolojik süreçte 30°C’de %kükürt değerleri

Biyolojik süreçte 35°C’de %kükürt değerleri	
Numuneler	%Kükürt
8) Su+Pirit Külü+S. cerevisiae	16,83
9) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae	18,47
10) Su+Pirit Külü+A. aceti,	20,54
11) Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti	21,06
12) Su+Pirit Külü+Glikoz+A. aceti	23,01
13) Su+Pirit Külü+Alkol+A. aceti	29,60
14) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae+A. aceti	39,60
15) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. cerevisiae+A. aceti	45,58
16) Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti	47,28
17) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. aceti	49,91

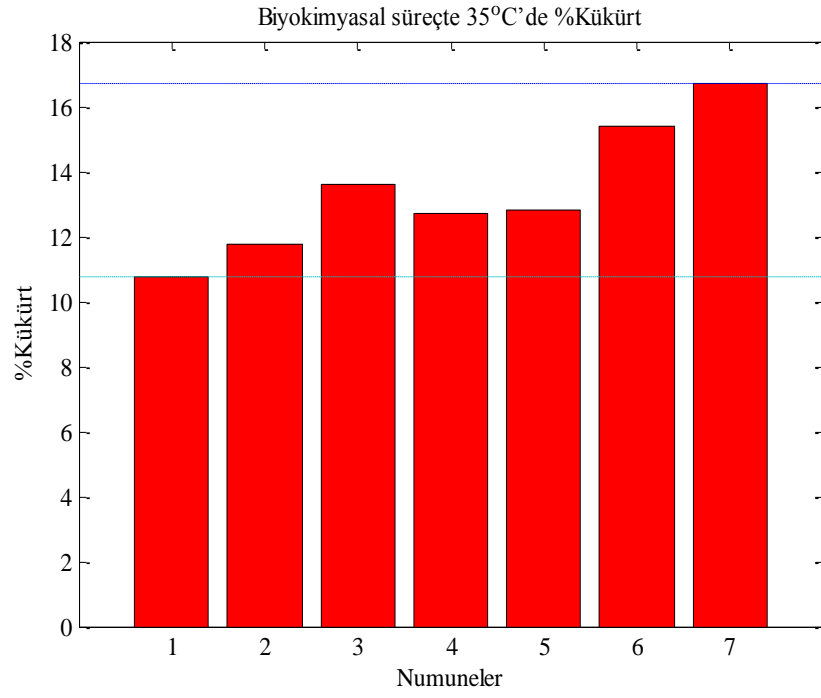
Demir oksitlenmesinin çok az gerçekleşmesine rağmen sekiz haftalık biyodesülfürizasyon deney süresi sonunda özellikle mikroorganizmaların bulunduğu deneylerin sonuçları pirit külü kükürdünde çözünme olduğunu göstermiştir. Deneyler sürecinde *S. cerevisiae* tarafından üretilen hidrojen sülfür miktarı ölçülememiştir. Şekil 4.9’da biyokimyasal süreçte 25°C’de, Şekil 4.10’da biyolojik süreçte 25°C’de ve Şekil 4.11’de biyokimyasal süreçte 35°C’de, Şekil 4.12’de ise biyolojik süreçte 35°C’de yüzde kükürdün değişimi grafikleri görülmektedir. Bu şekillerde de görüldüğü gibi *S. cerevisiae* içeren numunelerde genel olarak kükürt giderimi yüksek çıkmıştır. Bulunan kükürt sonuçlarına göre; 13) Su+Pirit Külü+Alkol+A. aceti, 14) Su+Pirit Külü+Glikoz + *S. cerevisiae* + *A. aceti*, 15) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+ *S. cerevisiae*+ *A. aceti*, 16) Su+Pirit Külü+ Alkol++ Asetik Asit+ *S. cerevisiae*+ *A. aceti* ve 17) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+ +Asetik Asit+ *S. cerevisiae*+ *A. Aceti*, numune karışımlarındaki kükürt yüzdeleri daha yüksek çıkmıştır. Çizelge 4.14-17’de ise en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri gösterilmiş ve en yüksek %kükürt miktarı 30°C’de (17) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+ *A. aceti*) deney karışımında, %49,92 bulunmuştur.



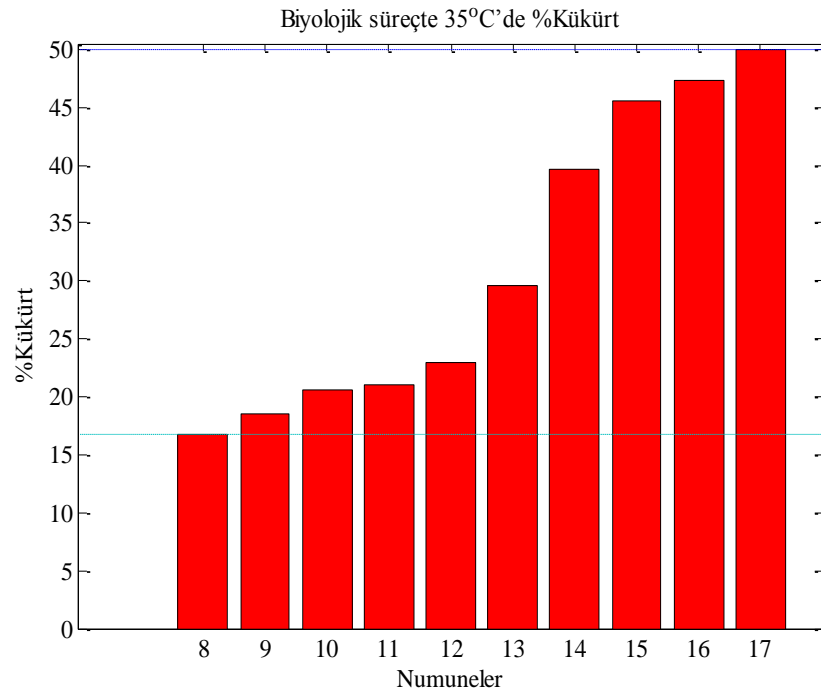
Şekil 4.9. Biyokimyasal süreçte 25°C'de % kükürdün değişimi.



Şekil 4.10. Biyolojik süreçte 25°C'de % kükürdün değişimi



Şekil 4.11. Biyokimyasal süreçte 35°C'de % kükürdün değişimi.



Şekil 4.12. Biyolojik süreçte 35°C'de % kükürdün değişimi.

Çizelge 4.13. Biyokimyasal süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri

Biyokimyasal süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri		
En düşük %Kükürt	1) Su+Pirit Külü+S. <i>cerevisiae</i>	2,40
En yüksek %Kükürt	7) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. <i>cerevisiae</i> + A. <i>aceti</i> .	13,33

Çizelge 4.14. Biyolojik süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri

Biyolojik süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri		
En düşük %Kükürt	8) Su+Pirit Külü+S. <i>cerevisiae</i>	17,35
En yüksek %Kükürt	17) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. <i>cerevisiae</i> + A. <i>aceti</i> .	36,62

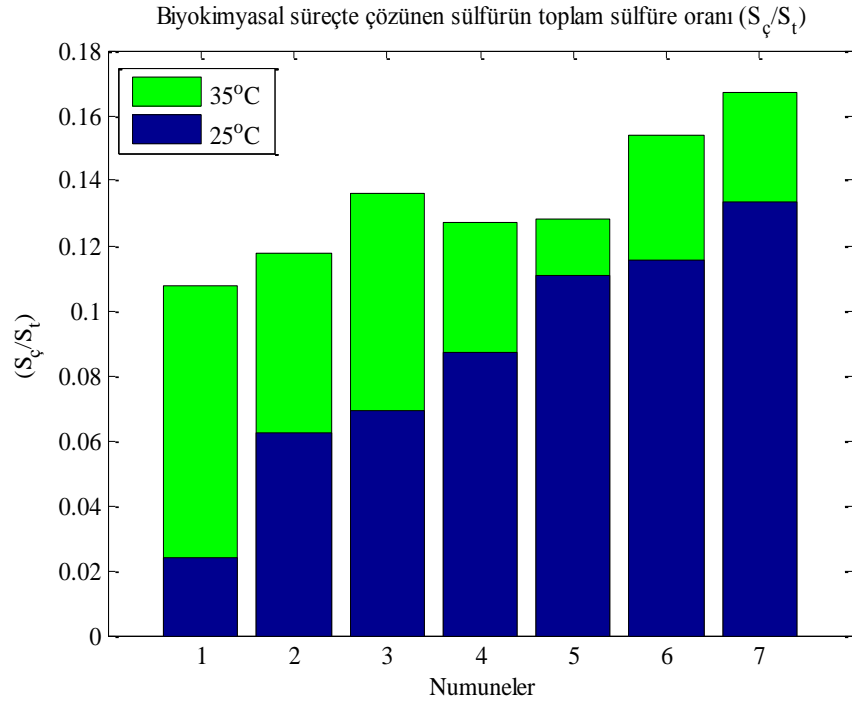
Çizelge 4.15. Biyokimyasal süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri

Biyokimyasal süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri		
En düşük %Kükürt	1) Su+Pirit Külü+S. <i>cerevisiae</i>	10,75
En yüksek %Kükürt	7) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. <i>cerevisiae</i> + A. <i>aceti</i> .	16,71

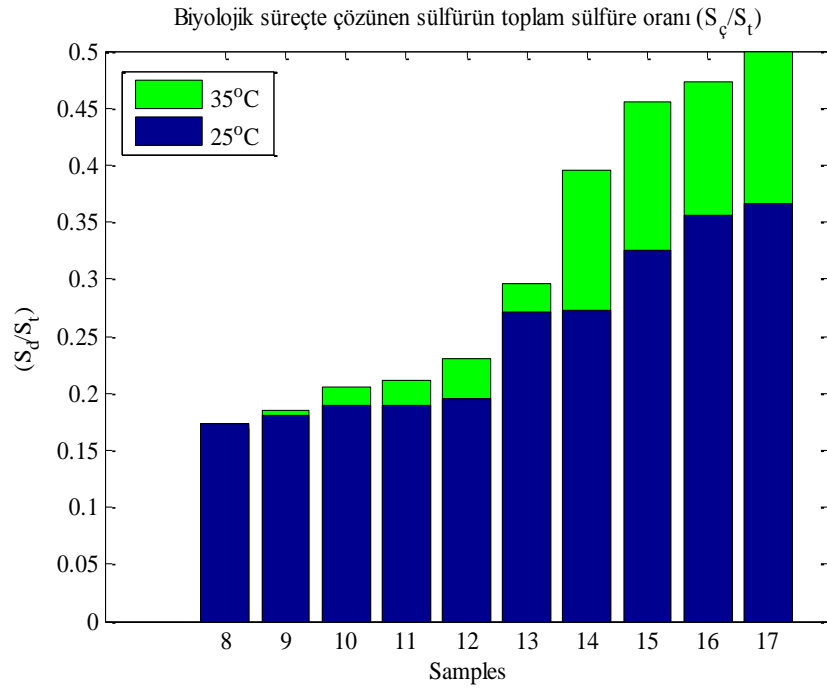
Çizelge 4.16. Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri

Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek %Kükürt değerleri		
En düşük %Kükürt	8) Su+Pirit Külü+S. <i>cerevisiae</i>	16,83
En yüksek %Kükürt	17) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. <i>cerevisiae</i> + A. <i>aceti</i> .	49,92

25°C’de ve 35°C’de %kükürt değişimini karşılaştırmak amacı ile grafikler çizilmiştir. Şekil 4.13’de biyokimyasal süreçte ve Şekil 4.14’de ise biyolojik süreçte % kükürdün değişimi grafikleri görülmektedir.



Şekil 4.13. Biyokimyasal süreçte çözünen sülfürün toplam sülfüre oranı (S_{ϕ}/S_t).



Şekil 4.14. Biyolojik süreçte çözünen sülfürün toplam sülfüre oranı (S_{ϕ}/S_t).

4.5.2.1. Kükürt ve Fe(II)'nin stokiyometrik olarak elde edilmesi

Deneyleerde elde edilen Fe(III) değerleri kullanılarak pirit mineralinden Fe(III) iyonu ile Fe(II) ve sülfat oluşum tepkimesinin (2.10) stokiyometrisi, daha önceki yapıla çalışmalarda belirlenen denklemler kullanılarak bulunmuştur (Hatzikioseyan *et al.* 2006). Buna göre oluşan Fe(III) miktarına bağlı olarak Fe(II) ve kükürt değerleri hesaplanmış ve ortalama değerler Çizelge 4.18-21'de verilmiştir.

Çizelge 4.17. Biyokimyasal süreçte 25°C'de Fe(II) ve kükürt'ün stokiyometrik değerleri

Biyokimyasal süreçte 25°C'de Fe(II) ve S değerleri			
	Fe(III)	Fe(II)	S
a	$8,5171 \cdot 10^{-4}$	0,0013	$4,8669 \cdot 10^{-4}$
b	0,0016	0,0024	$9,2551 \cdot 10^{-4}$
c	$9,2152 \cdot 10^{-4}$	0,0014	$5,2659 \cdot 10^{-4}$
d	0,0022	0,0033	0,0013
e	0,0017	0,0026	$9,8934 \cdot 10^{-4}$
f	0,0015	0,0023	$8,6966 \cdot 10^{-4}$
g	0,0019	0,0028	0,0011

Çizelge 4.18. Biyolojik süreçte 30°C'de Fe(II) ve kükürt'ün stokiyometrik değerleri

Biyolojik süreçte 25°C'de Fe(II) ve S değerleri			
	Fe(III)	Fe(II)	S
h	0,0026	0,0039	0,0015
i	0,0031	0,0047	0,0018
j	0,0027	0,0040	0,0015
k	0,0028	0,0041	0,0016
l	0,0039	0,0059	0,0022
m	0,0029	0,0044	0,0017
n	0,0039	0,0059	0,0022
o	0,0055	0,0082	0,0031
p	0,0046	0,0070	0,0026

Çizelge 4.19. Biyokimyasal süreçte 30°C’de Fe(II) ve kükürt’ün stokiyometrik değerleri

Biyokimyasal süreçte 30°C’de Fe(II) ve S değerleri			
	Fe(III)	Fe(II)	S
a	0,0017	0,0025	9,5743.10 ⁻³
b	0,0019	0,0028	0,0011
c	0,0015	0,0023	8,7764.10 ⁻³
d	0,0022	0,0034	0,0013
e	0,0028	0,0042	0,0016
f	0,0020	0,0030	0,0012
g	0,0026	0,0039	0,0015

Çizelge 4.20. Biyolojik süreçte 30°C’de Fe(II) ve kükürt’ün stokiyometrik değerleri

Biyolojik süreçte 30°C’de Fe(II) ve S değerleri			
	Fe(III)	Fe(II)	S
h	0,0025	0,0040	0,0017
i	0,0030	0,0045	0,0017
j	0,0031	0,0046	0,0018
k	0,0036	0,0054	0,0021
l	0,0032	0,0049	0,0019
m	0,0036	0,0054	0,0020
n	0,0043	0,0065	0,0025
o	0,0055	0,0083	0,0031
p	0,0064	0,0096	0,0036

4.5.3. Sıcaklığın pH’ın değişimine etkisi

Pirit külünün biyodesülfürizasyonu sürecinde 25, 30 ve 35°C sıcaklıklarda haftalık olarak yapılan ölçümlerde pH’nın azalarak 5-4 aralığında değiştiği belirlenmiştir. Bunun en önemli nedeni ise diğer birçok endüstriyel küllerde olduğu gibi pirit külünün de nötralleştirme etkisinin bulunması olmuştur. Asetik asit ve *A. aceti*’nin ortama proton (H⁺) pompalamasına karşı pirit külünün pH değişimine direnç gösterdiği görülmüştür. Pirit mineralinden çözünerek oksitlenen ve ortama proton (H⁺) kazandırarak pH’ı etkilemesi beklenen kükürt’ün zaten toplamda %0.59 olması nedeniyle pH’ı fazla etkilemediği ortaya çıkmıştır. Ayrıca *S. cerevisiae*’nin hidrojen sülfür salgısının pH’ın düşmesine katkısı olmamıştır. Böyle bir pH değişimi sonucu elde edilmesinin en önemli

nedeni pirit külü çözeltilerinin diğer endüstriyel kül çözeltilerinde olduğu gibi belirli bir pH'ının bulunmasıdır. Pirit külü gibi endüstriyel küllerin büyük bir bölümünün pH'ı nötrleştirme özelliği bulunmaktadır ve kimyasal proseslerde pH'ın nötrleştirilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Deneylede belirlendiği gibi ve *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmaları pirit külü çözeltileri içerisinde çok iyi derecede gelişmişlerdir. *A. aceti*'nin yaşama ortamına da uygun olduğu için pH değişimi *A. aceti*'nin bulunduğu çözelti karışımlarında da değişmemiştir. Çizelge 4.22-27'de sıcaklığa bağlı pH değerleri verilmiştir. Şekil 4.15-20'de ise biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde pH değişiminin grafikleri görülmektedir.

Çizelge 4.21. Biyokimyasal süreçte 25°C'de bulunan pH değerleri

Biyokimyasal süreçte 25°C'de pH değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	g
1	4,85	4,94	5,04	5,12	4,85	4,92	5,11
2	4,70	4,88	4,77	4,81	4,74	4,83	5,04
3	4,67	4,80	4,72	4,71	4,73	4,71	4,95
4	4,64	4,65	4,66	4,68	4,68	4,64	4,81
5	4,59	4,60	4,62	4,64	4,63	4,57	4,73
6	4,55	4,58	4,56	4,62	4,56	4,50	4,70
7	4,48	4,55	4,54	4,58	4,52	4,44	4,66
8	4,43	4,35	4,39	4,40	4,38	4,41	4,55

Çizelge 4.22. Biyolojik süreçte 25°C'de bulunan pH değerleri

Biyolojik süreçte 25°C'de pH değerleri										
Hafta	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q
1	4,98	5,11	5,13	5,06	5,05	5,12	5,10	5,13	5,12	5,08
2	4,76	4,80	4,98	4,85	4,95	4,77	4,93	5,04	4,91	5,02
3	4,70	4,76	4,92	4,66	4,90	4,85	4,85	4,86	4,87	4,95
4	4,68	4,73	4,82	4,73	4,86	4,82	4,79	4,76	4,81	4,81
5	4,62	4,70	4,79	4,68	4,75	4,74	4,68	4,75	4,77	4,75
6	4,61	4,68	4,75	4,59	4,71	4,71	4,63	4,73	4,73	4,71
7	4,59	4,58	4,69	4,53	4,63	4,64	4,52	4,72	4,66	4,68
8	4,44	4,48	4,56	4,39	4,59	4,57	4,52	4,62	4,59	4,55

Çizelge 4.23. Biyokimyasal süreçte 30°C’de bulunan pH değerleri

Biyokimyasal süreçte 30°C’de pH değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	g
1	5,13	5,03	4,94	5,14	4,83	4,92	4,78
2	4,90	4,94	4,88	4,93	4,76	4,84	4,69
3	4,86	4,80	4,82	4,82	4,67	4,77	4,67
4	4,78	4,88	4,60	4,78	4,61	4,71	4,62
5	4,65	4,65	4,56	4,56	4,58	4,68	4,61
6	4,55	4,58	4,52	4,54	4,55	4,53	4,57
7	4,51	4,55	4,44	4,48	4,43	4,48	4,49
8	4,48	4,35	4,41	4,41	4,39	4,47	4,37

Çizelge 4.24. Biyolojik süreçte 30°C’de bulunan pH değerleri

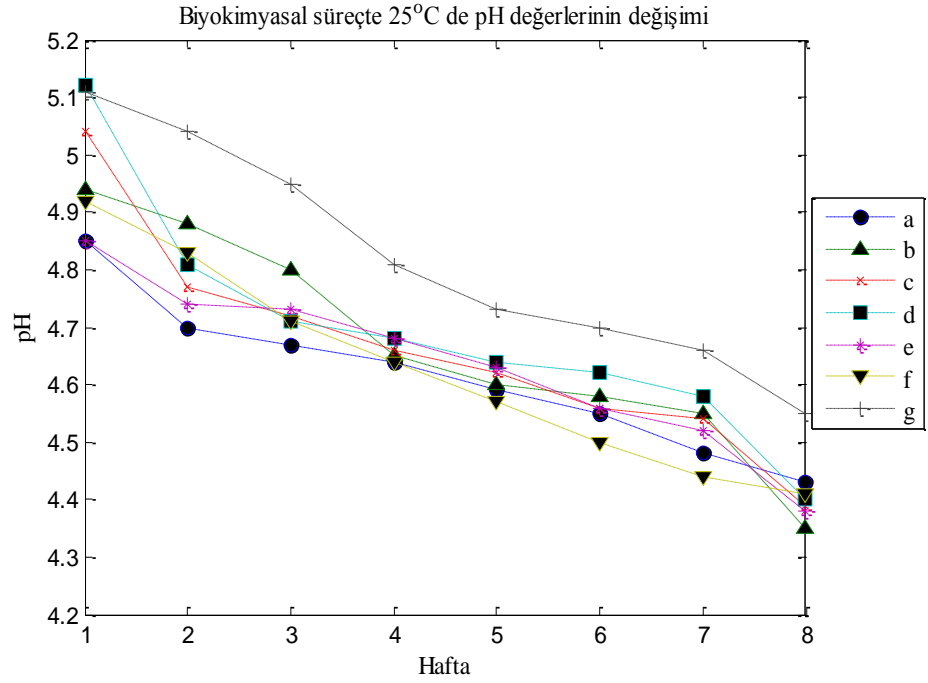
Biyolojik süreçte 30°C’de pH değerleri										
Hafta	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q
1	5,09	5,13	5,12	5,05	5,06	5,07	5,06	5,01	4,84	4,97
2	4,88	5,02	4,96	4,91	4,87	5,04	4,91	4,93	4,78	4,84
3	4,73	4,84	4,92	4,87	4,73	5,00	4,77	4,73	4,56	4,75
4	4,66	4,81	4,86	4,75	4,68	4,88	4,72	4,68	4,58	4,67
5	4,60	4,67	4,78	4,71	4,66	4,70	4,70	4,64	4,65	4,62
6	4,54	4,61	4,63	4,67	4,59	4,67	4,67	4,56	4,64	4,49
7	4,49	4,54	4,54	4,63	4,53	4,55	4,65	4,62	4,51	4,43
8	4,46	4,42	4,44	4,59	4,37	4,44	4,61	4,60	4,46	4,37

