

**T.C.**  
**ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**DOKTORA TEZİ**

**TERMİK SANTRAL BÖLGESİNDEKİ (ÇAN-ÇANAKKALE)  
TOPRAKLARDAN AĞIR METALE KARŞI DİRENÇLİ  
BAKTERİLERİN İZOLASYONU, TANILANMASI  
VE PLAZMİD PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**

**Görkem DÜLGER**  
**Biyoloji Anabilim Dalı**  
**Tezin Sunulduğu Tarih: 30/01/2012**

**Tez Danışmanı:**  
**Doç. Dr. Cüneyt AKI**

**ÇANAKKALE**

## DOKTORA TEZİ SINAV SONUÇ FORMU

**GÖRKEM DÜLGER** tarafından **DOÇ. DR. CÜNEYT AKI** yönetiminde hazırlanan “**TERMİK SANTRAL BÖLGESİNDEKİ (ÇAN-ÇANAKKALE) TOPRAKLARDAN AĞIR METALE KARŞI DİRENÇLİ BAKTERİLERİN İZOLASYONU, TANILANMASI VE PLAZMİD PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ**” başlıklı tez tarafımızdan okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Cüneyt AKI

---

Danışman

Prof. Dr. Gökhan CORAL

Doç. Dr. İhsan YAŞA

---

Jüri Üyesi

---

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN

Yrd. Doç. Dr. Alper ŞENER

---

Jüri Üyesi

---

Jüri Üyesi

Sıra No:.....

Tez Savunma Tarihi: 30/01/2012

Prof. Dr. İsmet KAYA

---

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Hazırlanan bu Doktora tezi **BAP** tarafından 2011/116 no'lu projeden desteklenmiştir.

## **İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI**

**Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.**

**Görkem DÜLGER**

## TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sırasında benden yardımlarını esirgemeyen ve her türlü desteği bana sağlayan başta danışman hocam Sayın Doç. Dr. Cüneyt AKI' ya ve eşim Doç Dr. Başaran DÜLGER' e teşekkür ederim.

Tez çalışmam esnasında benden desteğini esirgemeyen hocalarım, Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Müşerref OTKUN, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü öğretim üyesi Yard. Doç. Dr. Fatma AYDIN'a, tez çalışmam esnasında kimyasal madde yardımlarını benden esirgemeyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Sibel HAYRETDAG'a, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyeleri Doç. Dr. Kemal Melik TAŞKIN ve Yard. Doç. Tülay TURGUT GENÇ'e, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim elemanı Araş. Gör. Meliha Merve HIZ ve Araş. Gör. Selin ERTÜRK' e sonsuz teşekkür ederim.

## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

<u>Simge</u>	<u>Açıklama</u>
ICP	Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
DNA	Deoksiribonükleikasit
RNA	Ribonükleikasit
MIC	Minimal inhibisyon konsantrasyonu
EDTA	Etilendiamintetraasetikasit
EtBr	Ethidium bromür
t	Zaman
R <sup>2</sup>	Regasyon katsayısı
TBE	Tris, Borik asit, EDTA
GSP	Glutamate Starch Phenol Red Agar
NA	Nutrient Agar
Co	Başlangıç metal iyonu derişimi (mg/L)
Cad,d	Dengede, biyosorplanan metal iyonu derişimidir (mg/L)
MTs	Metal bağlayıcı protein
KRP (l/G)	Redlich- Peterson izoterm sabitleri
aRP:(L/mg)	Redlich-Peterson izoterm sabitleri
A	Koble – Corrigan izoterm sabiti ( $L n \text{ mg } 1-n / g$ )
B	Koble – Corrigan izoterm sabiti ( $Ln / \text{mgn}$ )
n	Koble – Corrigan üsteli
Mfs	Metallothioneinler

## ÖZET

### TERMİK SANTRAL BÖLGESİNDEKİ (ÇAN-ÇANAKKALE) TOPRAKLARDAN AĞIR METALE KARŞI DİRENÇLİ BAKTERİLERİN İZOLASYONU, TANILANMASI VE PLAZMİD PROFİLLERİNİN BELİRLENMESİ