Çizelge 4.25. Biyokimyasal süreçte 35°C’de bulunan pH değerleri

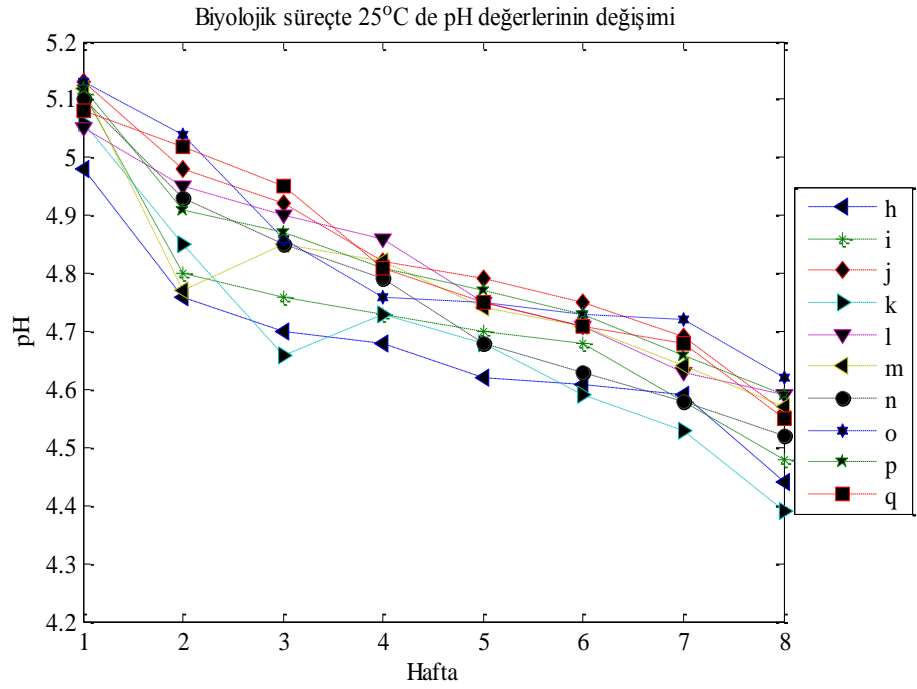
Biyokimyasal süreçte 35°C’de pH değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	g
1	5,12	5,08	4,88	4,96	4,90	5,02	4,85
2	5,08	4,96	4,74	4,92	4,82	4,94	4,73
3	4,82	4,87	4,73	4,84	4,71	4,92	4,74
4	4,73	4,73	4,68	4,73	4,64	4,83	4,68
5	4,67	4,66	4,63	4,60	4,59	4,68	4,63
6	4,52	4,60	4,56	4,55	4,47	4,51	4,56
7	4,41	4,54	4,52	4,51	4,41	4,45	4,52
8	4,31	4,46	4,38	4,47	4,38	4,41	4,43

Çizelge 4.26. Biyolojik süreçte 35°C’de bulunan pH değerleri

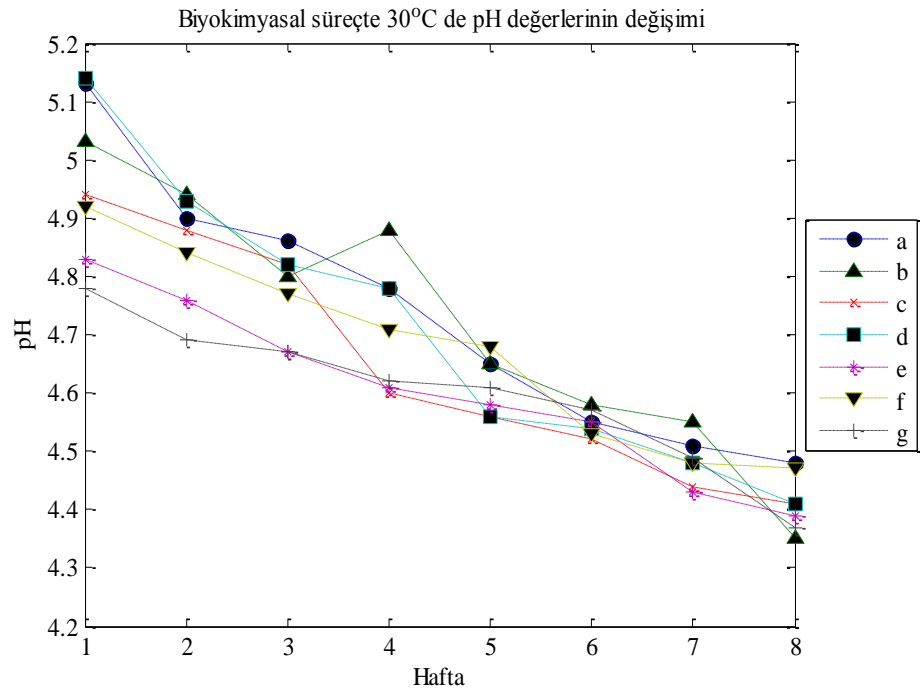
Biyolojik süreçte 35°C’de pH değerleri										
Hafta	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q
1	5,10	5,04	5,13	5,10	5,02	5,06	5,07	5,12	4,95	4,88
2	5,06	4,77	5,08	4,93	4,72	4,88	4,98	4,93	4,75	4,70
3	4,93	4,72	4,94	4,79	4,70	4,70	4,86	4,79	4,68	4,66
4	4,84	4,66	4,88	4,75	4,66	4,66	4,82	4,75	4,67	4,62
5	4,73	4,62	4,75	4,72	4,59	4,66	4,75	4,72	4,61	4,59
6	4,69	4,60	4,61	4,68	4,54	4,65	4,69	4,68	4,58	4,54
7	4,55	4,54	4,53	4,64	4,51	4,54	4,56	4,64	4,53	4,51
8	4,51	4,49	4,48	4,58	4,46	4,44	4,48	4,53	4,50	4,48



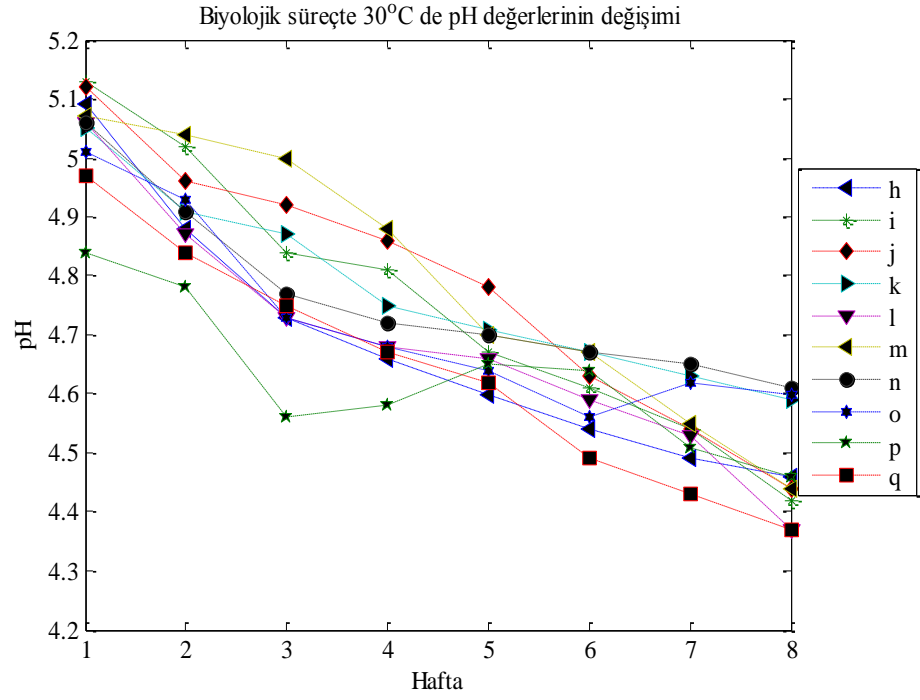
Şekil 4.15. Biyokimyasal süreçte 25°C’de pH değerlerinin değişimi



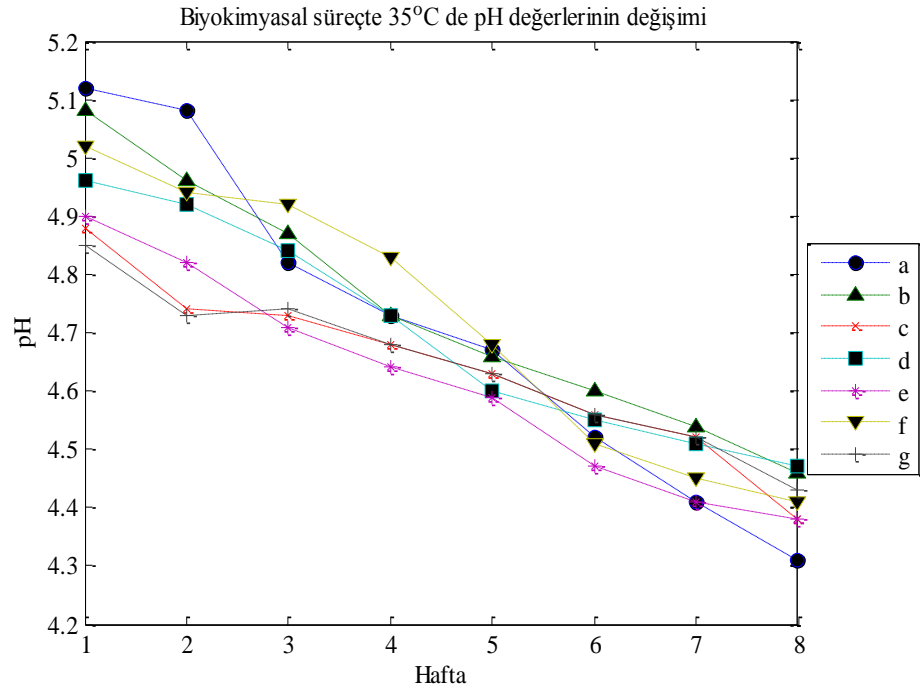
Şekil 4.16. Biyolojik süreçte 25°C’de pH değerlerinin değişimi



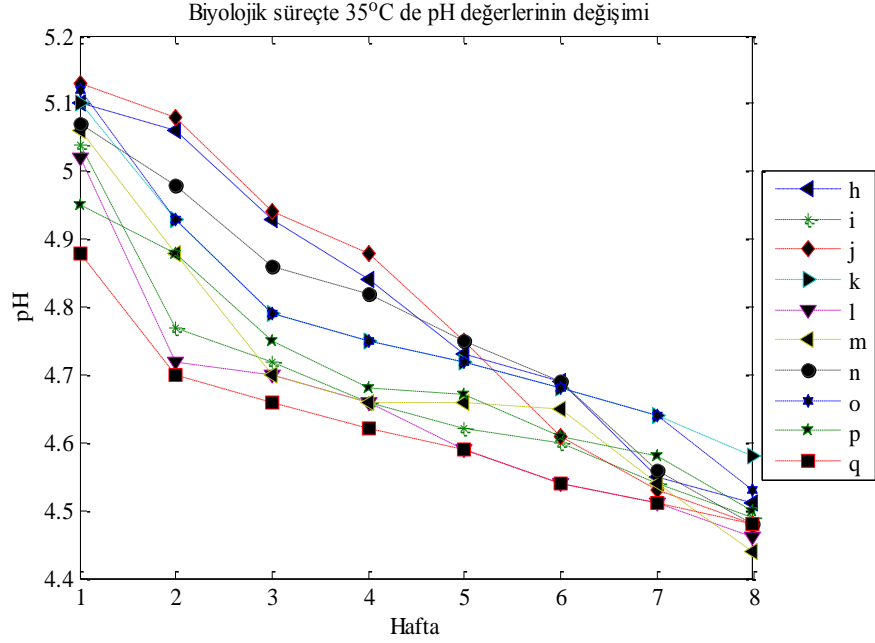
Şekil 4.17. Biyokimyasal süreçte 30°C’de pH değerlerinin değişimi



Şekil 4.18. Biyolojik süreçte 30°C’de pH değerlerinin değişimi

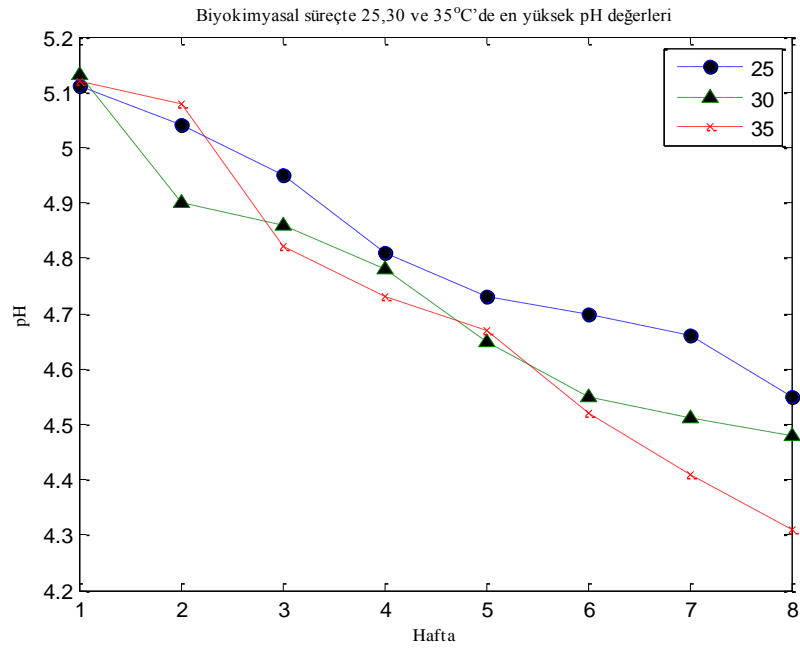


Şekil 4.19. Biyokimyasal süreçte 35°C’de pH değerlerinin değişimi

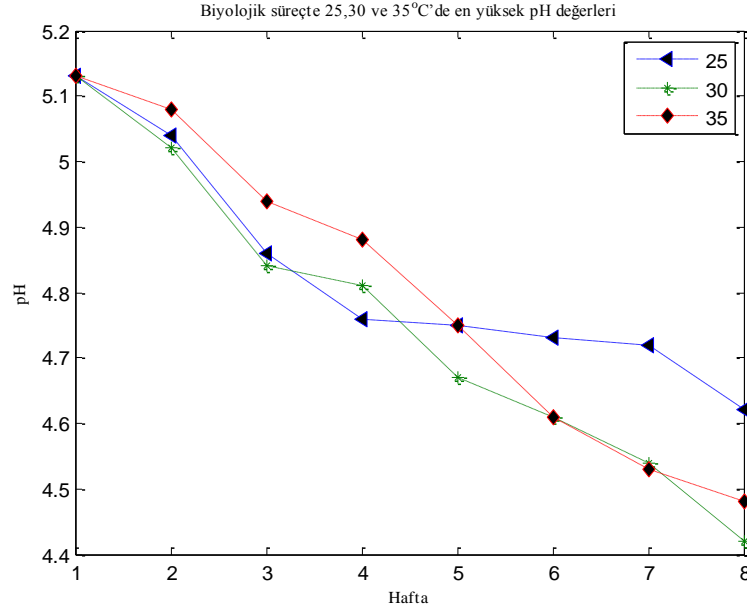


Şekil 4.20. Biyolojik süreçte 35°C’de pH değerlerinin değişimi

25, 30 ve 35°C’de biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde en düşük pH değerleri Şekil 4.21 ve Şekil 4.22’de verilmiştir. Bu grafiklere göre; biyokimyasal süreçte en yüksek pH değeri 35°C’de ve biyolojik süreçte ise en düşük pH değeri 30°C’de elde edilmiştir.



Şekil 4.21. Biyokimyasal süreçte en düşük pH değerleri



Şekil 4.22. Biyolojik süreçte en düşük pH değerleri

Deneysel pH ölçüm verilerinden elde edilen grafiklerin polinom denklemlerinin (Çizelge 4.28-33) türevleri kullanılarak $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi gerçekleştirilmiş ve var olan modeller (Carberry 1976; May *et al.* 1997; Holmes and Crundwell 2000) üzerine uygulamalar yapılmıştır.

Çizelge 4.27. Biyokimyasal süreçte 25°C'de bulunan pH eşitlikleri

Biyokimyasal süreçte 25°C'de pH polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
a	$y=0,00196x^2-0,0707x+4,88$	0,9799
b	$y=0,000417x^2-0,081x+5,02$	0,9430
c	$y=0,00643x^2-0,132x+5,09$	0,9850
d	$y=0,00857x^2-0,155x+5,17$	0,9732
E	$y=-0,00327x^2-0,0295x+4,85$	0,9848
F	$y=0,00536x^2-0,122x+5,04$	0,9346
g	$y=0,00399x^2-0,115x+5,23$	0,9775

Çizelge 4.28. Biyolojik süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri

Biyolojik süreçte 25°C’de pH polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
h	$y=0,00512x^2-0,105x+5,01$	0,9867
i	$y=0,00619x^2-0,125x+5,13$	0,9796
j	$y=0,00262x^2-0,0948x+5,19$	0,8794
k	$y=0,00435x^2-0,117x+5,1$	0,9377
l	$y=0,00107x^2-0,0751x+5,12$	0,9768
m	$y=0,00452x^2-0,1x+5,11$	0,9055
n	$y=0,00631x^2-0,135x+5,21$	0,9724
o	$y=0,0101x^2-0,157x+5,28$	0,9806
p	$y=0,005x^2-0,11x+5,17$	0,9908
q	$y=0,00196x^2-0,0914x+5,18$	0,9839

Çizelge 4.29. Biyokimyasal süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri

Biyokimyasal süreçte 30°C pH polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
a	$y=0,00774x^2-0,16x+5,25$	0,9703
b	$y=-0,00381x^2-0,0562x+5,07$	0,9694
c	$y=0,00565x^2-0,132x+5,1$	0,9778
d	$y=0,00881x^2-0,18x+5,29$	0,9612
e	$y=0,000714x^2-0,0674x+4,89$	0,9918
f	$y=0,00119x^2-0,0786x+5$	0,9743
g	$y=-0,00381x^2-0,0155x+4,77$	0,9850

Çizelge 4.30. Biyolojik süreçte 30°C’de bulunan pH eşitlikleri

Biyolojik süreçte 30°C pH polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
h	$y=0,0126x^2-0,196x+5,24$	0,9895
i	$y=0,00393x^2-0,133x+5,25$	0,9815
j	$y=-0,00256x^2-0,0699x+5,16$	0,9076
k	$y=0,00655x^2-0,122x+5,15$	0,9391
l	$y=0,00446x^2-0,123x+5,13$	0,9708
m	$y=-0,00446x^2-0,0554x+5,16$	0,9012
n	$y=0,0109x^2-0,155x+5,18$	0,9122
o	$y=0,014x^2-0,185x+5,2$	0,8959
p	$y=0,00381x^2-0,0783x+4,88$	0,9887
q	$y=0,00286x^2-0,11x+5,06$	0,9965

Çizelge 4.31. Biyokimyasal süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri

Biyokimyasal süreçte 35°C pH polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
a	$y=0,00286x^2-0,145x+5,28$	0,9890
b	$y=0,00548x^2-0,136x+5,21$	0,9913
c	$y=-0,00202x^2-0,0432x+4,89$	0,9817
d	$y=0,00369x^2-0,11x+5,1$	0,9943
e	$y=0,00298x^2-0,104x+5,01$	0,9904
f	$y=-0,00262x^2-0,0729x+5,11$	0,9583
g	$y=-0,00143x^2-0,0417x+4,87$	0,9868

Çizelge 4.32. Biyolojik süreçte 25°C’de bulunan pH eşitlikleri

Biyolojik süreçte 35°C pH polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
h	$y=0,00101x^2-0,0985x+5,22$	0,9927
i	$y=0,00988x^2-0,153x+5,12$	0,9986
j	$y=0,000476x^2-0,105x+5,26$	0,9865
k	$y=0,00935x^2-0,149x+5,21$	0,9762
l	$y=0,00964x^2-0,152x+5,09$	0,9893
m	$y=0,00756x^2-0,142x+5,14$	0,9917
n	$y=0,000655x^2-0,0752x+5,13$	0,9944
o	$y=0,0081x^2-0,144x+5,21$	0,9987
p	$y=0,00464x^2-0,102x+5,04$	0,9884
q	$y=0,00643x^2-0,107x+4,94$	0,9677

4.5.4. Sıcaklığın redoks potansiyeli (mV)’nin değişimine etkisi

Biyoliçing çalışmalarında olduğu gibi biyodesülfürizasyon deneylerinde de redoks potansiyeli (mV) ölçümleri, Fe(II)’nin Fe(III)’e biyooksitlenmesi sürecinin gözlemlenmesi için çok önemli görülmüş ve haftalık olarak mV değişim ölçümleri yapılmıştır. Çalışmada Fe(II)’nin Fe(III)’e biyooksitlenmesi ile biyodesülfürizasyon çözelti ortamında redoks potansiyeli değişimi incelenmiş ve bu değişimin az olduğu belirlenmiştir. Çizelge 4.34-39’da biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde, 25°C, 30°C ve 35°C sıcaklıklarda mV değerleri verilmiştir. $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının bir ifadesi olan redoks potansiyeli’nin pirit külü çözeltilerinin biyodesülfürizasyon deneyleri süresince etkili

değerlerde değişmediği belirlenmiştir. Çalışılan deney şartlarında yapılan redoks potansiyeli ölçümlerinin 218 mV'tan yukarı çıkmadığı görülmüştür. Redoks potansiyeli'nin bu değerde kalmasının ana nedeni pirit mineralindeki demirin oksitlenmesi yerine kükürdün mikrobik metabolizma ile tüketilmesidir. Bu amaçla, bu çalışmada demir oksitleyen ferroxidan türü mikroorganizmaların yerine deneylerde maya ve *A. aceti* mikroorganizmaları kullanılmıştır. Deneylerde elde edilen redoks potansiyeli değerlerinden, daha önce yapılan çalışmalara göre $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranına geçilmesi işlemleri yapılmıştır.

Çizelge 4.33. Biyokimyasal süreçte 25°C'de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri

Biyokimyasal süreçte 25°C'de mV değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	G
1	210,8	206,0	208,0	208,3	211,2	206,4	211,0
2	212,0	211,0	208,6	209,2	214,2	208,0	213,9
3	212,7	215,6	209,0	210,5	216,6	209,9	217,4
4	214,5	218,7	211,2	214,2	217,0	210,9	221,6
5	217,0	221,4	212,4	214,7	218,5	211,0	222,7
6	218,3	222,3	213,0	215,3	220,0	213,6	223,5
7	222,7	223,3	214,5	217,1	221,6	217,6	226,2
8	223,3	223,6	214,7	217,4	222,6	223,7	227,4

Çizelge 4.34. Biyolojik süreçte 25°C'de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri

Biyolojik süreçte 25°C'de mV değerleri										
Hafta	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q
1	208,0	206,3	204,0	205,7	213,4	204,0	206,3	206,0	216,4	217,0
2	210,5	209,2	218,2	209,5	214,0	211,0	208,6	213,6	216,9	218,0
3	212,1	210,5	205,4	209,7	214,8	214,1	209,4	206,2	218,6	218,6
4	213,4	214,0	210,3	210,0	216,5	214,9	210,0	213,3	218,7	218,5
5	214,2	214,2	206,0	210,4	217,0	215,0	210,4	208,6	220,6	220,0
6	216,9	215,3	208,9	216,0	218,1	215,6	213,7	212,0	221,4	221,2
7	217,1	217,0	206,5	220,1	221,2	218,0	214,5	208,7	222,3	221,6
8	218,3	221,1	207,8	223,8	222,2	219,6	214,7	211,4	223,0	222,6

Çizelge 4.35. Biyokimyasal süreçte 30°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri

Biyokimyasal 30°C’de mV değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	g
1	210,1	209,0	210,5	212,6	213,5	207,4	212,1
2	213,2	214,3	210,8	212,8	214,4	207,6	214,7
3	215,3	218,7	213,0	213,5	214,7	208,1	215,3
4	216,9	220,9	213,1	214,8	216,4	209,4	216,7
5	217,6	222,0	215,3	216,0	218,2	210,7	217,4
6	218,8	224,8	218,0	219,4	219,3	211,1	220,1
7	219,5	226,4	219,8	222,4	220,5	212,7	222,5
8	220,8	227,7	222,7	223,0	221,7	214,8	224,4

Çizelge 4.36. Biyolojik süreçte 30°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri

Biyolojik süreçte 30°C’de mV değerleri										
Hafta	h	i	j	k	L	m	n	o	p	q
1	210,3	213,7	214,8	210,8	208,5	208,2	210,5	214,8	210,5	212,7
2	211,5	214,3	219,5	211,7	214,9	208,8	212,4	215,3	210,8	223,5
3	212,1	214,8	215,3	212,3	216,7	209,3	212,9	216,3	213,1	214,4
4	213,7	216,2	217,1	212,5	218,7	210,9	213,2	216,5	213,8	222,3
5	214,1	218,2	216,3	213,8	219,0	210,5	213,4	216,8	215,3	215,0
6	214,7	220,6	216,8	214,3	221,1	211,0	213,8	216,7	218,0	220,2
7	216,2	222,2	216,5	216,2	226,1	211,5	215,0	217,0	219,8	217,3
8	217,8	223,9	216,7	219,4	228,3	215,3	218,2	219,5	220,7	218,9

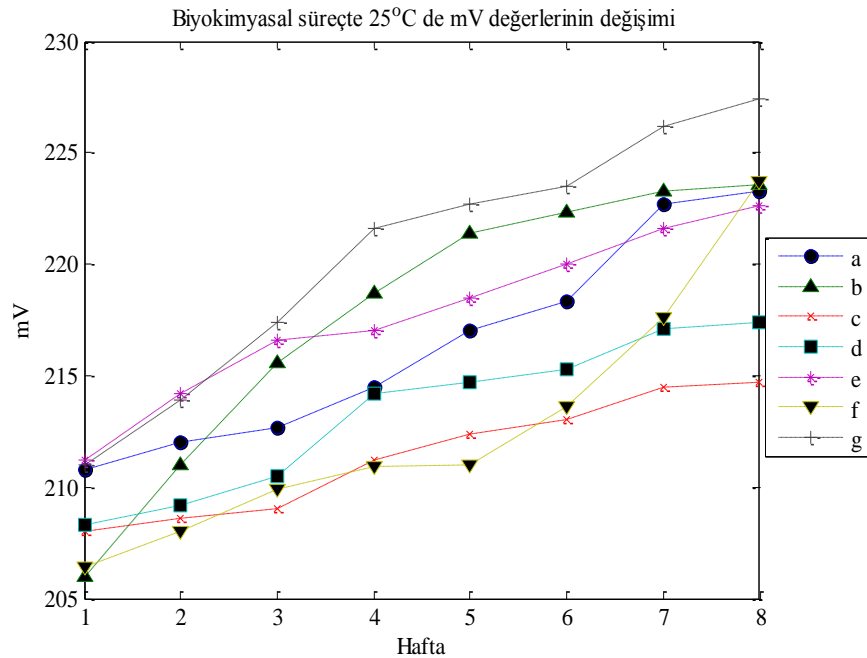
Çizelge 4.37. Biyokimyasal süreçte 35°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri

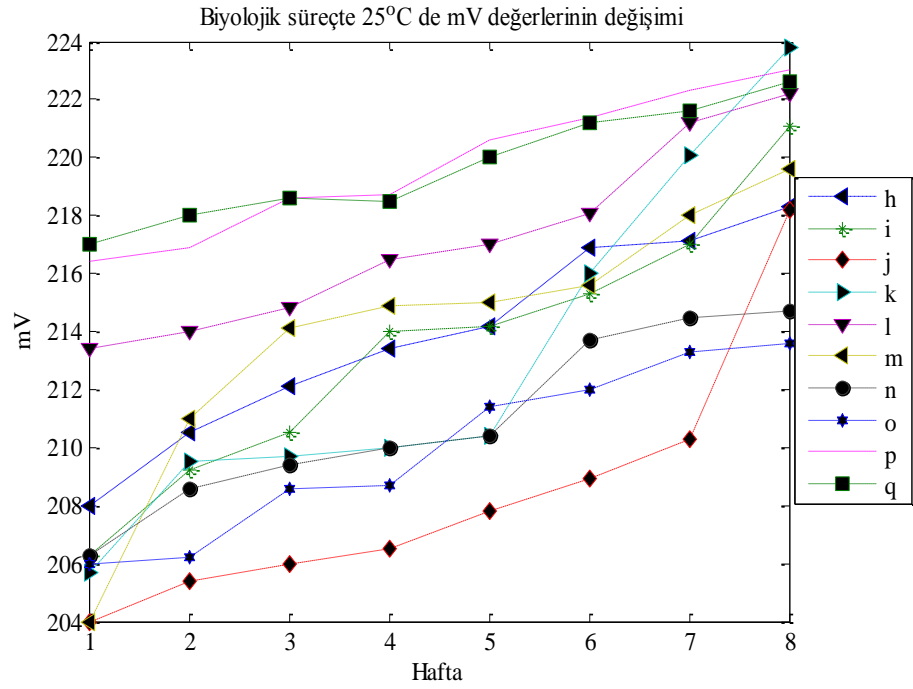
Biyokimyasal 35°C’de mV değerleri							
Hafta	a	b	c	d	e	f	g
1	210,5	213,5	210,2	217,0	213,2	210,5	214,7
2	211,3	214,4	211,8	218,6	215,2	210,9	215,3
3	214,9	214,7	212,0	220,8	216,8	211,0	216,7
4	216,7	216,4	213,1	221,5	217,0	211,5	217,4
5	218,7	218,2	215,3	222,8	219,5	213,3	220,1
6	219,1	219,3	218,0	224,0	221,4	214,8	222,5
7	222,1	220,5	219,8	225,4	222,9	216,3	223,6
8	223,2	221,4	220,7	226,4	223,4	218,2	225,4

Çizelge 4.38. Biyolojik süreçte 35°C’de bulunan redoks potansiyeli (mV) değerleri

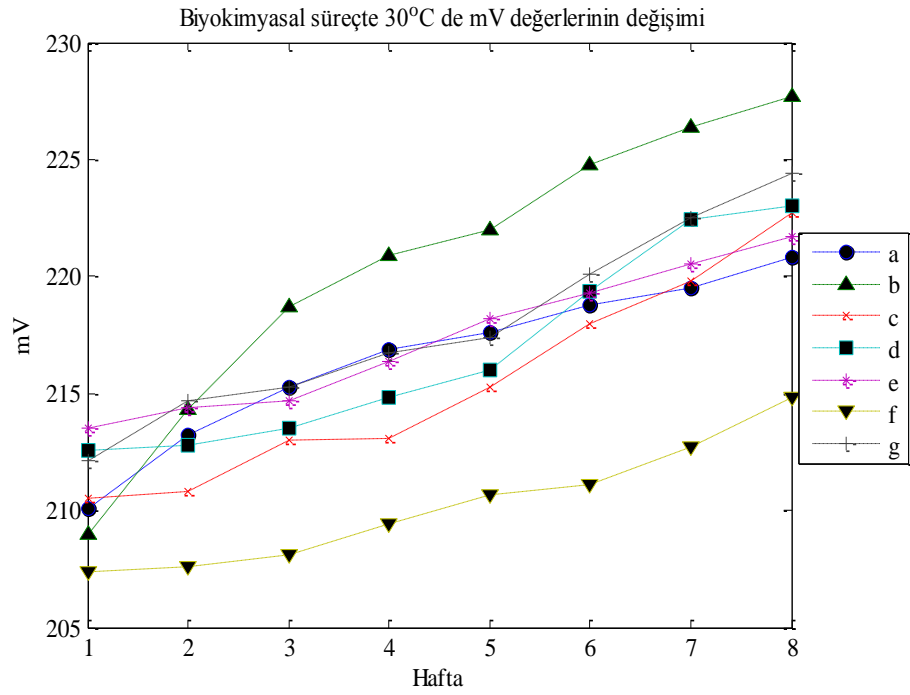
Biyolojik süreçte 35°C’de mV değerleri										
Hafta	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q
1	212,7	211,2	214,8	210,6	211,4	212,0	211,2	214,3	211,7	213,1
2	213,4	212,8	223,5	211,4	212,8	213,2	213,6	215,6	213,8	224,7
3	215,7	214,3	215,3	212,7	214,8	215,5	216,0	217,7	215,0	215,0
4	216,1	215,5	221,1	215,7	216,1	216,7	218,4	220,0	216,1	221,8
5	218,4	216,9	216,3	217,4	218,1	220,4	221,8	221,9	218,0	215,3
6	219,4	218,0	219,8	223,9	221,9	222,8	222,7	223,4	221,9	218,8
7	221,8	219,5	217,5	224,2	224,7	226,2	225,0	225,8	222,8	216,9
8	223,1	221,3	218,7	226,7	226,1	227,8	226,5	227,5	225,4	217,6

Bu çalışmada; Fe(III) miktarının çok düşük olmasından dolayı redoks potansiyeli (mV) değerleri diğer yapılan biyolojik çalışmalarına göre çok düşük bulunmuştur. Redoks potansiyeli (mV)’un 25, 30 ve 35°C sıcaklıklarda zaman ile değişim verilerinin grafikleri çizilmiş ve grafiklerden polinom eşitlikler elde edilmiştir. Şekiller 4.23-28’de biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde mV değişiminin grafikleri görülmektedir.

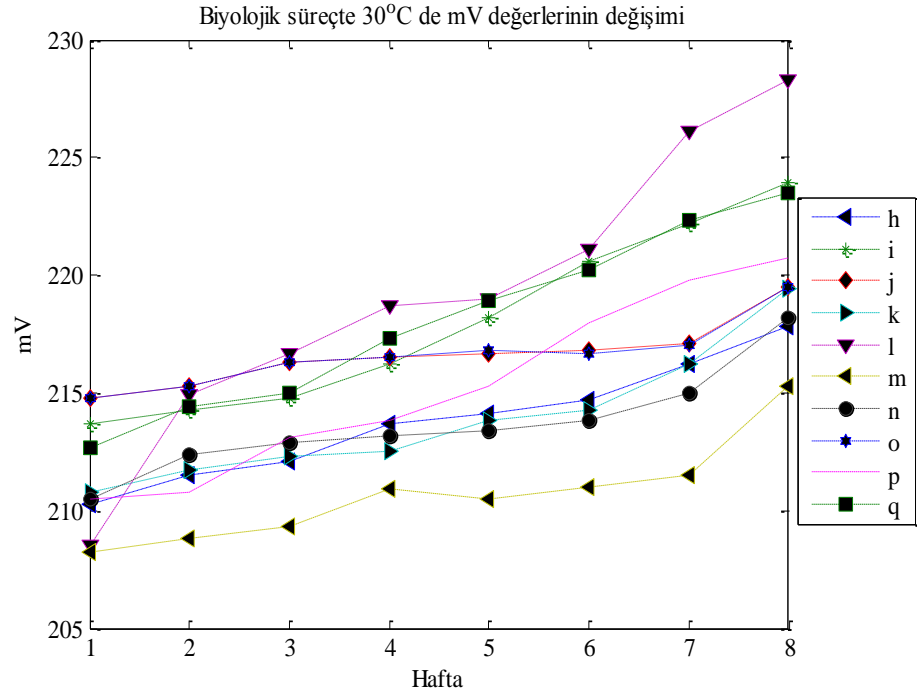
**Şekil 4.23.** Biyokimyasal süreçte 25°C’de mV değerlerinin değişimi



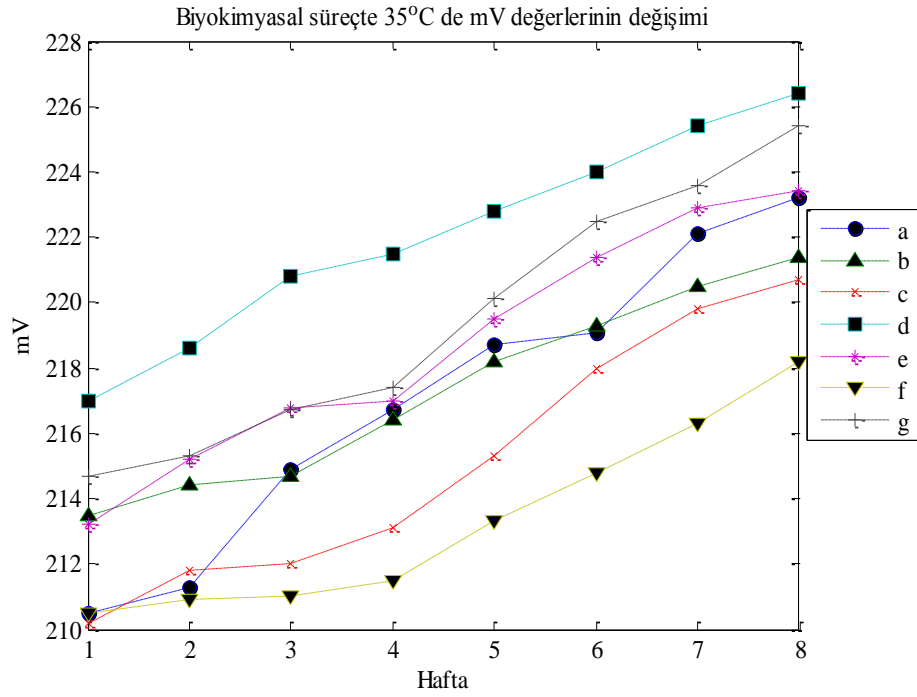
Şekil 4.24. Biyolojik süreçte 25°C’de mV değerlerinin değişimi



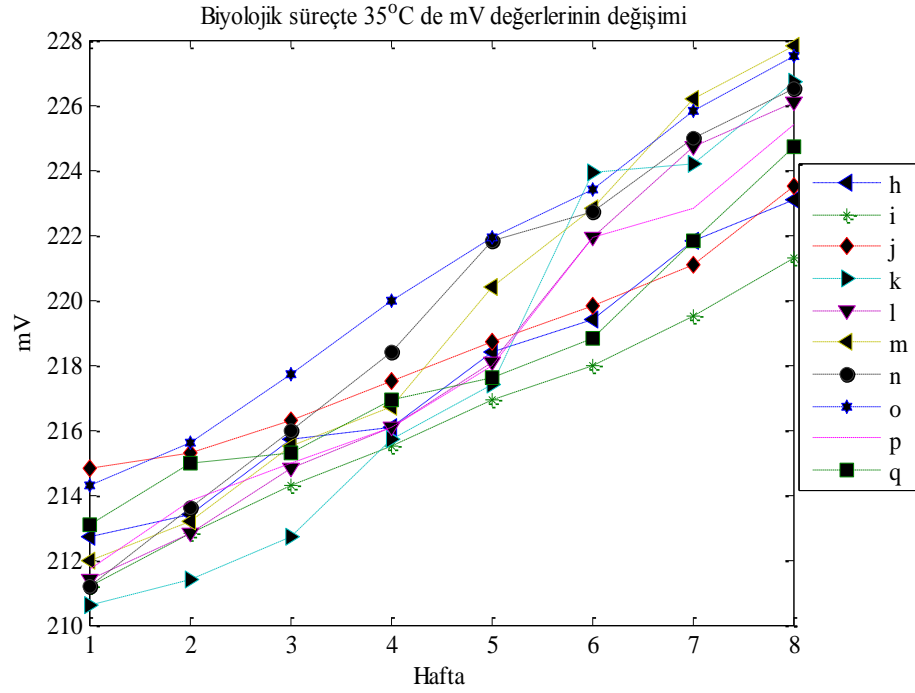
Şekil 4.25. Biyokimyasal süreçte 30°C’de mV değerlerinin değişimi



Şekil 4.26. Biyolojik süreçte 30°C'de mV değerlerinin değişimi



Şekil 4.27. Biyokimyasal süreçte 35°C'de mV değerlerinin değişimi



Şekil 4.28. Biyolojik süreçte 35°C’de mV değerlerinin değişimi

mV verilerinden elde edilen grafiklerin polinom denklemlerinin (Çizelge 4.40-45) türevleri kullanılarak $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranları bulunmuş ve var olan modeller üzerine uygulamalar yapılmıştır.