Görkem DÜLGER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman: Doç. Dr. Cüneyt AKI

Ocak 2012, 91

Bu çalışmada Çan Termik Santral Bölgesindeki topraklardan *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* genusuna ait bakterilerin izolasyonu gerçekleştirilmiş, ağır metal dirençlilik düzeyleri tespit edilerek plazmid profilleri belirlenmiştir. Ağır metale yüksek düzeyde direnç gösteren iki suşun biyosorpsiyon çalışması gerçekleştirilmiştir.

Termik santral bölgesinde dört farklı istasyondan alınan toprak örneklerinden toplam 345 bakteri izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Ağır metal dirençlilik tespiti için MIC yöntemi kullanılarak 8µg/ml- 8192 µg/ml aralığında değişen konsantrasyonlarda ZnCl<sub>2</sub>, FeCl<sub>3</sub>.6.H<sub>2</sub>O, Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> ve CuSO<sub>4</sub> metal çözeltileri besi ortamlarına ilave edilmiştir. MIC değeri yüksek olan 37 adet bakterinin Vitek II identifikasyon cihazı ile tanımlamaları yapılmış ve plazmid profilleri çıkartılmıştır. 18 bakteride plazmid olduğu belirlenmiştir.

*Bacillus mycooides* (izolat 26) ve *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) suşları ağır metal biyosorpsiyonu için seçilmiştir. Bakterilerin ağır metal biyosorpsiyonu ICP cihazı ile belirlenmiştir. *Bacillus mycooides* (izolat 26) için çalışmada kullanılan Fe, Zn, Pb ve Cu metalleri arasında biyosorpsiyon hızının en yüksek olduğu metal Zn iken bunu sırası ile Pb, Fe, Cu takip etmiştir. *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) için biyosorpsiyon hızının en yüksek olduğu metal Pb iken bunu sırası ile Zn, Fe ve Cu' nun takip ettiği tespit edilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Çan Termik Santral, Ağır metal dirençlilik, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, Plazmid, Biyosorpsiyon.

## ABSTRACT

### ISOLATION, IDENTIFICATION AND DETERMINATION OF PLASMID PROFILES OF HEAVY METAL RESISTANCE BACTERIA FROM SOILS IN THERMAL POWER STATION AREA (ÇAN, ÇANAKKALE)

Görkem DÜLGER

Canakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Science and Engineering

Chair for Biology Thesis of Ph.D.

Adviator: Assoc.Prof.Dr. Cüneyt AKI

January 2012, 91

In this study the isolation of bacteria belonging to *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus* genus from the soil in the area of Çan Thermal Power plant were fulfilled and the plasmid profiles of them were defined by identifying their levels of heavy-metal resistance. Two studies of cultures biosorption which show resistance at high level to heavy metal were done.

In total, 345 bacteria isolations taken from the soil examples of four different stations in Çan Thermal Power plant area were fulfilled. To define the resistance of heavy metal, metal solutions of  $ZnCl_2$ ,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ,  $Pb(NO_3)_2$  and  $CuSO_4$  in varying concentrations between  $8\mu g/mL$  were added to culture media by using MIC method. 37 bacteria having high MIC level were defined via Vitek II identification tool and their plasmid profiles were done. It was identified that 18 bacteria have plasmids.

The cultures of *Bacillus mycoides* (izolat 26) and *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) were chosen for the heavy metal biosorption. The heavy metal biosorption of bacteria were defined via the tool ICP. While the metal having the highest growing speed of biosorption among Fe, Zn, Pb and Cu metals which were used in the study for *Bacillus mycoides* (izolat 26) is Zn, it is followed by Pb, Fe and Cu orderly. While the metal having the highest growing speed of biosorption for *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) is Pb, it is followed by Zn, Fe and Cu orderly.

**Keywords:** Çan Thermal Power, heavy metal resistance, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, plasmid, biosorption.

<b>İÇERİK</b>	<b>Sayfa</b>
TEZ SINAVI SONUÇ BELGESİ .....	ii
İTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI .....	iii
TEŞEKKÜR .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	v
ÖZET .....	vi
ABSTRACT .....	vii
<b>BÖLÜM 1 – GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>BÖLÜM 2 – ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Ağır Metaller ve Çevre Üzerindeki Etkileri .....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Metal Uzaklaştırma Yöntemleri .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3. Biyosorpsiyon .....</b>	<b>12</b>
<b>2.3.1. Biyosorpsiyon Mekanizması ve Verimi .....</b>	<b>12</b>
<b>2.3.2. Biyosorpsiyon Termodinamiği .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3.3. Metal Biyosorpsiyonunda Biyolojik Süreçlerin Önemi .....</b>	<b>13</b>
<b>2.3.4. Metal Biyosorpsiyonunun Moleküler Temeli .....</b>	<b>14</b>
<b>2.4. Adsorpsiyon .....</b>	<b>16</b>
<b>2.4.1. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler .....</b>	<b>17</b>
<b>2.4.2. Adsorpsiyon İzotermi .....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.2.1. Langmuir İzoterm Modeli .....</b>	<b>18</b>
<b>2.4.2.2. Freundlich İzoterm Modeli .....</b>	<b>19</b>
<b>2.4.2.3. Redlich –Peterson İzoterm Modeli .....</b>	<b>20</b>



2.4.2.4. Koble – Corrigan İzoterm Modeli .....	21
2.4.2.5. Temkin İzoterm Modeli .....	22
2.5. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri .	22
2.5.1. <i>Pseudomonas</i> Genusunun Özellikleri .....	22
2.5.2. <i>Bacillus</i> Genusunun Özellikleri .....	23
2.5.3. <i>Enterobacter</i> Genusunun Özellikleri .....	25
2.6. Bakteri Genomu ve Gen Transferi .....	25
2.6.1. Konjugasyon .....	26
2.6.2. Transdüksiyon .....	26
2.6.3. Transformasyon .....	27
2.6.4. Transpozisyon .....	27
2.7. Ekstrakromozomal Genetik Elemanlar .....	27
2.7.1. Plazmidler .....	27
2.7.1.1. Plazmid Çeşitleri ve Biyolojik Önemi .....	28
2.7.2. Transpozonlar .....	30
2.7.3. İntegronlar .....	31
2.8. Mikroorganizmaların Yaşamında Metallerin Rolü .....	31
2.9. Mikrobiyal Metal Direnç Mekanizmaları .....	33
<b>BÖLÜM 3 – MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>40</b>
3.1. Materyal .....	40
3.1.1. Cam Malzemeler .....	40
3.1.2. Kimyasallar .....	40

3.1.2.1. 10X TBE (Tris, Borik asit, EDTA) .....	40
3.1.2.2. Agaroz Jel (%1) .....	40
3.1.2.3. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Buffer) .....	40
3.1.2.4. 1X TBE Yürütme Tamponu (Running Buffer) .....	40
3.1.2.5. Boyama Solüsyonu (Staining, Ethidium Bromür) .....	40
3.1.2.6. Marker DNA .....	41
3.1.2.7. Plazmit İzolasyon Kiti .....	41
3.1.2.8. Kral Suyu .....	41
3.1.3. Besiyerleri .....	41
3.1.4. İnkübatörler .....	41
3.1.5. Bakteri İdentifikasyonu .....	41
3.1.6. Jel Görüntüleme .....	41
3.2. Yöntem .....	41
3.2.1. Toprak Örneklerinin Alınması .....	41
3.2.2. Toprak Örneklerinin ICP Cihazı İle Ağır Metal Analizi .....	42
3.2.3. Bakteri İzolasyonu .....	42
3.2.3.1. <i>Pseudomonas</i> ve <i>Enterobacter</i> Genusuna Ait Bakterilerin İzolasyonu .....	42
3.2.3.2. <i>Bacillus</i> Genusuna Ait Bakterilerin İzolasyonu .....	43
3.2.4. MIC( Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) Yöntemi İle Ağır Metal Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi .....	43
3.2.5. Bakteri İdentifikasyonu .....	44
3.2.6. Plazmid İzolasyonu ve Agaroz Jel Elektroforezi .....	44