Çizelge 4.39. Biyokimyasal süreçte 25°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri

Biyokimyasal süreçte 25°C’de mV polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
a	$y=0,136x^2+0,682x+210$	0,9799
b	$y=-0,433x^2+6,36x+200$	0,9430
c	$y=-0,0119x^2+1,17x+206$	0,9850
d	$y=-0,0935x^2+2,25x+206$	0,9732
e	$y=-0,0887x^2+2,33x+209$	0,9848
f	$y=0,335x^2-0,87x+208$	0,9346
g	$y=-0,21x^2+4,22x+207$	0,9775

Çizelge 4.40. Biyolojik süreçte 25°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri

Biyolojik süreçte 25°C’de mV polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
h	$y=-0,0792x^2+2,14x+206$	0,9867
i	$y=-0,00238x^2+1,89x+205$	0,9796
j	$y=0,0327x^2-1,35x+206$	0,8794
k	$y=0,339x^2-0,685x+208$	0,9377
l	$y=0,108x^2+0,311x+213$	0,9768
m	$y=-0,264x^2+4,15x+202$	0,9055
n	$y=-0,00714x^2+1,27x+205$	0,9724
o	$y=-0,0333x^2+1,51x+204$	0,9806
p	$y=-0,00893x^2+1,07x+215$	0,9908
q	$y=0,0292x^2+0,529x+217$	0,9839

Çizelge 4.41. Biyokimyasal süreçte 30°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri

Biyokimyasal süreçte 30°C’de mV polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
a	$y=-0,154x^2+2,78x+208$	0,9703
b	$y=-0,282x^2+5,05x+205$	0,9694
c	$y=0,167x^2+0,257x+210$	0,9778
d	$y=0,189x^2-0,0351x+212$	0,9612
e	$y=0,0375x^2+0,895x+212$	0,9918
f	$y=0,105x^2+0,1x+207$	0,9743
g	$y=0,0952x^2+0,0812x+212$	0,9850

Çizelge 4.42. Biyolojik süreçte 30°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri

Biyolojik süreçte 30°C’de mV polinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
h	$y=0,0298x^2+0,735x+210$	0,9895
i	$y=0,128x^2+0,399x+213$	0,9815
j	$y=0,0429x^2+0,133x+215$	0,9076
k	$y=0,167x^2-0,429x+212$	0,9391
l	$y=-0,0196x^2+2,65x+208$	0,9708
m	$y=0,101x^2-0,097x+209$	0,9012
n	$y=0,0905x^2+0,0167x+211$	0,9122
o	$y=0,0411x^2+0,141x+215$	0,8959
p	$y=0,0607x^2+1,03x+209$	0,9887
q	$y=0,0208x^2+1,39x+211$	0,9965

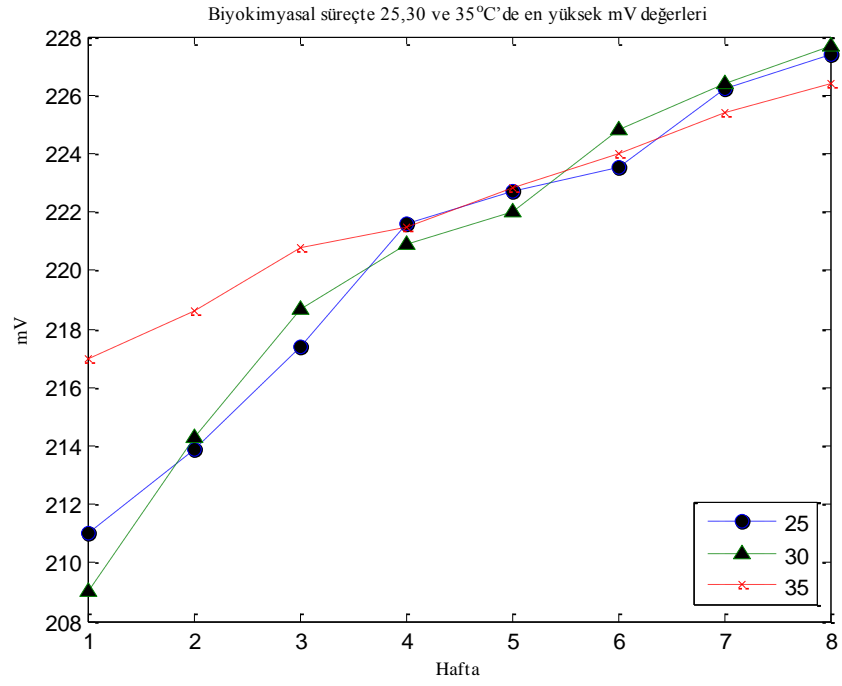
Çizelge 4.43. Biyokimyasal süreçte 35°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri

Biyokimyasal süreçte 35°C’de mVpolinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
a	$y=-0,0577x^2+2,39x+208$	0,9890
b	$y=0,025x^2+0,982x+212$	0,9913
c	$y=0,0946x^2+0,74x+209$	0,9817
d	$y=-0,0482x^2+1,75x+215$	0,9943
e	$y=-0,0167x^2+1,65x+212$	0,9904
f	$y=0,159x^2-0,31x+211$	0,9583
g	$y=0,0863x^2+0,848x+213$	0,9868

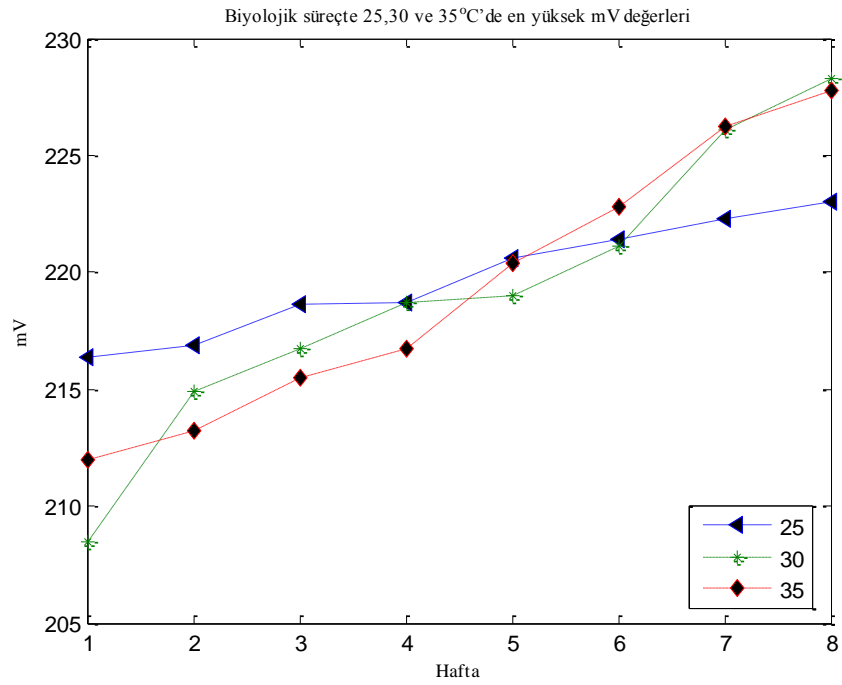
Çizelge 4.44. Biyolojik süreçte 35°C’de elde edilen redoks potansiyeli (mV) eşitlikleri

Biyolojik süreçte 35°C’de mVpolinom eşitlikleri		
	Denklem	R ²
h	$y=0,0476x^2+1,1x+211$	0,9927
i	$y=0,00536x^2+1,34x+210$	0,9986
j	$y=0,0905x^2+0,395x+214$	0,9865
k	$y=0,127x^2+1,38x+208$	0,9762
l	$y=0,112x^2+1,2x+210$	0,9893
m	$y=0,105x^2+1,45x+210$	0,9917
n	$y=-0,0869x^2+3,02x+208$	0,9944
o	$y=0,00714x^2+1,87x+212$	0,9987
p	$y=0,0899x^2+1,14x+211$	0,9884
q	$y=0,158x^2+0,0798x+214$	0,9677

Şekil 4.29 ve Şekil 4.30’da biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde 25, 30 ve 35°C’de en yüksek mV değerleri verilmiştir. Bu grafiklerden de görüldüğü gibi; biyokimyasal süreçte en yüksek mV değeri 30°C’de elde edilirken, biyolojik süreçte ise 35°C’de en yüksek mV değeri elde edilmiştir.



Şekil 4.29. Biyokimyasal süreçte en yüksek mV değerleri



Şekil 4.30. Biyolojik süreçte en yüksek mV değerleri

4.5.5. Ortalama pH ve ortalama mV'un sıcaklıklar ile değişimi

Ortalama olarak her bir sıcaklıkta pH ve mV değerlerinin değişiminin nasıl olduğunu göstermek amacı ile 25, 30 ve 35°C sıcaklıklar için ortalama pH ve mV değerlerinin grafiği çizilmiştir. Ortalama pH değerleri 25°C'de 4.77, 30°C'de 4.72 ve 35°C'de ise 4.70 ve ortalama mV değerleri ise 25°C'de 214.03, 30°C'de 215.55 ve 35°C'de ise 218.03 bulunmuştur. Çizelge 4.46-47'de biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde ortalama pH ve mV değişimi görülmektedir.

Çizelge 4.45. Biyokimyasal süreçte ortalama pH ve ortalama mV'un sıcaklıklar ile değişimi

Biyokimyasal süreçte ortalama pH ve ortalama mV'un değişimi		
°C	Ortalama pH	Ortalama mV
25	4,6825	215,6750
30	4,6695	216,3821
35	4,7079	217,5696

Çizelge 4.46. Biyolojik süreçte ortalama pH ve ortalama mV'un sıcaklıklar ile değişimi

Biyolojik süreçte ortalama pH ve ortalama mV'un değişimi		
°C	Ortalama pH	Ortalama mV
25	4,7714	214,0325
30	4,7222	215,5512
35	4,7079	218,0397

4.5.6. pH ve mV ile $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi

pH ile $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi: Pirit külü biyodesülfürizasyon sürecinde ortamdaki proton (H^+) değerinin değişimini gözlemek için pH ölümleri yapılmıştır. Bu çalışmada; deneysel pH ölüm verileri ile $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesinin

yapılması için mikrobiyal yollar ile Fe(II)'nin biyooksitlenme tepkimesi (2.12) eşitliği kullanılarak bir model geliştirilmiştir.

$$K_{Fe^{+2}} = \frac{[Fe^{+3}]^4}{[Fe^{+2}]^4[H^+]^4[O_2]} \quad (4.1)$$

Atmosferik şartlarda O_2 gazının sudaki çözünürlüğü çok düşük olduğu için ihmal edilerek denge denklemi aşağıdaki gibi yazılır (Geankoplis 1993).

$$K_{Fe^{+2}} = \frac{[Fe^{+3}]^4}{[Fe^{+2}]^4[H^+]^4} \quad (4.2)$$

Denklemin her iki tarafının logaritması alındığında eşitlik (4.3) elde edilir.

$$-4 \log[H^+] = -4 \log \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} + \log K_{Fe^{+2}} \quad (4.3)$$

$-\log[H^+] = pH$ olduğundan aşağıdaki pH eşitliği yazılabilir.

$$pH = -\log \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} + 1/4 \log K_{Fe^{+2}} \quad (4.4)$$

$$\frac{dpH}{dt} = \frac{d}{dt} \left(-\log \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} \right) = \text{Grafikten_elde_edilen_polinom_denklemi} \quad (4.5)$$

Türev denkleminin integralinin alınması ile $(\log [Fe^{+3}/Fe^{+2}])$ değerleri bulunur.

Fe(II)'nin $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranından tahmin edilmesi için sırasıyla (2.38) ve (2.39) eşitlikleri ile verilen kinetik modeller kullanılmıştır (Carberry 1976; May *et al.* 1997).

$$[Fe^{+2}] = \frac{[Fe^{Toplam}]}{1 + \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]}} \quad (4.6)$$

mV ile $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi: Pirit külü biyodesülfürizasyonu deneylerinde redoks potansiyeli (mV) ve proton (H^+) iyonu (pH) değişiminin ölçümleri yapılarak birbirleri arasındaki bağıntılar incelenmiştir. Nernst eşitliği pirit'in indirgenme ve yükseltgenme tepkimelerine uygulandığında $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranına ve tepkimeye giren indirgenen ve yükseltgenen maddelerin miktarını bulmakta kullanılmaktadır. Bu kuramsal temeller doğrultusunda, pirit külü biyodesülfürizasyonu deneylerinde redoks potansiyeli (mV) ölçümleri yapılarak pirit'in indirgenme ve yükseltgenme oranları incelenmiştir. Redoks potansiyeli ölçümlerinden elde edilen mV değerlerinin Nernst eşitliğine uygulanması ile mV değişimine bağlı Fe(II) değerleri elde edilmiştir (Almeida and Giannetti 2002).

Pirit külü biyodesülfürizasyon sürecinde ortamdaki Fe(III) değerlerinin değişimini gözlemlemek için Fe(III) ölçümleri yapılmıştır. Bu çalışmada; deneysel Fe(III) ölçüm verileri ile $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi yapılarak bir model geliştirilmiştir. Deneysel mV ölçüm verileri ile Fe(II)'nin biyooksitlenme tepkimesi (2.21) eşitliği kullanılarak $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi amacıyla bir model geliştirilmiştir.

Piritin kimyasal oksidasyonunda Fe(II) ve Fe(III) derişim oranı belirleyici etken olarak kabul edilmiştir. Nernst eşitliği tarafından bu oran redoks potansiyeli ile bağıntılı olarak aşağıdaki gibi verilmiştir:

$$E_H = E_o + \frac{2,303RT}{nF} \log \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} \quad (4.7)$$

$[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranı Nernst eşitliği ile bağıntılı olarak şöyle yazılabilmektedir:

$$\frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} = \exp\left(\frac{E_H - E_o}{\frac{RT}{nF}}\right) \quad (4.8)$$

Fe(II)'nin Fe(III)'e oksitlenmesi denklemi kullanılarak $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranı Nernst eşitliğine uydurulur (Almeida and Giannetti 2002):



$$K_{Fe^{+2}} = \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} \quad (4.10)$$

$$\log K_{Fe^{+2}} = \log \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} \quad (4.11)$$

Eşitlik (4.11) Nernst eşitliği (4.7) içerisinde yazılırsa aşağıda verilen denklem bulunur:

$$\frac{dE_H}{dt} = \frac{2,303RT}{nF} \frac{d}{dt} \left(\log \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} \right) = \text{Grafikten_elde_edilen_polinom} \quad (4.12)$$

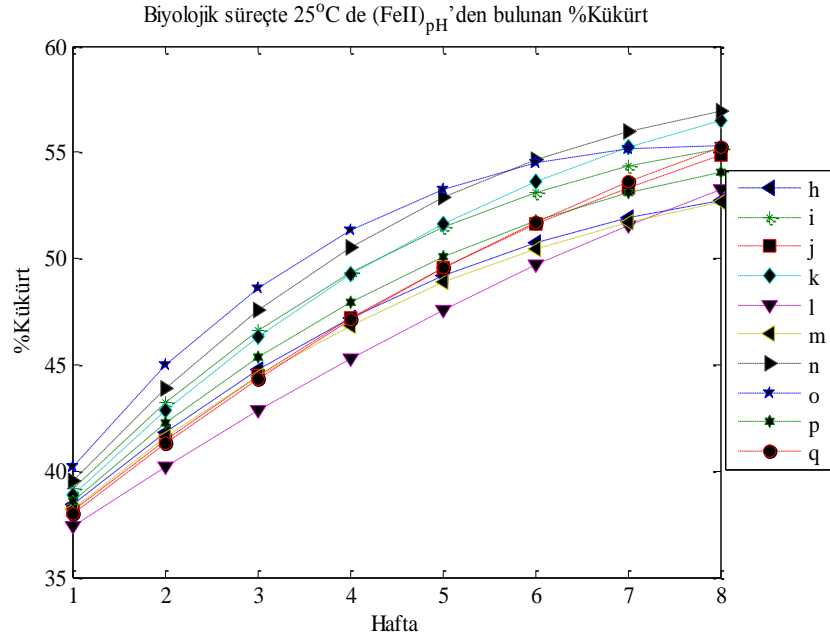
_denklemin_türevi

Türev denkleminin integralinin alınması ile (E_H) değerleri elde edilir.

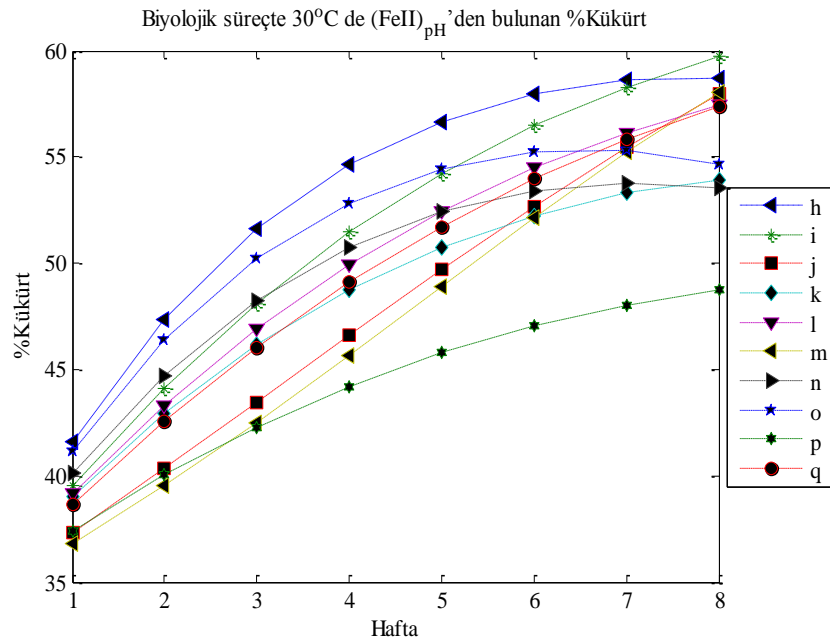
4.5.7. $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'dan elde edilen kükürdün değişimi

Pirit külünün biyodesülfürizasyonu süresi sonunda spektrofotometrik olarak yapılan kükürt belirlemesinden ayrı olarak, kimyasal denklem (2.10) uyarınca kükürdün proton (H^+) açığa çıkarma özelliğinden dolayı, pH kaynaklı Fe(II) değerlerinden kükürt miktarları hesaplanmış ve Şekil 4.31-33'deki grafiklerde gösterilmiştir. Çizelge 4.49-50'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den bulunan en düşük ve en yüksek %kükürt değerleri verilmiştir.

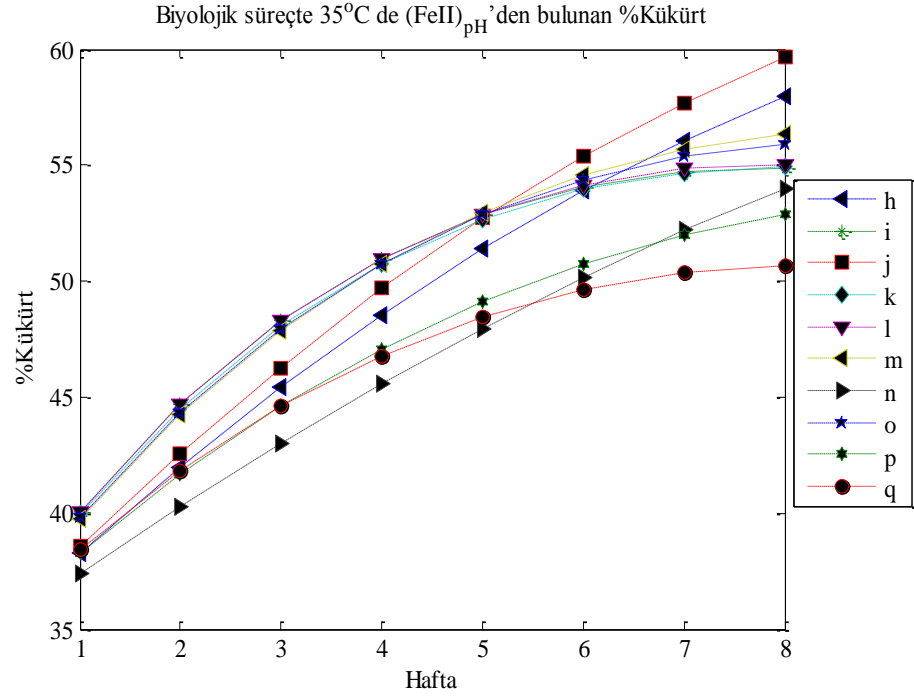
Çizelge 4.50'de görüldüğü gibi biyolojik süreçte 30°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den elde edilen en yüksek % kükürt değeri %59,72 olarak bulunmuştur.



Şekil 4.31. Biyolojik süreçte 25°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'dan bulunan %kükürt'ün değişimi



Şekil 4.32. Biyolojik süreçte 30°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'dan bulunan %kükürt



Şekil 4.33. Biyolojik süreçte 35°C'de [Fe⁺²]_{pH}'den bulunan %kükürt

Çizelge 4.47. Biyolojik süreçte 25°C'de [Fe⁺²]_{pH}'den bulunan en düşük ve en yüksek %kükürt değerleri

Biyolojik süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek %kükürt		
En düşük % Kükürt	l) Su+Pirit Külü+ Glikoz+A. aceti	37,39
En yüksek % Kükürt	n) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae+A. aceti	56,92

Çizelge 4.48. Biyolojik süreçte 30°C'de [Fe⁺²]_{pH}'den bulunan en düşük ve en yüksek %kükürt değerleri 59,72

Biyolojik süreçte 30°C'de en düşük ve en yüksek %kükürt		
En düşük % Kükürt	o) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. cerevisiae+A. Aceti	41,15
En yüksek % Kükürt	i) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae	59,72

Çizelge 4.49. Biyolojik süreçte 35°C’de $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’den bulunan en düşük ve en yüksek %kükürt değerleri

Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek %kükürt		
En düşük % Kükürt	q) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol++Asetik Asit+S. <i>cerevisiae</i> + <i>A. Aceti</i>	30,43
En yüksek % Kükürt	j) Su+Pirit Külü+A. <i>Aceti</i>	59,66

4.6. Fe(II) Biyooksitlenme Oranı ($q_{Fe^{+2}}$)

Monod denkleminin düzenlenmesi ile spesifik Fe(II) biyooksitlenme oranı ($q_{Fe^{+2}}$) aşağıdaki denklem ile belirlenmiştir (Nemati *et al.* 1998).

$$q_{Fe^{+2}} = \frac{q_{Fe^{+2}}^{mak}}{1 + K_{Fe^{+2}} \left[\frac{Fe^{+3}}{Fe^{+2}} \right]} \quad (4.13)$$

(4.13) eşitliğinin logaritması alınarak düzenlendiğinde;

$$\log \left(q_{Fe^{+2}} + q_{Fe^{+2}} K_{Fe^{+2}} \left[\frac{Fe^{+3}}{Fe^{+2}} \right] \right) = \log q_{Fe^{+2}}^{mak} \quad (4.14)$$

$$2 \log q_{Fe^{+2}} + \log K_{Fe^{+2}} + \log \left[\frac{Fe^{+3}}{Fe^{+2}} \right] = \log q_{Fe^{+2}}^{mak} \quad (4.15)$$

$$\log K_{Fe^{+2}} = sbt$$

$$\log q_{Fe^{+2}}^{mak} = sbt$$

(4.15) eşitliğinin türevi alındığında aşağıdaki denklem elde edilir.