3.2.7. Ağır Metallerin Biyosorpsiyonu .....	44
<b>BÖLÜM 4 - ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA .....</b>	<b>46</b>
4.1. Toprakтан Bakteri İzolasyon Bulguları .....	46
4.2. Toprak Örneklerinin ICP Analiz Değerleri .....	46
4.3. Bakterilerin Ağır Metal Direnci ve İdentifikasyon Bulguları .....	47
4.4. Ağır Metale Direnç Gösteren Bakterilerin Plazmid Profillerinin Belirlenmesi .....	67
4.5. Seçilen İzolatların Biyosorpsiyon Bulguları .....	72
<b>BÖLÜM 5 - SONUÇ VE ÖNERİLER .....</b>	<b>82</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>84</b>
Çizelgeler .....	I
Şekiller .....	II
Özgeçmiş .....	III

**BÖLÜM 1****GİRİŞ**

İnsanlar tarih boyunca doğayı bir takım ihtiyaçları ve istekleri doğrultusunda kullanmaktadır. Tarım alanlarının açılması, avcılık, yerleşim yerlerinin kurulması gibi faaliyetleri ile doğayı olumsuz yönde etkilemişlerdir. Ekosistemler bu olumsuzlukları sanayileşmenin başlangıcına kadar tolere edebilmişlerdir. Ancak sanayii ile birlikte atıkların birikimi ve bunların doğaya bıraktıkları zararlı etkileri tolere edebilme sınırının çok üstüne çıkmıştır.

Günümüzün en büyük sorunlarından birisi teknolojiye paralel olarak artan ve yaşamı olumsuz etkileyen çevre kirliliğidir. Toprak, su ve hava gibi çevreyi oluşturan öğeler; başta insan olmak üzere bitki ve hayvanların etkileri ile kirlenmektedir. Özellikle endüstrileşme ve kentleşme, taşıtlar, organik kimyasallar, deterjanlar, pestisitler, radyoaktif maddeler ve ağır metallerle ilgili olarak artan çevre kirliliği, canlılar üzerinde tehlikeli olabilecek boyutlara ulaşmıştır. Doğrudan ve dolaylı yollardan çevre kirliliği probleminden her çeşit organizmanın etkilenmesi, bu problemin büyüklüğünü ve tehlikesini arttırmaktadır (Zengin ve Munzuroğlu, 2005).

Antik çağlarda metallerin cevherleri işlenmeye başlandığından beri metaller insan faaliyetleri sonucu olarak doğal çevrimler dışında atmosfere, hidrosfere ve pedosfere yayılmaya başlamışlardır. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metalleri etkilerini bilmeden takı, silah, su borusu vb çeşitli amaçlar için kullanmışlardır. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlanması ile endüstri bölgelerindeki ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmış ve ağır metal kirliliğinden kaynaklanan ilk tanımlanan zehirlenmeler Japonya’da ortaya çıkmıştır (Kahveciolğlu ve ark., 2004). Toprakta ağır metal birikimi ile oluşan kirlilik, toprak verimliliği ve ekosistemi üzerine olumsuz etkiler yaratabileceği gibi besin zinciri yolu ile de hayvan ve insan sağlığı üzerinde de ciddi etkiler yaratmaktadır. Doğrudan ve dolaylı yollardan çevre kirliliği probleminden her çeşit organizmanın etkilenmesi, bu problemin büyüklüğünü ve tehlikesini arttırmaktadır (Zengin ve Munzuroğlu, 2005). Topraklardaki ağır metal kirliliği, endüstrinin ve madencilik aktivitelerinin gelişmesiyle ve atık suyla yapılan sulamaların ve arıtma çamuru uygulamalarının yaygınlaşmasıyla global bir problem halini almaktadır. Topraklardaki ağır metallerin, eğer miktarları topraktaki normal başlangıç değerlerinden fazla ise mikro kirliticiler olarak bilinirler. Topraktaki ağır metallerin en tehlikeli yanı, bitkilerin yapısına girmeleri, hareketli hale geçtiklerinde (serbest iyon haline geçtiklerinde) taban suyuna