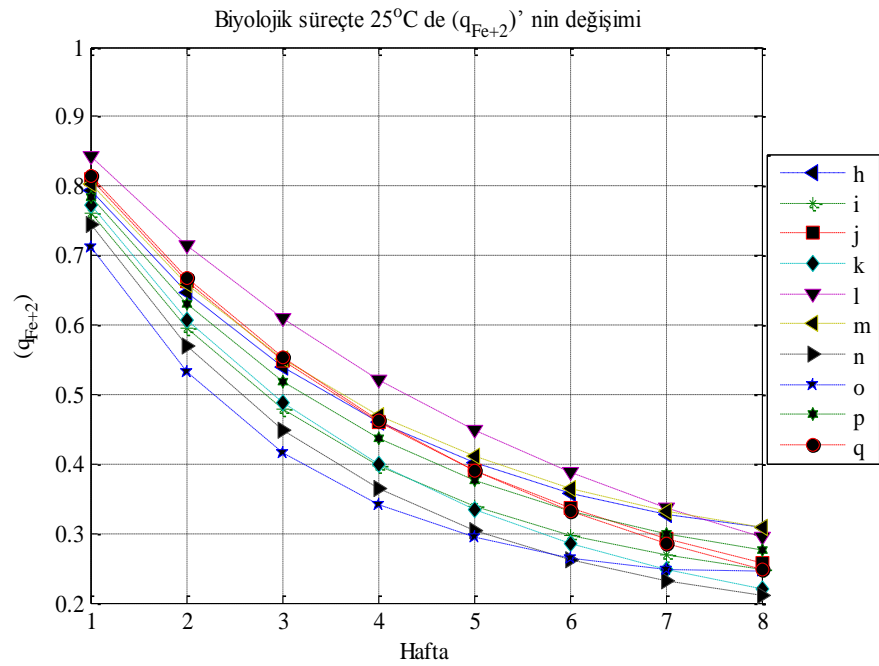
$$\frac{d}{dt}(\log q_{Fe^{+2}}) = -\frac{1}{2} \frac{d}{dt} \left(\log \frac{[Fe^{+3}]}{[Fe^{+2}]} \right) = \text{Grafikten_elde_edilen_polinom} \quad (4.16)$$

denklem_türevi

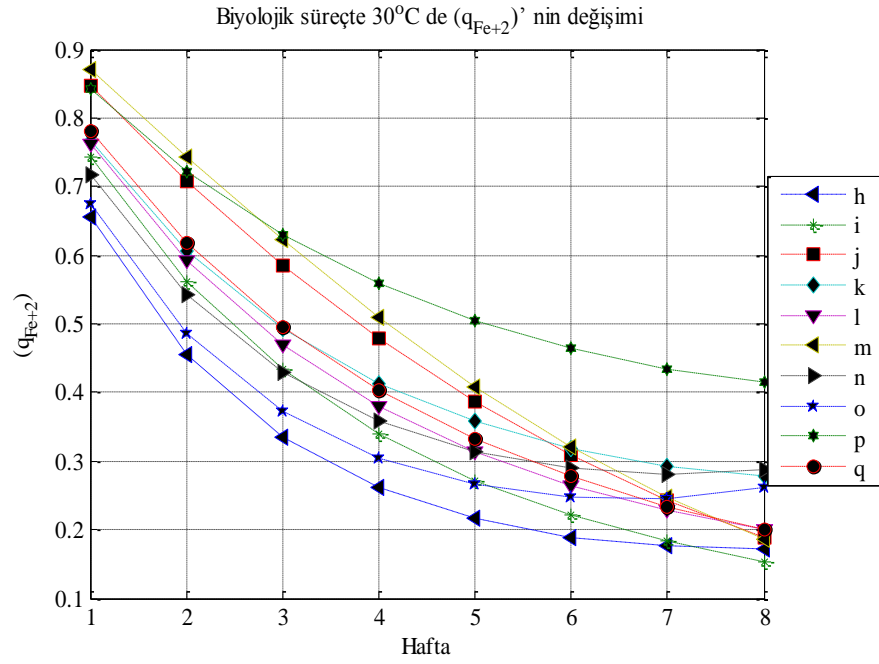
Türev denkleminin integralinin alınması ile ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri bulunur.

Bu çalışmada; elde edilen pH verileri kullanılarak elde edilen $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranı ile biyolojik Fe(II) tüketim oranının ($q_{Fe^{+2}}$) değişimi bulunmuştur.

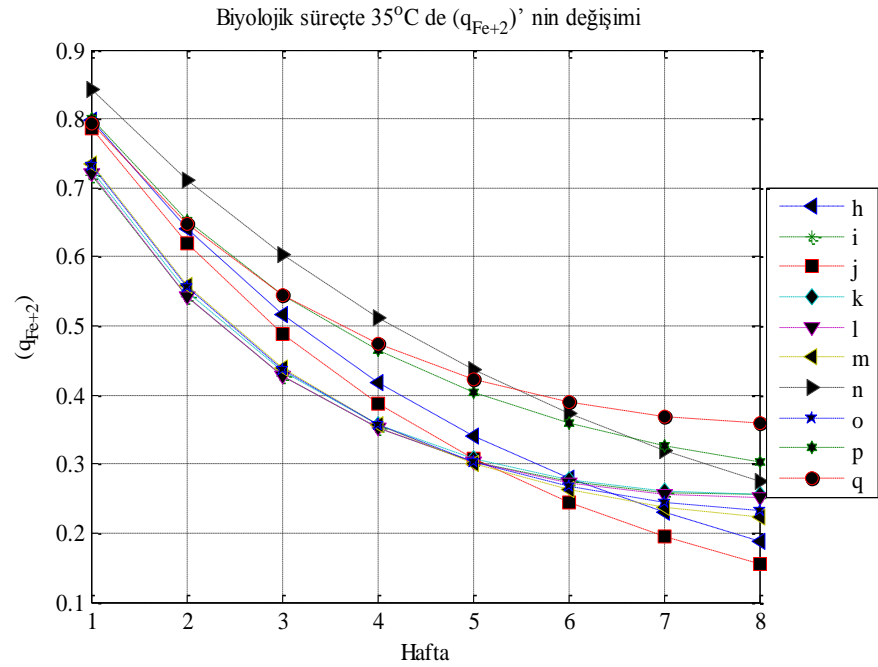
Biyokimyasal ve biyolojik süreçlerde, 25, 30 ve 35°C sıcaklıklarda ($q_{Fe^{+2}}$) değerlerinin zamana göre değişim grafikleri Şekil 4.34-36'da gösterilmiştir. Çizelge 4.51-53'te ise en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri verilmiştir.



Şekil 4.34. Biyolojik süreçte 25°C'de ($q_{Fe^{+2}}$)'nin değişimi



Şekil 4.35. Biyolojik süreçte 30°C'de ($q_{Fe^{+2}}$)'nin değişimi



Şekil 4.36. Biyolojik süreçte 35°C'de ($q_{Fe^{+2}}$)'nin değişimi

Çizelge 4.50. Biyolojik süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri

Biyolojik süreçte 25°C’de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$)		
En düşük ($q_{Fe^{+2}}$)	n) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae+A. aceti	0,2108
En yüksek ($q_{Fe^{+2}}$)	m) Su+Pirit Külü+Alkol+A. Aceti	0,3085

Çizelge 4.51. Biyolojik süreçte 30°C’de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri

Biyolojik süreçte 30°C’de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$)		
En düşük ($q_{Fe^{+2}}$)	i) Su+Pirit Külü+Glikoz+S. Cerevisiae	0,154
En yüksek ($q_{Fe^{+2}}$)	p) Su+Pirit Külü+Alkol++Asetik Asit+S. cerevisiae+A. Aceti	0,4144

Çizelge 4.52. Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değerleri

Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek ($q_{Fe^{+2}}$)		
En düşük ($q_{Fe^{+2}}$)	d) Su+Pirit Külü+Asetik Asit	0,155
En yüksek ($q_{Fe^{+2}}$)	q) Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol++Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. Aceti	0, 3594

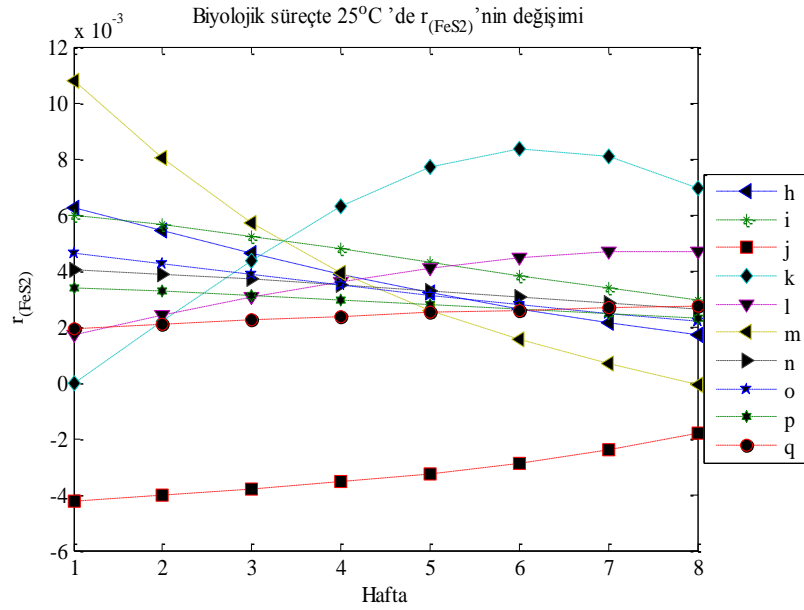
4.7. Pirit Tüketim Oranının (r_{FeS_2}) Değişimi

Pirit mineralinin denklem (2.10)’da verildiği gibi Fe(III) ile oksitlenmesi ile oluşan Fe(II) miktarı da dikkate alınarak dönüşüm oranı eşitliği belirlenmiştir (May *et al.*1997). Pirit mineralinin tepkime oranının elde edilmesi için deneysel verilerin kullanımına uygulanabilecek şekilde grafik yöntem içeren bir model geliştirilmiştir.

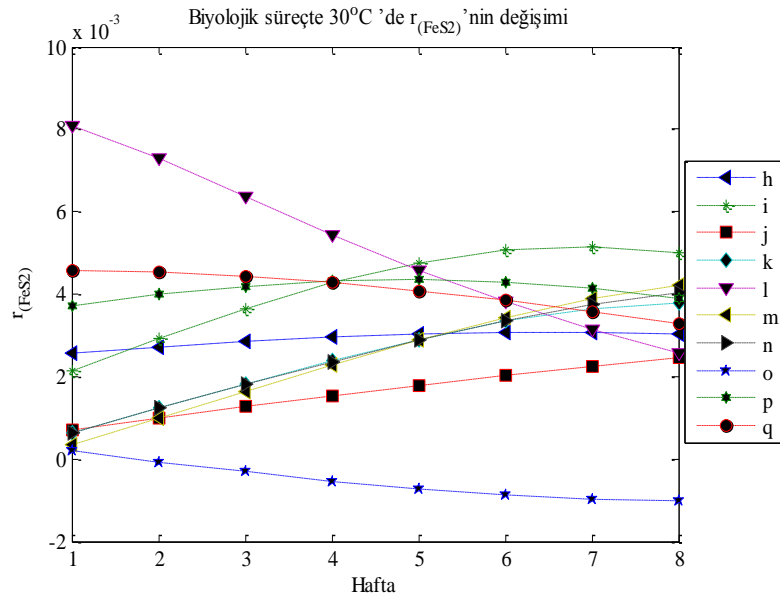
$$r_{FeS_2} = \frac{d}{dt} [FeS_2] = - \frac{d}{dt} [[Fe^{+3}] + [Fe^{+2}]]_{=Fe(II) \text{ ve } Fe(III) \text{ 'ün}} \quad (4.17)$$

değişim eşitliğinin türevi

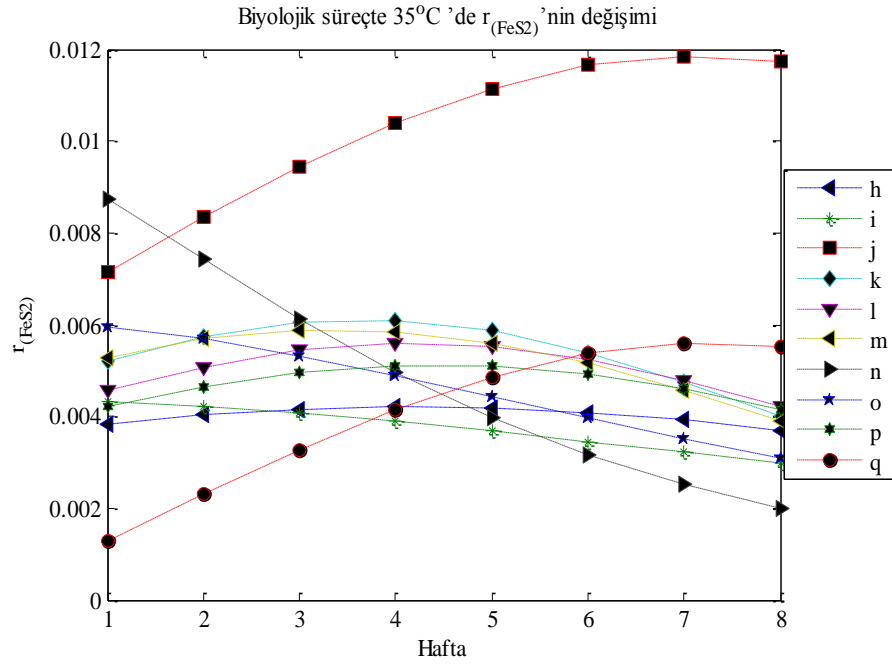
Pirit oksitlenme oranı (r_{FeS_2})'nin Fe(II) ve Fe(III) ile ilişkilendirilmesi yapılmış ve aralarındaki değişim farkı Şekil 4.37-39'da verilen grafikler ile gösterilmiştir. Çizelge 4.54-56'da en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2}) değerleri verilmiştir.



Şekil 4.37. Biyolojik süreçte 25°C'de (r_{FeS_2})'nin süre ile değişimi



Şekil 4.38. Biyolojik süreçte 30°C'de (r_{FeS_2})'nin süre ile değişimi



Şekil 4.39. Biyolojik süreçte 35°C'de (r_{FeS_2}) 'nin süre ile değişimi

Çizelge 4.53. Biyolojik süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2}) değerleri

Biyolojik süreçte 25°C'de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2})		
En düşük (r_{FeS_2})	Su+Pirit Külü+A. aceti	$-2,11.10^{-3}$
En yüksek (r_{FeS_2})	Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti	$6,35.10^{-3}$

Çizelge 4.54. Biyolojik süreçte 30°C'de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2}) değerleri

Biyolojik süreçte 30°C'de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2})		
En düşük (r_{FeS_2})	Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. cerevisiae+A. aceti	$-1,24.10^{-3}$
En yüksek (r_{FeS_2})	Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae	$5,36.10^{-3}$

Çizelge 4.55. Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2}) değerleri

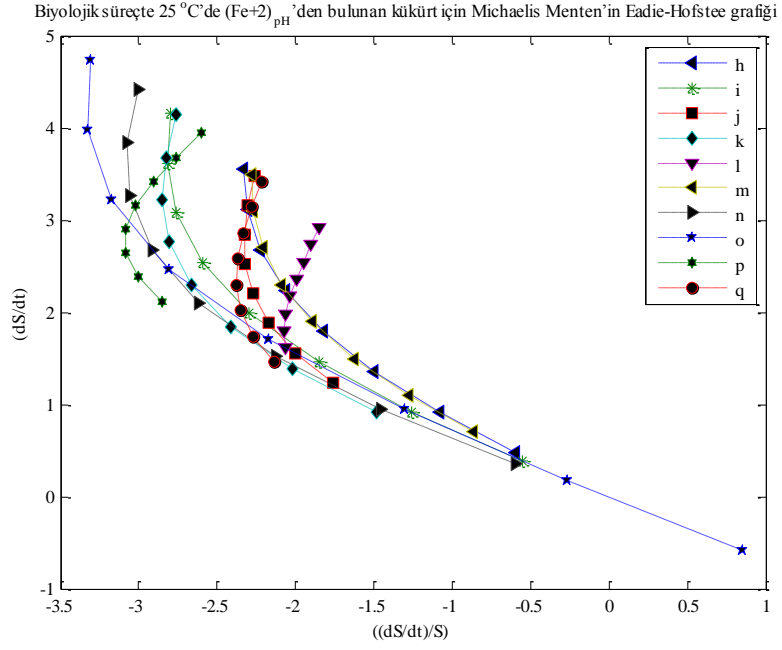
Biyolojik süreçte 35°C’de en düşük ve en yüksek (r_{FeS_2})		
En düşük (r_{FeS_2})	Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. <i>cerevisiae</i> + <i>A. aceti</i>	$2,81.10^{-3}$
En yüksek (r_{FeS_2})	Su+Pirit Külü+A. <i>aceti</i>	$1,8.10^{-2}$

Çizelge 4.56.’da görüldüğü gibi (r_{FeS_2}) değerleri 35°C’de biyolojik süreçte en yüksek değerde (0,018) bulunmuştur.

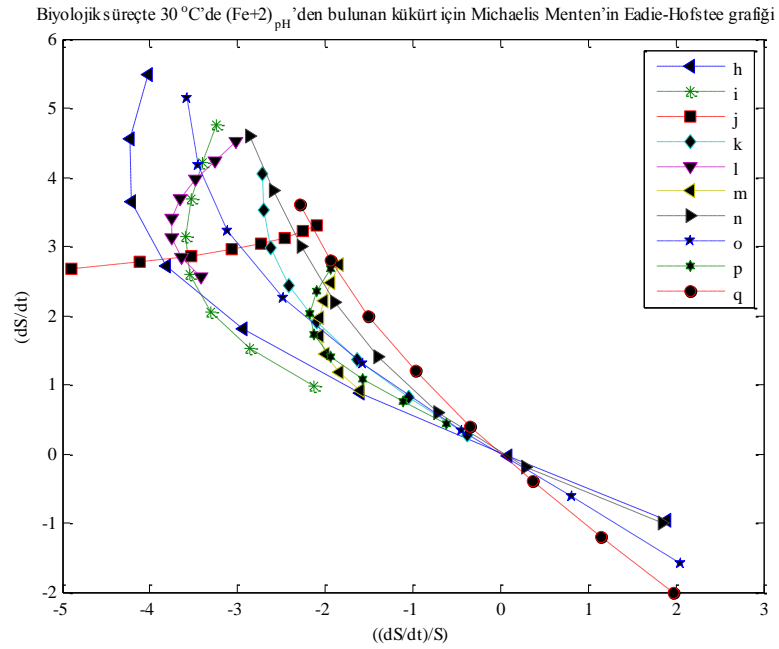
4.8. Michaelis-Menten ve Monod Kinetik Modellerinin Uygulanması

Michaelis - Menten modelinin uygulanması: 25, 30 ve 35°C’de yapılan biyodesülfürizasyon denemelerinden elde edilen $[Fe^{+2}]_{pH}$ ’den bulunan kükürt değerlerinden elde edilen ve *S. cerevisiae* için besin maddesi olan kükürt için Michaelis-Menten maksimum tepkime oranı (r_{MMmak}) ve tepkime sabiti (K_{MM}) değerleri belirlenmiştir.

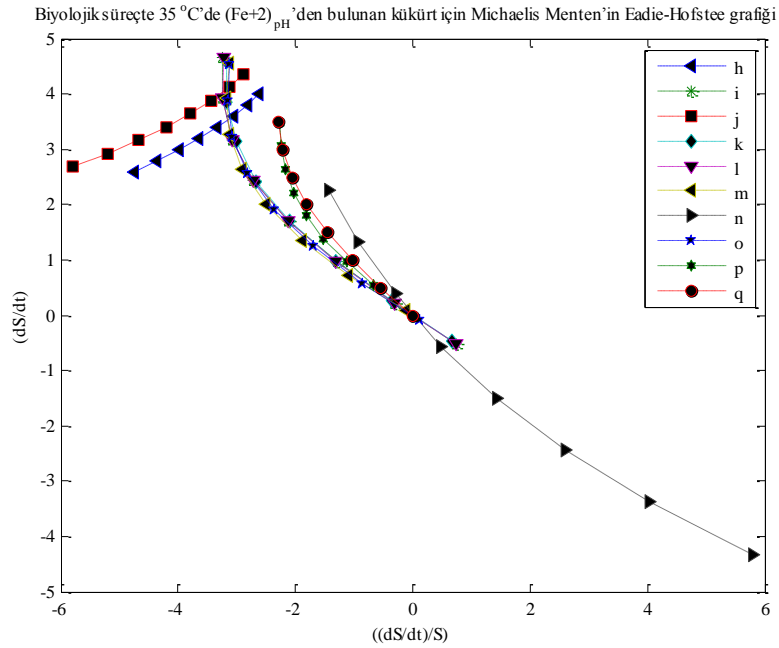
Mikroorganizmaların deney karışım ortamına uymaları ve büyüme aşamasına geçmeleri süresince $[Fe^{+2}]_{pH}$ değerlerinin değişmediği görülmüş ve ilk değerler başlangıç değeri olarak kabul edilmiştir. Deneylerde asidik ve enzimatik etkenler ile $[Fe^{+2}]_{pH}$ değerlerinden elde edilen kükürt miktarının az olmasından dolayı tepkimeler birinci derece olarak kabul edilmiştir. r_{MMmak} ve K_{MM} değerlerinin bulunmasında, uygun lineerleştirme gerçekleştiği için (2.41) eşitliğinde verilen Eadie-Hofstee grafik yönteminden yararlanılmış (Şekil 4.40-42) ve bulunan (r_{MMmak}) ve (K_{MM}) değerleri Çizelge 4.57’de verilmiştir.



Şekil 4.40. Biyolojik süreçte 25°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den bulunan kükürt için Michaelis-Menten'in Eadie-Hofstee grafiği



Şekil 4.41. Biyolojik süreçte 30°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den bulunan kükürt için Michaelis-Menten değişimi



Şekil 4.42. Biyolojik süreçte 35°C'de $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den bulunan kükürt için Michaelis-Mentendeğişimi

Çizelge 4.56. $[Fe^{+2}]_{pH}$ 'den bulunan kükürt için r_{MMmak} ve K_{MM} değerleri

Biyolojik numune karışımları	25°C		30°C		35°C	
	r_{Mmak}	K_M	r_{Mmak}	K_M	r_{Mmak}	K_M
Su+Pirit Külü+S. cerevisiae	3,56	-6,03	5,48	2,91	4	-1,53
Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae	4,16	-7,52	4,76	-2,23	4,66	6,29
Su+Pirit Külü+A. aceti	3,48	-1,97	3,31	-1,58	4,36	-1,51
Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. Aceti	4,14	-2,79	4,06	-10,97	4,58	7,04
Su+Pirit Külü+ Glikoz+A. aceti	2,91	-1,58	4,52	-1,49	4,66	6,21
Su+Pirit Külü+Alkol+A. aceti	3,5	-4,06	2,74	-1,71	4,56	-38
Su+Pirit Külü+ Glikoz+ S. Cerevisiae + A. aceti	4,42	-7,36	4,6	2,5	2,26	0,38
Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. cerevisiae+A. aceti	4,74	5,57	5,14	2,5	4,54	37,83
Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti	3,94	-1,51	2,68	-4,39	3,48	-5,19
Su+Pirit Külü +Glikoz+ Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. aceti	3,42	-1,51	3,6	1,81	3,5	0

Çizelge 4.57’de görüldüğü gibi, en düşük (r_{MMmak}) değerleri 25°C’de ‘Su+Pirit Külü+Glikoz+A. *aceti*’, 30°C’de ‘Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+A. *aceti*’ ve 35°C’de ise ‘Su+Pirit Külü+ Glikoz+ S. *Cerevisiae* + A. *aceti*’ karışımlarını içeren deneylerde bulunmuştur. En yüksek (r_{MMmak}) değerleri ise 25°C ve 30°C’de ‘Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. *cerevisiae*+A. *aceti*’ ve 35°C’de ‘Su+Pirit Külü+Glikoz+S. *cerevisiae*’ ikili mikroorganizma karışımı içeren deneylerde biyodesülfürizasyon çalışmasının en yüksek dönüşüm oranına ulaşılmıştır.

Buna rağmen; ‘S. *cerevisiae*+A. *aceti*’ mikroorganizmaları içeren deneylerde r_{mak} değerlerinin yüksek çıkması ise bu mikroorganizmaların simbiyotik olarak kükürt çözünmesinde az miktarda etkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada; çözünen kükürt için belirlenen kinetik sabitlerin r_{Mmak} ve K_M değerleri daha önceden elde edilen kinetik sabitler ile karşılaştırıldığında, deneylerde çalışılan mikrobik, kimyasal ve fiziksel özelliklerin değişik olmasından dolayı farklı sonuçların ortaya çıktığı belirlenmiş ancak kullanılan modeller ile yapılan uygulamalarda genel olarak sonuçlar karşılaştırılmıştır (Dowd and Riggs 1965; Counotte and Prins 1979).

Elde edilen sonuçlara göre en yüksek (r_{MMmak}) değerleri dikkate alınarak Michaelis-Menten kinetik modeli aşağıdaki eşitlikler ile ifade edilmiştir.

25°C’de ‘Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. *cerevisiae*+A. *aceti*’ ikili mikroorganizma karışımı için eşitlik:

$$r_{MM} = \frac{4,74 [S]}{5,57 + [S]} \quad (4.18)$$

30°C’de ‘Su+Pirit Külü+Alkol+S. *cerevisiae*+A. *Aceti*’ ikili mikroorganizma karışımı için eşitlik:

$$r_{MM} = \frac{5,48 [S]}{2,91 + [S]} \quad (4.19)$$

35°C’de ‘Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae’ ikili mikroorganizma karışımı için eşitlik:

$$r_{MM} = \frac{4,66 [S]}{6,29 + [S]} \quad (4.20)$$

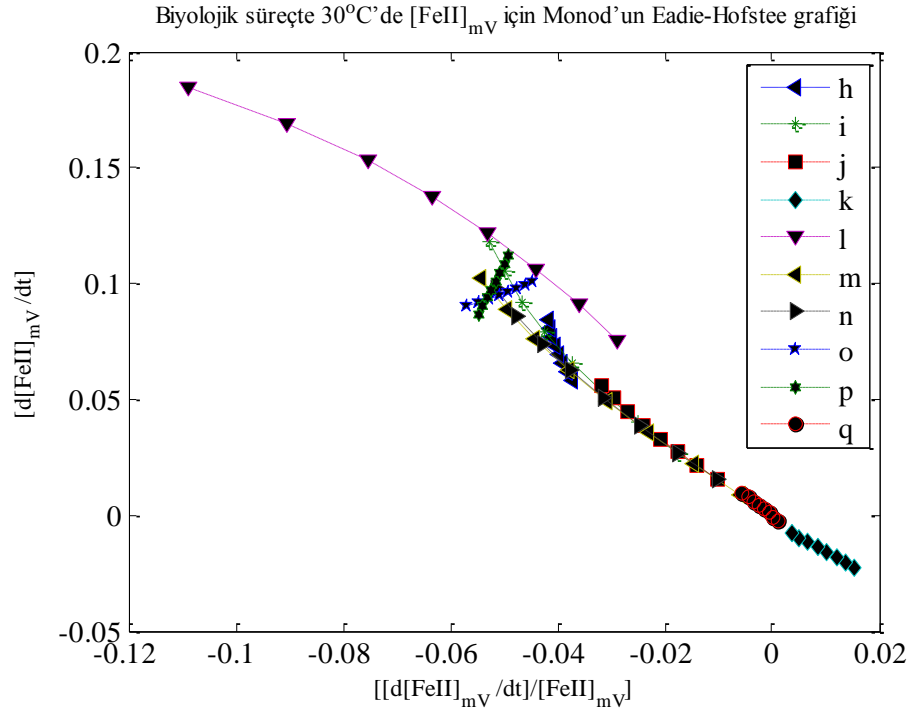
Daha önce yapılan çalışmalarda kükürt içeren minerallerin Michealis-Menten sabitlerini belirlemek amacıyla biyoliçing deneyleri yapılmış ve en yüksek çözünme oranı çinko için ($r_M=29,7 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$) ve kinetik sabit ($K_{MM}=36,7 \text{ grL}^{-1}$) bulunmuştur (Gomez *et al.* 1999). Bu değerler ile karşılaştırma yapıldığında, bu çalışmada bulunan Michealis-Menten sabitleri daha düşük bulunmuştur.

Monod modelinin uygulanması: Mikroorganizmalar için bir besin maddesi olan Fe(II)’nin tüketimi kinetiğinde düşük besin derişimleri için birinci mertbe ve aşırı doygun besin derişimleri için sıfıncı mertbe kinetik denklemleri kullanılmaktadır. Bu çalışmada; deney ortamında mV değışiminden elde edilen Fe(II) miktarının az olmasından dolayı tepkimelerin birinci mertbe olduğu kabul edilmiştir. Fe(II)’nin mikrobiyal ortamlarda oksitlenmesini içeren çalışmalarda besiyeri, pH ve sıcaklık sabit tutularak çeşitli çalışmalar yapılmış ve Monod kinetik sabitlerinin belirlenmesi için

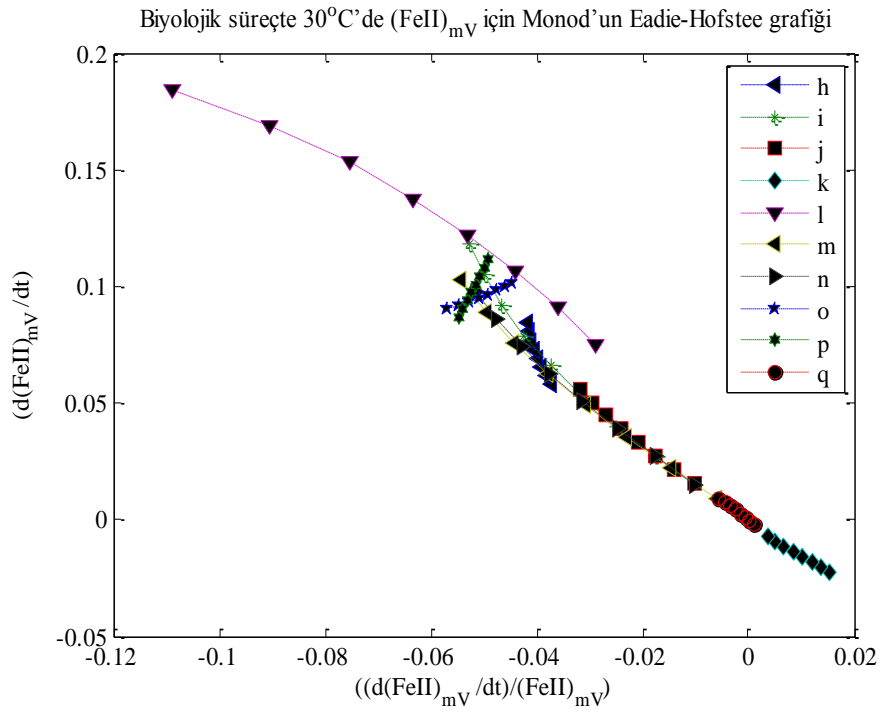
$\left(\frac{dC_{Fe^{+2}}}{dt} \right)$ türev değerleri ile polinoma uydurma metodu kullanılmıştır (Robinson 1985;

Zheng 1986; Chander and Bricefio 1987; Han and Levenspiel 1988; Panikov 1995; Tekin 2010).

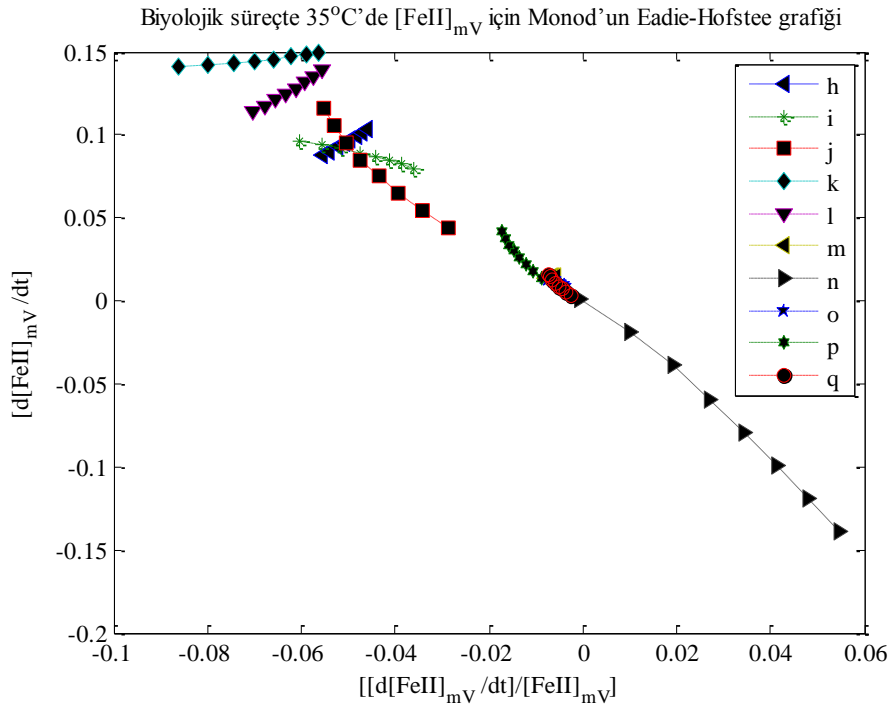
25, 30 ve 35°C’de yapılan biyodesülfürizasyon denemelerinde mV değerlerinden bulunan Fe(II) için Monod maksimum tepkime oranı (r_{Mmak}) ve sabiti (K_M) değerlerinin belirlenmesinde (2.43) eşitliğinde verilen Eadie-Hofstee grafik yönteminden yararlanılmış (Şekil 4.43-45) ve bu grafiklerden bulunan (r_{Mmak}) ve (K_M) değerleri Çizelge 4.58’de verilmiştir.



Şekil 4.43. Biyolojik süreçte 25°C'de $[\text{FeII}]_{\text{mV}}$ için Monod değişimi



Şekil 4.44. Biyolojik süreçte 30°C'de $[\text{FeII}]_{\text{mV}}$ için Monod değişimi



Şekil 4.45. Biyolojik süreçte 35°C'de $[\text{FeII}]_{\text{mV}}$ için Monod değişimi

Çizelge 4.57. $[\text{FeII}]_{\text{mV}}$ için $r_{M\text{mak}}$ ve K_M değerleri

	25°C		30°C		35°C	
	$r_{M\text{mak}}$	K_M	$r_{M\text{mak}}$	K_M	$r_{M\text{mak}}$	K_M
Su+Pirit Külü+S. cerevisiae	0,136	-7.234	0,084	-0.27	0,103	2.575
Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae	0,133	-3.8	0,118	-6.941	0,096	2.66
Su+Pirit Külü+A. aceti	0,255	9.444	0,056	-5.62	0,115	4.107
Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. Aceti	0,267	-14.05	-0,007	-0.493	0,149	2.66
Su+Pirit Külü+ Glikoz+A. aceti	0,126	-4.344	0,184	-6.344	0,138	2.505
Su+Pirit Külü+Alkol+A. aceti	0, 216	24.82	0,102	-20.4	0,140	25.68
Su+Pirit Külü+ Glikoz+ S. Cerevisiae + A. aceti	0,09	-2.571	0,097	-9.7	0,001	0.018
Su+Pirit Külü+Glikoz+Alkol+S. cerevisiae+A. aceti	0,004	0.255	0,101	-44.10	0,013	3.69
Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti	0,073	-2.703	0,111	-2.265	0,042	1.827
Su+Pirit Külü +Glikoz+ Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+ A. aceti	0,065	-2.5	0,009	10	0,016	3.83

Monod kinetik sabitlerinin (r_{Mmak}) en düşük değerleri 25°C’de ‘Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti’, 30°C’de ‘Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti’ ve 35°C’de ise ‘Su+Pirit Külü+ Glikoz+ S. Cerevisiae + A. aceti’ karışımlarını içeren deneylerde bulunmuştur. En yüksek (r_{Mmak}) değerleri ise 25°C’de ‘Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti’, 30°C’de ‘Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. Aceti’ ve 35°C’de ise ‘Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti’ karışımlarını içeren deneylerde bulunarak biyodesülfürizasyon çalışmasının en yüksek dönüşüm oranlarına ulaşılmıştır. En yüksek (r_{MMmak}) değerleri dikkate alınarak Monod kinetik modeli aşağıdaki eşitlikler ile ifade edilmiştir.

25°C’de ‘Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti’ karışımı için eşitlik:

$$r_M = \frac{0.267 [S]}{-14.05 + [S]} \quad (4.21)$$

30°C’de ‘Su+Pirit Külü+ Glikoz+A. aceti’ karışımı için eşitlik:

$$r_M = \frac{0.184 [S]}{-6,344 + [S]} \quad (4.22)$$

35°C’de ‘Su+Pirit Külü+Asetik Asit+A. aceti’ karışımı için eşitlik:

$$r_M = \frac{0.149 S}{2,66 + S} \quad (4.23)$$

‘Asetik Asit+A. aceti’ karışımları içeren deneylerde Monod maksimum dönüşüm oran sabitlerinin değerleri yüksek bulunmuştur. Bunun nedeni ise her üç sıcaklıkta ‘Asetik Asit+A. aceti’ karışımları içeren pirit külü sulu ortamında oluşan Fe(II) miktarının yüksek olmasından kaynaklanmaktadır (Jonglertjunya 2003).

Bu aralıklar ile bu çalışmalarda elde edilen sonuçlar karşılaştırıldığında r_{Mmak} değerlerinin aralık içerisinde kaldığı, K_M değerlerinin ise aralık dışına çıktığı gözlemlenmiştir. Oksijen limitasyonunun gerçekleştiği tahmin edilmiştir.

Elde edilen Monod sabitlerinin değerlerinin diğer yapılan çalışmalarda bulunan r_{Mmak} ve K_M değerleri ile karşılaştırıldığında daha düşük değerlerin bulunduğu ortaya çıkmıştır. Bu sonuçlar, kullanılan mikroorganizmaların demir oksitleyen mikroorganizma olmamasından, dolayısıyla biyolojik affinitelerinin az olmasından ve deney ortamına dışarıdan oksijen verilmemesi ve mikroorganizma parçalanmasını engellemek için karıştırma yapılmamasından kaynaklanmaktadır (Postma *et al.* 1989). Yapılan biyoliçing çalışmalarından, Fe(II)'nin bakteriyel oksidasyonu çalışmasında (Tekin 2010) Monod sabitleri ($r_M=2491,18 \text{ mgL}^{-1}\text{h}^{-1}$) ve kinetik sabit ($K_{MM}=1525 \text{ grL}^{-1}$) bulunmuştur.

4.9. Michaelis-Menten ve Monod Katsayılarına Bağlı Aktivasyon Enerjisinin Belirlenmesi

Sıcaklığın biyokimyasal ve biyolojik tepkimeler yanında mikrobiyal büyümeye etkisinin belirlenmesi amacıyla aktivasyon enjileri bulunmuştur.

Genelleştirilmiş aktivasyon enerjisi denklemini aşağıdaki gibi verilmiştir:

$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{R_g T}\right) \quad (4.24)$$

Denklem (4.24)'ün logaritması alındığında aşağıda verilen eşitlik elde edilir:

$$\log k = \log A + \left(-\frac{E_a}{R_g} \frac{1}{T}\right) \quad (4.25)$$

Biyodesülfürizasyon deneylerinde çözünen kükürdün aktivasyon enerjisini bulmak için Michaelis-Menten ve Monod eşitliklerinden elde edilen tepkime sabitlerinden yararlanılmıştır. Ortalama tepkime sabitlerinin logaritmaları ile sıcaklık değerleri (1/T) grafiğe geçirilerek eğim ve kaymalardan aktivasyon enerji değerleri hesaplanmıştır.

Michaelis-Menten katsayısına bağlı aktivasyon enerjisi: Michaelis-Menten katsayıları kullanılarak $\log(K_M)$ 'ya karşı 1/T aktivasyon enerjisi grafikleri çizilmiş ve doğrusal bulunan eğrilerden hesaplanan aktivasyon enerjileri ve Arrhenius sabitleri Çizelge 4.59'da verilmiştir.

Çizelge 4.58. Michaelis-Menten katsayısına bağlı aktivasyon enerjisi E_{aMM} (Jmol^{-1}) ve Arrhenius sabitleri A_{MM}

Biyolojik numune karışımları	E_{aMM} (Jmol^{-1})	A_{MM}
Su+Pirit Külü+S. cerevisiae	7.64	0.59
Su+Pirit Külü+ Glikoz+ S. Cerevisiae + A. aceti	7.15	0.18
Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti	3.32	0.30

Monod katsayısına bağlı aktivasyon enerjisi: Monod katsayısı kullanılarak $\log(K_M)$ 'ya karşı 1/T aktivasyon enerjisi grafikleri çizilmiştir. Lineer grafiklerden elde edilen aktivasyon enerjileri ve Arrhenius sabitleri Çizelge 4.60'da verilmiştir.