karışarak suyun niteliğini bozmaları, mikroorganizmalara zarar vermeleri ve besin zinciri ile diğer canlılara geçerek dolaylı yollardan zararlı olmalarıdır. Ağır metallerin özellikle belirli dozlardan itibaren canlılardaki fizyolojik fonksiyonları ve biyokimyasal olayları direkt veya dolaylı olarak etkilediği bilinmektedir. Çizelge 1.1’ de topraktaki ağır metal sınır değerleri verilmektedir (Sevgi, 2007).

Çizelge 1.1. Topraktaki Ağır Metal Sınır Değerleri (Sevgi, 2007).

<b>Ağır Metal (Toplam)</b>	<b>PH 5- 6</b>	<b>pH&gt;6</b>
	<b>mg/kg Fırın Kuru Toprak</b>	<b>mg/kg Fırın Kuru Toprak</b>
Kurşun	50 **	300 **
Kadmiyum	1 **	3 **
Krom	100 **	100 **
Bakır*	50 **	140 **
Nikel*	30 **	75 **
Çinko *	150 **	300 **
Civa	1 **	1,5 **

\* pH değeri 7’den büyük ise çevre ve insan sağlığına özellikle yer altı suyuna zararlı olmadığı durumlarda Bakanlık sınır değerleri %50’ye kadar artırabilir.

\*\* Yem bitkileri yetiştirilen alanlarda çevre ve insan sağlığına zararlı olmadığı bilimsel çalışmalarla kanıtlandığı durumlarda, bu sınır değerlerin aşılmasına izin verilebilir.

Çalışmamızın konusu olan termik santral bacalarından çıkan ve etrafa yayılan uçucu küller içinde bulunan ağır metaller için izin verilen sınır değerleri Çizelge 1.2' de verilmiştir. Çizelge 1.2' de verilen sınır değerlerin üzerinde toksik ağır metal içeren uçucu küller tehlikeli atık sınıfına girer.

Çizelge 1.2. Uçucu Kül içindeki Ağır Metal Konsantrasyonu Sınır Değerleri

<b>Ağır Metaller Eluat Kriterleri (L/S=10lt/kg)</b>	<b>Tehlikeli Atık Olarak Muamele Görececek Atıklar (mg/kg)</b>
Arsenik	< 0,2-2,5 *
Civa	< 0,02-0,2 *
Kadmiyum	< 0,1-0,5 *
Krom	< 1-7 *
Kurşun	< 1-5*
Nikel	< 1-7 *
Bakır	< 5-10 *
Çinko	< 5-20 *

Eluat konsantrasyonu tehlikeli atık için belirlenen değerler arasında olan atıklar, tehlikeli atık düzenli depolama sahasında depolanırlar. Ancak, tehlikeli atık için belirlenen üst sınırdan daha yüksek eluat konsantrasyonu olan atıklar tehlikeli atık depolama sahasında depolanmadan önce ön işleme tabi tutulmalı ve üst sınır altına çekilmelidir. Bunun mümkün olmadığı takdirde, bu atıklar tehlikeli atık depolama alanında ayrı olarak (tek tür) depolanmalıdır. Çizelge 1.2'de verilen sınır değerlerin üzerinde toksik ağır metal içeren uçucu küller özel olarak lisanslı tehlikeli atık depolama tesislerde depolanmalıdır. Çizelge 1. 2'de verilen sınır değerlerin üzerinde toksik ağır metal içeren uçucu külün geliştiği güzel yerlere dökülmesi, atılması fevkalade tehlikelidir. Başta yüzeysel su kaynakları olmak üzere yer altı suyuna ve tarımsal toprağa ciddi zararlar verebilir. Depolandığı yeri de tehlikeli hale getirebilir. Sınır değerlerin üzerinde toksik ağır metal içeren uçucu küllerin tarımsal topraklara dökülmesi, atılması önlenmelidir.