Çizelge 4.59. Monod katsayısına bağlı aktivasyon enerjisi E_{aMM} (Jmol^{-1}) ve Arrhenius sabitleri A_{MM}

Biyolojik numune karışımları	E_{aMM} (Jmol^{-1})	A_{MM}
Su+Pirit Külü+Glikoz+S. cerevisiae	4.57	0.54
Su+Pirit Külü+A. aceti	8.89	0.80
Su+Pirit Külü+ Glikoz+ S. Cerevisiae + A. aceti	47.88	0.83
Su+Pirit Külü+Alkol+Asetik Asit+S. cerevisiae+A. aceti	8.81	0.26

5. SONUÇ

Pirit külünde bulunan kükürt bileşenlerinin biyoliçing çeşitlerinden biri olan biyodesülfürizasyon yöntemi ile giderilmesi amacı ile yapılan bu çalışmada bakteri ve küf gibi birçok mikroorganizmanın ölmeyerek, pirit külü ortamında yaşadığı belirlenmiştir. Pirit külü biyodesülfürizasyon işlemlerinde, organik ve anorganik kükürt bileşiklerini metabolizmasında kullanabilme özelliğinden dolayı *S. cerevisiae* mikroorganizması seçilmiştir. Kükürdü besin maddesi olarak metabolizmasında kullanabilen *S. cerevisiae*'nin pirit külü minerallerinin yüzeyine tutunduğu görülürken *A. aceti*'nin ise çok az tutunduğu ortaya çıkmıştır. *S. cerevisiae* ve *A. aceti*'nin mineral yüzeyine tutunmasının metabolizmaya bağımlı olan biyosorplama işlemi olduğu kanısına varılmıştır. Buna bağlı olarak *S. cerevisiae*'nin mineral yüzeyine tutunmasında biyosorplama sabitlerinin hesaplanması yapılmıştır. *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmaları ile yapılan biyodesülfürizasyon süreçlerinde doğrudan, dolaylı ve ortaklaşa biyoliçing yöntemlerinin gerçekleştiği görülmüştür. Bu çalışmada biyodesülfürizasyon kinetiklerini etkileyen en önemli etken *S. cerevisiae* mikroorganizmasının aktivitesi ve sıcaklık olmuştur. *S. cerevisiae* bulunan deney ortamlarında; (Su+Pirit+Glikoz+S. *cerevisiae*+*A. aceti*), (Su+Pirit+Glikoz+Alkol+S. *cerevisiae*+*A. aceti*), (Su+Pirit+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+*A. aceti*) ve (Su+Pirit+Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+ *A. aceti*) sıcaklığın yükselmesine bağlı olarak %49,92 oranında kükürt çözünürlüğü elde edilmiştir. Çalışmalarda kullanılan pirit külünde toplam kükürt az olduğu için biyodesülfürizasyon deneylerinde kükürdün oksitlenmesinin ve ortama proton (H⁺) kazandırarak pH değişimine etkisinin az olduğu ortaya konmuştur. Sülfür bileşenlerinin pirit mineralinden kopararak oksitlenmesinin tiyosülfat ve sülfid bileşenlerinin sülfat'a sitokromlar aracılığı ile biyooksidasyonu ve (Fe⁺³) iyonları sayesinde oluştuğu tahmin edilmiştir. Fe(II)'nin Fe(III)'e biyooksitlenmesinin az gerçekleştiği gözlenen deneylerde, Fe(II)'nin Fe(III)'ü oksitlemesinde fazla etkili olmadığı EDTA damlatması ile yapılan Fe(III) miktarlarından anlaşılmış ve en yüksek Fe(III) dönüşümü biyolojik süreçte 30°C'de (q) Su+Pirit Külü+ Glikoz+Alkol+Asetik Asit+S. *cerevisiae*+ *A. aceti*) karışımında, %0,52 oranında bulunmuştur. Pirit külünde bulunan kükürdün *S. cerevisiae* tarafından

metabolizma yoluyla çözündürülmesi esnasında Fe(II)'nin de çözündüğü ve sıvı içerisinde çözünmüş olan oksijen ile birleşerek oksitlendiği ve Fe(III)'ü oluşturduğu varsayılmıştır. Bu deneylerde kullanılan *Acetobacter* türlerinin pirit külündeki demirin biyooksitlenmesinde doğrudan etkili olmadığı ortaya çıkmıştır. Pirit külünün biyooksitlenmesinde asidoliz ve redoksoliz biyokimyasal tepkimeleri gerçekleşmiştir. Pirit külü çözelti ortamının pH'sının 5-4 arasında azalmaya meyilli seyrettiği denemelerde pirit külünün nötralleştirme etkisinin bulunmasından kaynaklandığı kanaatine varılmıştır. Deneylerde ortalama en düşük pH 4,6 olarak bulunmuştur. Asetik asit gibi asidik karışımlara ve *A. aceti*'nin ortama proton (H^+) pompalaması beklentisine karşı pirit külünün pH'nın düşmesine direnç gösterdiği görülmüş ve bunun nedeni ise asetik asit metal kompleksleri oluşumuna bağlanmıştır. Ancak elde edilen pirit külü çözeltisinde ölçülen pH'lar *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının yaşaması için uygun bir ortam oluşturmuştur.

$[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının bir ifadesi olan redoks potansiyeli (mV)'nin pirit külü çözeltilerinin biyodesülfürizasyondeneyle süresince etkili değerlerde değişmediği belirlenmiştir. Deney çözeltilerinin ortalama en yüksek redoks potansiyeli (mV) 218 civarında yükselmeye yakın gerçekleşmiştir. Sıcaklığın yükselmesine paralel olarak pH değerlerinin çok az düştüğü ve redoks potansiyelinin ise çok az yükseldiği gözlenmiştir.

Biyodesülfürizasyon süresince çözünen Fe(III) değerlerinden, bağlı % kükürdün bulunması için Fe(II)'nin Fe(III)'e oksitlenmesi tepkimesinden yararlanılmıştır. Bu tepkimeye göre açığa çıkan oksitlenmiş kükürt olarak kabul edilen sülfat üzerinden işlemler yapılarak kuramsal % kükürt oranına geçilmiştir.

Pirit külünün biyoliçingi sürecinde 25, 30 ve 35°C sıcaklıklarda haftalık olarak yapılan ölçümlerde pH'nın azalarak 5-4 arası değiştiği belirlenmiştir. Deneysel pH ölçüm verilerinden elde edilen polinom grafik denklemlerinin türevleri kullanılarak lineerleştirmeler yapılmış ve pH değişimi incelenmiştir. Ayrıca pH verileri ile $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]$ oranının ilişkilendirilmesi gerçekleştirilerek var olan modeller üzerine uygulamalar yapılmıştır. pH verilerinden elde edilen $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]_{pH}$ oranları ile mV

verilerinden elde edilen $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]_{mV}$ oranlarının karşılaştırmaları yapılmış ve bulunan değerlerinin benzer olduğu ortaya çıkmıştır. $[Fe^{+3}/Fe^{+2}]_{pH}$ değerleri kullanılarak Fe(II) tüketim oranı ($q_{Fe^{+2}}$) ve (r_{FeS_2}) hesaplamaları yapılmıştır. En yüksek ($q_{Fe^{+2}}$) değeri biyolojik süreçte 30°C’de 0,4144 bulunurken, en yüksek (r_{FeS_2}) değeri biyolojik süreçte 35°C’de $1,8 \cdot 10^{-2}$ olarak hesaplanmıştır.

Michaelis-Menten ve Monod modelleri kullanılarak pirit oksitlenme oranı r_{FeS_2} ’nin Fe(II) ve Fe(III) ile ilişkilendirilmesi yapılmış ve grafikler ile gösterilmiştir. Stokiyometrik olarak her bir kmol Fe(II)’nin biyooksitlenmesi için gerekli biyokütle oluşumu kuramsal olarak hesaplanmıştır. $(Fe^{+2})_{pH}$ ’den bulunan kükürt için r_{MMmak} ve K_{MMm} değerleri 25, 30 ve 35°C’de benzer bulunmuş ve en yüksek r_{MMmak} ve K_{MMm} değerleri $r_{MMmak} = 4,74$ ve $K_{MMm} = 37,83$ olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre $(Fe^{+2})_{pH}$ ’den bulunan kükürt için deney ortamı ve parametreler üzerinde bazı kabullerin yapılmasına rağmen uygulanan Michaelis-Menten modelinde değişimin çok az olduğu ortaya çıkmıştır. Bununla birlikte, bu çalışmada mV değişiminden bulunan Fe(II) için belirlenen Monod kinetik sabitlerien yüksek r_{Mmak} ve K_{Mm} değerleri $r_{Mmak} = 0,26$ ve $K_{Mm} = 25,68$ olarak bulunmuştur. r_{Mmak} ve K_{Mm} değerleri Monod kinetik modelinin biyodesülfürizasyon işlemlerine uyduğunu ve *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmalarının biyodesülfürizasyon işlemlerinde kullanımının iyi bir seçenek olabileceği sonucunu ortaya koymuştur. *S. cerevisiae* ve *A. aceti* mikroorganizmaları ve seçilmiş biyokimyasalların kullanımı ile yapılan biyodesülfürizasyon çalışmalarında ortaya çıkan sonuç, pirit külünde bulunan sülfürün ileri çalışmalar yapılarak daha yüksek oranda giderebileceğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Acree, T.E., Sonoff, E.P. and Splittstoesser, D.F., 1972. Effect of yeast strain and type of sulphur compound on hydrogen sulphide production. *American Journal of Enology and Viticulture*, 23, 6–9.
- Ahonen, L. and Tuovinen, O.H., 1989. Microbiological oxidation of ferrous iron at low Temperatures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 55, 312–316.
- Akçıl, A., 2004. Potential bioleaching developments towards commercial reality: Turkish metal mining's future. *Minerals Engineering*, 17, 477–480.
- Alexander, M., 1999. *Biodegradation and bioremediation*. 2nd Ed., Academic Press, New York, USA.
- Almeida, C.M.V.B. and Giannetti, B.F., 2002. Comparative study of electrochemical and thermal oxidation of pyrite. *J. Solid State Electrochem.*, 6, 111–118.
- Arlorio, M., Coisson, J.D. and Martelli A., 1999. Identification of *Saccharomyces cerevisiae* in bakery products by PCR amplification of the ITS region of ribosomal DNA. *Eur. Food Res. Technol.*, 209, 185–191.
- Asai, S., Konishi, Y. and Yoshida, K., 1992. Kinetic model of batch bacterial dissolution of pyrite particles by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Chemical Engineering Science*, 47, 1, 133–139.
- Barnett, J.A., Payne, R.W. and Yarrow, D., 2000. *Yeasts: Characteristics and Identification* (3rd Ed). Cambridge: Cambridge University Press.
- Beyer, M., Ebner, H.G. and Klein, J., 1986. Bacterial desulfurization of German hard coal. In: Lawrence, R.W., Branion, R.M.R., Ebner, H.G. (eds), *Fundamental and Applied Biohydrometallurgy*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands.
- Bhattacharya, D., Hsieh, M., Francis, H., Kermode, R.I., Khalid, A.M. and Aleem, H.M.I., 1990. Biological desulfurization of coal by mesophilic and thermophilic microorganisms. *Res. Cons. Recycl.*, 3, 81–96.
- Biegler, T. and Horne, M.D., 1985. The electrochemistry of chalcopyrite. *Journal of Electrochemical Society*, 132, 1363–1369.
- Bird R.B., Stewart W.E. and Lightfoot E.N., 1960. *Transport Phenomena*. John Wiley and Sons, Inc. NY, USA.
- Blake R.C., Shute E.A., Greenwood M.M., Spencer G.H. and Ingledew W.J., 1993. Enzymes of aerobic respiration on iron. *FEMS Microbiol. Rev.*, 11, 9–18.
- Bohinski, R.C., 1970. *Modern Concepts in Biochemistry*. Allyn and Bacon Inc., Boston, MA, USA.
- Boon, M. and Heijnen J. J., 1997. Chemical oxidaton kinetics of pyrite in bioleaching Processes. *Hydrometallurgy*, 48, 1997, 27-41.
- Boon, M. and Heijnen, J. J., 2007, Solid–liquid mass transfer limitation of ferrous iron in the chemical oxidation of FeS₂ at high redox potential. *Hydrometallurgy*, 62, 57–66.
- Boon, M., 1996. Theoretical and experimental methods in the modelling of bio-oxidation kinetics of sulphide minerals. Ph.D. thesis, T.U. Delft, Netherlands, I.S.B.N. 90-9009825-9, 153–196.
- Borse, G.J., 1996. *Numerical Methods with MATLAB: A Resource for Scientists and Engineers*, 1st Ed. International Thomson Publishing.

- Borulu, N., 2009. Pirit küllerinden yüksek fırına malzeme hazırlanması. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
- Bosecker, K., 1997. Bioleaching: Metal solubilization by microorganisms. *FEMS Microbiol. Rev.*, 20, 591–604.
- Brandl, H., 2001. Microbial leaching of metals. In: Rehm H.J. (ed.) *Biotechnology*, 10, 191-224. Wiley-V.C.H., Weinheim, Germany.
- Breton, A. and Surdin–Kerjan, Y., 1977. Sulfate uptake in *Saccharomyces cerevisiae*: biochemical and genetic study. *J. Bacteriol.*, 132, 1, 224–232.
- Brierley, C.L., 1982. *Microbial Mining. Sci. Amer.*, 247, 42–51.
- Briggs, G.E. and Haldane, J.B.S., 1925. A note on the kinetics of enzyme action. *Biochem. J.*, 19, 338–339.
- Brito, A.G. and Melo, L.F., 1999. Mass transfer coefficients within anaerobic biofilms: Effects of external liquid velocity. *Wat. Res.*, 17, 3673–3678.
- Brosnan, J.T. and Brosnan, M.E., 2006. The sulfur–containing amino acids: an overview. *J. Nutr.*, 136, 1636S–1640S.
- Brown, A.D. and Jurinak, J.J., 1989. Mechanisms of pyrite oxidation in aqueous mixtures. *J. Environ. Qual.* 18, 545–550.
- Bruynesteyn, A. and Duncan, D.W., 1971. Microbiological leaching of sulfide concentrates. *Can. Met. Quart.*, 10, 57-63.
- Burgstaller, W. and Schinner, F., 1993. Leaching of metals with fungi. *J. Biotechnol.*, 27, 91–116.
- Cabral T. and Ignatiadis, I., 1999. Mechanistic study of the pyrite–solution interface during the oxidative bacterial dissolution of pyrite (FeS₂) by using electrochemical techniques. In: *Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium I.B.S.'99*. Elsevier, Amsterdam, 357–366.
- Carberry, J.J., 1976. *Chemical and Catalytic Reaction Engineering*. Mc–Graw Hill Book Co., N.Y.
- Carr, J.G., 1968. Methods for identifying acetic acid bacteria; in 14. Gibbs BM, Shapton DA, (eds): *Identification Methods for Microbiologists*. Academic Press, London, England. pp 1–8.
- Caşcaval, D., Galaction A.I. and Rotaru, R., 2011. Effect of glucose internal diffusion on alcoholic fermentation in a stationary basket bioreactor with immobilized yeast cells. *Romanian Biotechnological Letters*. 16, 3, 6200–6208.
- Chander, S. and Bricefio, A., 1987. Kinetics of pyrite oxidation. *Min. and Met. Prec.*, 171.
- Charles, A.M. and Suzuki I., 1966. Purification and properties of sulfite: cytochrome c oxidoreductase from *T. novellus*. *Biochim. Biophys. Acta*, 128, 522-34.
- Chen, S.Y. and Lin, J.G., 2000. Influence of solid content on bioleaching of heavy metals from contaminated sediment by *Thiobacillus* spp. *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 75, 649-656.
- Cherest, H., Thomas, D. and Surdin–Kerjan, Y., 1993. Cysteine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae* occurs through the transsulfuration pathway which has been built up by enzyme recruitment. *J. Bacteriol.*, 175, 17, 5366–5374.
- Chiao, J.S. and Peterson, W.H., 1953. Yeasts: Methionine and cystine contents. *Agricultural and Food Chemistry*. 1, 16, 1005–1008.
- Conner, B.D., 2005. Bioleaching and electrobioleaching of sulfide minerals. M.S. thesis, W.V.U., Morgantown, WV, USA.

- Corstjens, P.L., de Vrind, J.P., Westbroek, P. and de Vrind-de Jong, E.W., 1992. Enzymatic iron oxidation by *Leptothrixdiscophora*: identification of an iron-oxidizing protein. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 450-454.
- Corvest, V., Murrey D.A., Bernard D.G., Knaff D.B., Guiard B., and Hamel P.P., 2010. c –Type cytochrome assembly in *Saccharomyces cerevisiae*: A key residue for apocytochrome c1/Lyase interaction. *Genetics*. 186, 561–571.
- Coulson, J.M., Richardson, J.F., Backhurst, J.R., and Harker, J.H., 1987. *Chemical Engineering, Unit Operation* (3rd ed.), 717-718. Pergamon Press Ltd. England.
- Counotte, G.H.M. and Prins, R.A., 1979. Calculation of Km and Vmax from substrate concentration versus time plot. *Appl. Environ. Microbiol.*, 38,758–760.
- Crank, J., 1983. *The Mathematics of Diffusion*. Clarendon Press, Oxford, England.
- Croal, L.R., Galnick, J.A., Malasarn, D., and Newman, D.K., 2004. The genetics of geochemistry. *Annu. Rev. Genet.*, 38, 175–202.
- Crundwell, F., 1996. The formation of biofilms of iron-oxidising bacteria on pyrite. *Miner. Eng.*, 9, 1081–1089.
- Das, T., Ayyappan, S. and Chaudhuryde G.R., 1999. Factors affecting bioleaching kinetics of sulfide ores using acidophilic microorganisms. *BioMetals*, 12, 1–10.
- Dastidar, M.G., Malik, A. and Roychoudhury, P.K., 2000. Biodesulphurization of Indian (Assam) coal using *Thiobacillus ferrooxidans* (ATCC 13984). *Energy Conversion and Management*, 41, 375–388.
- De Mora, S.J., Eschenbruch, R., Knowless, S.J. and Spedding, D.J., 1986. The formation of dimethyl sulphide during fermentation using a wine yeast. *Food Microbiology*, 3, 27–32.
- Dickinson, D.A. and Forman, H.J., 2002. Cellular glutathione and thiols metabolism. *Biochem. Pharmacol.*, 64,1019–1026.
- Donati, E.R., Sand, W., 2007. *Microbial processing of metal sulfides*. Springer, N. Y.
- Dowd, J.E. and Riggs, D.S., 1965. A comparison of estimates of Michaelis–Menten kinetic constants from various linear transformations. *J. Biol. Chem.*, 240,863–869.
- DPT, 1994. Sekizinci Beş Yıllık Kalkınma Planı, Metal Madenler Özel İhtisas Komisyonu Bakır ve Pirit Madenciligi Raporu. Ankara, Türkiye.
- Duncan, W.S. and Derek, J.J., 1996. Glutathione is an important molecule in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Letters*, 141, 207–212.
- Dutrizac, J. E. and MacDonald. R.J.C., 1974. Ferric ion as a leaching medium. *Miner. Sci. Eng.*, 6, 59–100.
- Edwards, K.J., Schrenk, M.O., Hamers, R.J. and Banfield, J.F., 1998. Microbial oxidation of pyrite: experiments using microorganisms from an extreme acidic environment. *Am. Miner.*, 83,1444–1453.
- Edwards, V.H., 1970. The influence of high substrate concentrationson microbial kinetics, *Biotechnol. Bioeng.*, 12, 679–712.
- Ehrlich, H.L., 1996. Microbes and metals. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 48, 687–692.
- Elskens, M.T., Jaspers, C.J. and Penninckx, M.J., 1991. Glutathione as an endogenous sulphur source in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *J. of General Microbiology*, 137, 637–644.
- Eschenbruch, R., 1974. Sulfite and sulfide formation during winemaking – A review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25, 157–161.

- Feng, L., Wang, B., Driscoll, B. and Jong, A., 2000. Identification and Characterization of *Saccharomyces cerevisiae* Cdc6 DNA-binding Properties. *Molecular Biology of the Cell*, 11, 1673–1685.
- Fleet, G.H. and Heard, G., 1993. Yeast growth during fermentation. In G. H. Fleet (Eds), *Wine Microbiology and Biotechnology* (pp. 27–54). Chur: Harwood Academic Publishers.
- Fogler, H.S., 2006. *Elements of Chemical Reaction Engineering*, 4th ed. Upper Saddle River, N.J., Prentice–Hall P.T.R., 396–407.
- Fourest, E., Canal, C. and Roux, J.C., 1994. Improvement of heavy metal biosorption by mycelial dead biomass (*Rhizopus arrizus*, *Mucormiehei* and *Penicillium chrysogenum*): pH control and anion activation. *FEMS Microbiol. Rev.*, 14, 325–332.
- Fukui S. and Tanaka A., 1982. Immobilized microbial cells. *Ann. Rev. Microbiol.*, 36, 145–72.
- Gadd, G.M., 1993. Interactions of fungi with toxic metals. *New Phytol.*, 124, 25–60.
- Gancedo, C. and Serrano, R., 1989. Energy-yielding metabolism. In: Rose, A.H. & Harrison, J.S. (eds). *The yeasts* (2nd ed.), vol 3: Metabolism and physiology of yeasts, Academic Press, New York, pp.205–259.
- Gaylarde, C.C. and Videla, H.A., 1995. *Bioextraction and biodeterioration of metals*. Cambridge University Press, N.Y.
- Geankoplis, C.J., 1993. *Transport Processes and Unit Operations*. Prentice-Hall. N.J. (4. Baskıdan Çeviri: Yapıcı S., 2011. *Taşınma süreçleri ve Ayırma Süreci İlkeleri*, Güven Kitabevi, İzmir).
- Gelling, C.L., 2008. Tetrahydrofolate and iron-sulfur metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. PhD Thesis. University of South Wales.
- Gomez, C., Blázquez, M.L., Ballester, A., 1999. Bioleaching of a Spanish complex sulphide ore bulk concentrate. *Minerals Engineering*, 12(1), 93-106.
- Gomez, J. M., Cantero, D., and Webb, C., 2000. Immobilization of *Thiobacillus ferrooxidans* cells on nickel alloy fibre for ferrous sulfate oxidation. *Appl. Microb. Biotechnol.*, 54, 335-340.
- González, A., Hierro, N., Poblet, M., Mas, A. and Guillamón, J.M., 2006. Enumeration and detection of acetic acid bacteria by real-time PCR and nested PCR. *FEMS Microbiol. Lett.*, 254, 123–128.
- Gonzalez, R., Gentina, J.C. and Acevedo, F., 1999. Attachment behaviour of *Thiobacillus ferrooxidans* cells to refractory gold concentrate particles. *Biotechnology Letters*, 21, 715–718.
- Groudev, S.N., 1999. Biobeneficiation of mineral raw materials. *Miner. Metall. Process*, 16, 19–28.
- Gullo, M., Caggia, C., De Vero, L. and Giudici, P., 2006. Characterization of acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar. *I. J. Food Microb.*, 106, 209–212.
- Hammes, G.G., 2000. *Thermodynamics and Kinetics for the Biological Sciences*, Wiley Interscience, New York.
- Han, K. and Levenspiel, O., 1988. Extended Monod kinetics for substrate, product, and cell inhibition. *Biotechnol. Bioeng.*, 32, 430–7.
- Hatzikioseyan, A. and Tsezos, M., 2006. Modelling of microbial metabolism stoichiometry: Application in bioleaching processes. *Hydromet.*, 83, 29–34.

- Heard, G. and Fleet, G., 1988. The effects of temperature and pH on the growth of yeast species during the fermentation of grape juice. *J. Appl. Bact.*, 65, 23–28.
- Henschke, P.A. and Jiranek, V., 1991. Hydrogen sulfide formation during fermentation: effect of nitrogen composition in model grape must. In: Rantz, J.M. (ed). *Proc. Int. Symposium on Nitrogen in Grapes and Wines*. Am. Soc. Enol. Vitic., Davis, CA. 172–184.
- Hinze, H. and Holzer, H., 1986. Analysis of the energy metabolism after incubation of *S. cerevisiae* with sulphite or nitrite. *Arch. Microbiol.*, 145, 27–31.
- Holmes, P.R., and Crundwell, F.K., 2000. The kinetics of the oxidation of pyrite by ferric ions and dissolved oxygen: An electrochemical study. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 64, 263–274.
- Holzberg, I., Finn, R.K. and Steinkraus, K.H., 1967. A kinetic study of the alcoholic fermentation of grape juice. *Biotechnol. Bioeng.*, 9, 413–27.
- Hu, B., McGuire, M.M., Hamers, R.J., Pace, N.R. and Banfield, J.F., 1999. Geomicrobiology of pyrite (FeS_2) dissolution: case study at Iron Mountain, California. *Geomicrobiology Journal.*, 16, 197–206.
- Ikeda, T. and Kano, K., 2001. An electrochemical approach to the studies of biological redox reactions and their applications to biosensors, bioreactors, and biofuel cells. *J. Biosci. Bioeng.* 92, 1, 9–18.
- Jenson, V.G. and Jeffreys, G.V., 1963. *Mathematical Methods in Chemical Engineering*. Academic Press. New York.
- Jiranek, V., Langridge, P. and Henschke, P.A., 1995. Regulation of hydrogen sulfide liberation in wine-producing *Saccharomyces cerevisiae* strains by assimilable nitrogen. *Journal of Applied and Environmental Microbiology*, 61, 461–467.
- Johnson, D., Dean, D.R., Smith, A.D., Johnson, M.K., 2005. Structure, function and formation of biological iron–sulfur clusters. *A. Rev. Biochem.*, 74, 247–281.
- Jonglertjunya, W., 2003. Bioleaching of chalcopyrite. PhD Thesis. Department of Chemical Engineering, School of Engineering, The University of Birmingham.
- Karthikeyan, R., Kumar, S. K., Murugesan, M., Berchmans, S. and Yegnaraman, V., 2009. Bioelectrocatalysis of *Acetobacter aceti* and *Gluconobacter roseus* for current generation. *Environ. Sci. Technol.*, 43(22), 8684–8689.
- Kawatra S.K. and Eisele. T.C., 1999. Depression of pyrite flotation by yeast and bacteria. *Minerals and Metallurgical Processing*, 16, 4.
- Kellogg, W.W., Cadle, R.D., Allen, E.R., Lazrus, A.L. and Martell, E.A., 1972. The sulfur cycle. *Science*, 175, 4022, 587–596.
- Kocadağistan, E., 2007. Çayeli yöresi bakır cevherlerinin biyoliçi. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
- Koch, A. L., 1998. The Monod model and its alternatives. In “Mathematical Modeling in Microbial Ecology” (ed. A.L. Koch, J.A. Robinson, and G.A. Milliken). Chapman & Hall, London.
- Konishi, Y., Asai, S., 1998. Bioleaching of sulfide mineral in stirred tank reactors operated in a variety of modes. *Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review*, 19, 1, 129-140.
- Kreft, J.U., Picioreanu, C., Wimpenny, J.W. and van Loosdrecht, M.C., 2001. Individual-based modelling of biofilms. *Microbiology*, 147, 2897–2912.

- Krisch, J. and Szajáni, B., 1997. Ethanol and acetic acid tolerance in free and immobilized cells of *Saccharomyces cerevisiae* and *Acetobacter aceti*. *Biotech. Letters*. 19 (6), 525–528.
- Kuenen, J.G., Pronk, J.T., Hazen, W., Meulenber, R. and Bas. P., 1993. A review of Bioenergetics and enzymology of sulfur compound oxidation by acidophilic Thiobacilli. *Biohydromet. Tech. Proc., Int. Biohydrometall. Symp.* 2, 287–94.
- Kuşlu, S., Calban, T. and Colak, S., 2010. Evaluation of leaching conditions for dissolution of pyrite in chlorine-saturated water. *Chemical Engineering Communications*. 198, 504-515.
- Laca, A., Quirh, C., Garcia, L.A. and Diaz, M., 1998. Modelling and description of internal profiles in immobilized cells systems. *Biochemical Engineering Journal*. 1, 225–232.
- Lale, M., Şahin, N. and Temoçin, Z., 2005. Fe⁺² iyonlarının *Saccharomyces cerevisiae* immobilize edilmiş ponza taşı ile adsorpsiyonu. *G.Ü. Fen Bilimleri Dergisi*, 18/3, 365–373.
- Linderholm, A.L., Findleton, C.L., Kumar, G., Hong, Y. and Bisson, L.F., 2008. Identification of genes affecting hydrogen sulfide formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 1418–1427.
- Lineweaver, H. and Burk, D., 1934. Determination of enzyme dissociation constants. *J. Am. Chem. Soc.*, 56, 658–666.
- Lipman, J.G., 1923. Recent investigations on the oxidation of sulfur by microorganisms. *Jour. Indus. Engin. Chem.*, 15, 404–405.
- Liu, Y., 2006. A simple thermodynamic approach for derivation of a general Monod equation for microbial growth. *Biochemical Engineering Journal*, 31,102–105.
- Liu, Y., 2007. Overview of some theoretical approaches for derivation of the Monod equation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 73, 1241–1250.
- Liu, Y.Q., Liu, Y. and Tay, J.H., 2005. Relationship between size and mass transfer resistance in aerobic granules. *Letters in Applied Microbiology*, 40, 312–315.
- López del Castillo–Lozano, M., Delile, A., Spinnler, H.E., Bonnarne, P. and Landaud, S., 2007. Comparison of volatile sulphur compound production by cheese-ripening yeasts from methionine and methionine–cysteine mixtures. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75,1447–1454.
- Ma, S. and Banfield J.F., 2011. Micron–scale Fe⁺²/Fe⁺³, intermediate sulfur species and O₂ gradients across the biofilm–solution–sediment interface control biofilm organization. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 75, 3568–3580
- Madden, D., 2007. Immobilised yeast: Immobilisation of yeast in calcium alginate beads. NCBE, University of Reading, UK.
- Malik, A., Dastidar, M.G., and Roychoudhury, P.K., 2001. Biodesulphurization of coal: effect of pulse feeding and leachate recycle. *Enzyme and Microbial Technology*. 28, 49–56.
- Mandl, M., Zeman, J., Bartáková, I. and Veselá, H., 1999. Pyrite biooxidation: Electrochemical and kinetic data, In: *Proceedings of the International Biohydrometallurgy Symposium IBS'99*. Elsevier, Amsterdam, 423–429.
- Martorell, P., Querol, A., and Fernandez–Espinar M.T., 2005. Rapid identification and enumeration of *Saccharomyces cerevisiae* cells in wine by real–time PCR. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 11, 6823–6830.

- Masselot, M. and De Robichon–Szulmajster, H., 1975. Methionine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*. I. Genetical analysis of auxotrophic mutants. *Mol. Gen. Genet.*, 139, 2, 121–132.
- Maw, G.A., 1955. The uptake of some sulphur-containing amino acids by a brewer's yeast. *J. Gen. Microbiol.*, 31, 247–259.
- Maw, G.A., 1986. Sulfur utilization by yeast. *Pure and Applied Chemistry*, 7, 655–668.
- May, N., Ralph, D.E. and Hansford, G.S., 1997. Dynamic redox potential measurement for determining the ferric leach kinetics of pyrite. *Miner. Eng.*, 10, 1279–1290.
- McGee, R.D., Drake J.F., Fredrickson, A.G. and Tsuchiya, H.M., 1972. Studies in intermicrobial symbiosis, *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus casei*. *Can. J. Microbiol.*, 18, 1733–1742.
- Mendes–Ferreira, A., Barbosa, C., Falco, V., Leão, C. and Mendes–Faia, A., 2009. The production of hydrogen sulphide and other aroma compounds by wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* in synthetic media with different nitrogen concentrations. *Journal of Ind. Microbiology & Biotechnology*, 36, 4, 571–583.
- Michaelis, M. and Menten., M.L., 1913. Kinetics of invertase action. *Z. Biochem.*, 49, 333–369.
- Miyake, T., Sammoto, H., Kanayama M. Tomochika, K., Shinoda S. and Ono, B., 1999. Role of the sulphate assimilation pathway in utilization of glutathione as a sulphur source by *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 15, 1449–1457.
- Monod, J., 1949. The growth of bacterial cultures. *Annu. Rev. Microbiol.*, 3, 371–394.
- Mortimer, R.K., Contopoulou, C.R. and King, J.S., 1992. Genetic and physical maps of *Saccharomyces cerevisiae*. Edition 11., *Yeast*. 10, 817–902.
- Nemati, M., Harrison, S.T.L., Hansford, G.S. and Webb, C., 1998. Biological oxidation of ferrous sulphate by *Thiobacillus ferrooxidans*: A review on the kinetic aspects. *Biochemical Engineering Journal*, 1, 171–190.
- Olivera–Nappa, A., Picioreanu, C. and Asenjo, J.A., 2010. Non–homogeneous biofilm modeling applied to bioleaching processes. *Biotechnology and Bioengineering*, 106, 660–676.
- Olsson, G., Larsson, L. and Holst, O., 1993. Kinetics of coal desulfurization by *Acidianus brierleyi*. *Chem. Eng. Technol.*, 16, 180–185.
- Ono, B.I., Hazu, T., Yoshida, S., Kawato, T., Shinoda, S., Brzvwczy, J. and Paszewski A., 1999. Cysteine biosynthesis in *Saccharomyces cerevisiae*: A new outlook on pathway and regulation. *Yeast*, 15, 1365–1375.
- Pagella, C., Silvestri, P. and De Faveri, D.M., 1996. Hydrogen sulfide removal with a biochemical process: the biological step. *Chem. Biochem. Eng.*, 10, 165–174.
- Park, H. and Bakalinsky, A.T., 2000. SSU1 mediates sulphite efflux in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 16, 881–888.
- Panikov, N.S., 1995. *Microbial growth kinetics*. Chapman & Hall, New York, N.Y.
- Pekin, B., 1983. *Biyokimya mühendisliği: Biyoteknoloji*. Ege Üniversitesi Kimya Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Penninckx, M.J., 2002. An overview on glutathione in *Saccharomyces* versus non–conventional yeasts. *FEMS Yeast Research*, 2, 295–305.
- Pesic, B., and Kim, I., 1993. Electrochemistry of *Thiobacillus ferrooxidans* interactions with Pyrite. *Metallurgical Transactions*, 24B, 717–727.

- Picioreanu, C., Kreft, J.U. and Van Loosdrecht, M.C., 2004. Particle-based multidimensional multispecies biofilm model. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 3024–3040.
- Pilkington, B.J. and Rose, A.H., 1988. Reactions of *Saccharomyces cerevisiae* and *Zygosaccharomyces bailii* to sulphite. *J. Gen. Microbiol.*, 134, 10, 2823–2830.
- Piotrowska, M. and Paszewski A., 1990. A yeast with unusual sulphur amino acid metabolism. *Journal of General Microbiology*, 136, 2283–2286.
- Porro, S., Ramírez, S., Reche, C., Curutchet, G., Alonso–Romanowski, S. and Donati, E., 1997. Bacterial attachment: its role in bioleaching processes. *Process Biochemistry*, 32, 7, 573–578.
- Postma, E., Scheffers, W.A. and Van Dijken, J.P., 1989. Kinetics of growth and glucose transport in glucose-limited chemostat cultures of *Saccharomyces cerevisiae* cbs 8066. *Yeast*, 5, 159–165.
- Rauhut, D., 1993. Yeasts–production of sulfur compounds. In G. H. Fleet (Ed.), *Wine Microbiology and Biotechnology* (pp. 183–223). Chur, Switzerland: Harwood Academic Publishers.
- Rawlings, D. E., and Silver, S., 1995. Mining with microbes. *Bio/Tech.*, 13, 773–778.
- Robinson, J.A., 1985. Determining microbial kinetic parameters using nonlinear regression analysis. *Adv. Microb. Ecol.*, 8, 61–114.
- Rodriguez, Y., Ballester, A., Blazquez, M.L., Gonzalez, F. and Munoz, J.A., 2003. Study of Bacterial Attachment During the Bioleaching of Pyrite, Chalcopyrite, and Sphalerite. *Geomicrobiology Journal*, 20, 131–141.
- Rojas–Chapana, J.A., Giersig, M. and Tributsch, H., 1996. The path of sulfur during the bio-oxidation of pyrite by *Thiobacillus ferrooxidans*. *Fuel*, 75, 923–930.
- Roman, R.J., Brenner, B.R. and Becker, G.W. 1974. Diffusion Model for Heap Leaching and its application to Scale-up, *Trans. AIME*, 256.
- Sand, W., Gehrke, T., Hallmann, R. and Schippers, A., 1995. Sulfur chemistry, biofilm and the (in) direct attack mechanism—A critical-evaluation of bacterial leaching. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 43, 961–966.
- Sand, W., Gehrke, T., Jozsa, P.G. and Schippers, A., 2001. Biochemistry of bacterial Leaching—Direct vs. indirect bioleaching. *Hydrometallurgy*, 59, 159–75.
- Sandler, S.I., 1999. *Chemical and engineering thermodynamics*, 3rd ed. Wiley, N. Y.
- Schippers, A., Jozsa, P.G. and Sand, W., 1996. Sulfur chemistry in bacterial leaching of pyrite. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 3424–3431.
- Schippers, A. and Sand, W., 1999. Bacterial leaching of metal sulfides proceeds by two indirect mechanisms via thiosulfate or via polysulfides and sulfur. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 319–321.
- Schippers, A., 2003. Anaerobic iron sulfates oxidation. 15th International Biohydrometallurgy Symposium, Athens, Greece.
- Schütz, M. and Kunkee, R.E., 1977. Formation of hydrogen sulfide from elemental sulfur during fermentation by wine yeast. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 137–144.
- Sevella, B. and Bertalan, G., 2000. Development of a MATLAB based bioprocess simulation tool. *Bioprocess Engineering*, 23, 621–626.
- Shapiro, K.S., Almenas, A. and Thomson, J.F., 1965. Biosynthesis of methionine in *Saccharomyces cerevisiae*. *The Journal of Biological Chem.*, 240, 6, 297–303.

- Shonnard, D.R. and Bell, R.L., 1989. Diffusion experiments in soils and their implications on modeling transport, in *Pollutants in a Multimedia Environment*. ed. Y. Cohen et al., Plenum Press, New York.
- Shuler, M. and Kargi, F., 2002. *Bioprocess Engineering: Basic Concepts*, Prentice Hall, N.J.
- Siezen, R. J. and Greer, W., 2009. Bioleaching genomics. *Microbial Biotechnology*, 2, 3, 297–303.
- Silverman, M.P., 1967. Mechanism of bacterial pyrite oxidation. *J. Bacteriol.*, 94, 1046–1051.
- Sinclair C.G. and Kristiansen, B., 1987. Mathematical models In fermentation kinetics and modelling, edited by J. D. Bu'Lock, Open University Press, USA.
- Snoep, J.L., Mrwebi, M., Schuurmans, J.M., Rohwer, J.M. and Teixeira de Mattos, M.J., 2009. Control of specific growth rate in *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology*, 155, 1699–1707.
- Spiropoulos, A. and Bisson, L.F., 2000. MET17 and hydrogen sulfide formation in *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiology*, 66, 4421–4426.
- Spiropoulos, A., Tanaka, J., Flerianos, I. and Bisson, L.F., 2000. Characterization of hydrogen sulfide formation in commercial and natural wine isolates of *Saccharomyces*. *American Journal of Enology and Viticulture*, 51, 233–247.
- Strehaiano, P., Ramon-Portugal, F. and Taillandier, P., 2006. Yeasts as biocatalysts. In A. Querol & G. H. Fleet (Eds.), *The Yeast Handbook: Yeasts in Food and Beverages*, 243–284. Heidelberg, Springer.
- Stuedel, R., 1996. Mechanism for the formation of elemental sulfur from aqueous sulfide in chemical and microbiological desulfurization processes. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 35, 1417–1423.
- Surdin-Kerjan, Y., 2003. Foreword (I): Sulphur metabolism. In J-C, Davidian, D, Grill, L.J. De Kok, I. Stulen I, M.J. Hawkesford, E. Schnug, & H. Rennenberg (Eds.), *Sulfur Transport and Assimilation in Plants: Regulation, Interaction and Signaling* (pp. xiii–xviii). Leiden, The Netherlands: Backhuys Publishers.
- Suzuki, I., 1994. Sulfite: cytochrome c oxidoreductase. *Meth. Enzymol.*, 243, 447–54.
- Swiegers, J.H., Capone, D.L., Pardon, K.H., Else, G.M., Sefton, M.A., Francis, I.L. and Pretorius, I.S., 2007. Engineering volatile thiol release in *Saccharomyces cerevisiae* for improved wine aroma. *Yeast*, 24, 561–574.
- Tekin, D., 2010. Çayeli yöresi bakır cevherlerinin biyoliçi. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, Türkiye.
- Tekin, T., Tekin, D. and Bayramoğlu M., 2001. Effect of ultrasound on the dissolution kinetics of phosphate rock in HNO₃. *Ultrasonics Sonochemistry*, 8, 4, 373–377.
- Telefoncu, A., 1995. *Biyoteknoloji*. Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Yayınları, Bornova, İzmir, Türkiye.
- Thomas, C.S., Boulton, R.B., Silacci, M.W. and Gubler, W.D., 1993. The effect of elemental sulfur, yeast strain and fermentation medium on hydrogen sulfide production during fermentation. *American J. of Enol. and Viti.*, 44, 211–216.
- Torma, A.E., 1988. Kinetics of biodesulfurization of a high sulfur coal. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 18, 341–354.
- Tributsch, H., 2001. Direct versus indirect bioleaching. *Hydrometall.*, 59, 177–185.
- Türker, M., 2005. *Biyoreaksiyon mühendisliği: Biyolojik proseslerin kinetiği ve modellenmesi*. Su vakfı yayınları, Kocaeli.

- Valix, M., Usai, F. and Malik, R., 2001. Fungal bioleaching of low grade laterite ores. *Mineral. Eng.*, 14, 2, 197–203.
- Wainwright, T., 1970. Hydrogen sulphide production by yeast under conditions of methionine, pantothenate or vitamin B6 deficiency. *Journal of General Microbiology*, 61, 107–119.
- Wainwright, T., 1971. Production of H₂S by yeasts: role of nutrients. *Journal of Applied Bacteriology*, 34, 161–171.
- Walker, G.M., 1998. *Yeast Physiology and Biotechnology*. Wiley, West Sussex.
- Wang, J., and Chen, C. 2006. Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review, *Biotechnology Advances*, 24, 427 - 451.
- Wenzl, R., Burgstaller, W. and Schinner, F., 1990. Extraction of zinc, copper and lead from a filter dust by yeasts. *Biorecovery.*, 2, 1–14.
- Wiersma, C.L. and Rimstidt, J.D., 1984. The kinetics and electrochemical rate-determining step of aqueous pyrite oxidation. *Geochim. et Cosmochim. Acta*, 48, 85–92.
- Wylie, C.R., 1975. *Advanced Engineering Mathematics*. McGraw-Hill Co. London.
- Yalçın, H. ve Gürü, M., 2002. *Stokiyometri*. Palme Yayıncılık, Ankara.
- Yamanaka, T., Yano, T., Kai, M., Tamegai, H., Sato, A. and Fukumori, Y., 1991. The electron transfer system in an acidophilic iron oxidizing bacterium. In: Mukohata (ed) *New era of bioenergetics*. Acad. Press, Tokyo, Japan, 223–246.
- Yoshida, S., Imoto, J., Minato, T., Oouchi, R., Kamada Y., Tomita, M., Soga, T. and Yoshimoto. H., 2011. A novel mechanism regulates H₂S and SO₂ production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 28, 109–121.
- Zhang, T., Wen, S. and Tan, T., 2007. Optimization of the medium for glutathione production in *Saccharomyces cerevisiae*. *Process Biochemistry*, 42, 454–458.
- Zheng Q.C., Allen C.C. and Bautista R.G., 1986. Kinetic study of the oxidation of pyrite in aqueous ferric sulfate. *Ind. Eng. Proc. Des. Dev.*, 25, 308–317.
- Zubay, G.L., 1998. *Biochemistry*, W.C., Brown Publishers, Dubuque.

ÖZGEÇMİŞ

1966 Kahramanmaraş - Afşin doğumlu, 1982-1986 yılları arasında Selçuk Üniversitesi Kimya Mühendisliği bölümünde lisans eğitimi alarak mezun oldu ve 1986-1989 döneminde Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı'nda yüksek lisansını tamamladı. 1987 yılında Atatürk Üniversitesi Kimya Mühendisliği bölümüne Araştırma Görevlisi oldu, 1990-1993 yılları arasında Cleveland State Üniversitesinde Kimya ve Biyokimya Mühendisliği dersleri aldı. 1993-2007 yılları arasında özel sektörde çalıştı. 2007 yılından bu yana Öğretim Görevlisi olarak görevine devam etmektedir.