Çizelge 1.2’de verilen sınır değerlerin üzerinde toksik ağır metal içeren uçucu küllerin termik santral taban külü ile karıştırılarak depolanması fevkalade yanlış olabilir. Tehlikeli olan bir atığın tehlikeli olmayan bir atıkla karıştırılması yasaktır. Böyle bir uygulama yapıldığı zaman tehlikeli olmayan bir atığı tehlikeli atık haline dönüştür.

Söz konusu sorunların çözümlenmesinde önemli rol oynayan teknolojik gelişmeler, insanlığın yararına birçok yeni ve alternatif ürünler sunarken küçümsemeyecek oranda ve nitel- nicel yönden oldukça farklı atıklar oluşmaktadır. Bu tür katı ve sıvı atıkların arıtmaları mevcut konvansiyonel arıtım süreçleri ile yeterli düzeyde yapılamamaktadır. Bunun yanında etkili bir arıtım ise, ilgili endüstri kuruluşlarına oldukça pahalıya mal olmaktadır. Bu nedenle, günümüzde birçok endüstri kuruluşlarının önemli sorunu olan bu tür atıkların arıtımında; ekonomik yönden ucuz, pratik uygulamalarda kolaylık sağlayacak arıtım süreçlerine yönelik geniş bilimsel araştırmalar yapılmaktadır. Arıtımda başarıyla kullanılacak fiziksel- kimyasal yöntemler (presipitasyon, aktif karbon adsorpsiyonu, ters ozmoz, iyon değişimi vb) bulunmakla birlikte gerek arıtım süreçlerinin zorluklar içermesi, komplike oluşu, gerekse ekonomik açıdan pahalı ve arıtım verimliliğinin düşük olması nedeniyle endüstriyel uygulamalarda arzu edilmemektedir (Wong ve Kwok, 1992; Lowe ve Guady, 1989). Son yıllarda ağır metal içeren atıksuların arıtımında biyolojik yöntemler; etkili, pratik ve ekonomik olmaları nedeniyle konvansiyonel fiziksel - kimyasal arıtım yöntemlerine tercih edilmekte ve bilimsel araştırmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır (Costa ve Leite, 1991; Shrahan ve Moran, 1992). Biyolojik süreçlerle metal arıtımı, özellikle mikropsal hücrelerle yapılan metal biyosorpsiyonu etkili ve alternatif bir teknoloji oluşturacak güçtedir.

Günümüzde *Enterobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter* sp., *Arthrobacter* sp. bakterileri biyosorpsiyon çalışmalarında kullanılmaktadır (Sağlam ve Cihangir, 1995).

Bu tez çalışmasında amaç; termik santral (Çan - Çanakkale) bölgesinde belirlenen istasyonlardan alınan toprak örneklerinde bulunan bakır, çinko, demir ve kurşun metallerinin düzeyini belirlemektir. Bu bölgede ağır metalle kontamine olmuş topraklardan bu metallere karşı direnç gösteren bakterilerin izolasyonunu gerçekleştirmek ve bu dirençliliğin plazmidler ile olan ilişkisini belirlemektir. Ayrıca metal toleransının yüksek olduğu bakteri suşlarının göstermiş olduğu metal biyosorpsiyon kapasitesini belirlemektir.

## BÖLÜM 2

## ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

**2.1. Ağır Metaller ve Çevre Üzerindeki Etkileri**

Son zamanlarda ağır metal tanımı ile kimyasal maddelerin ekolojik sisteme verdikleri zarar genelleştirilerek gazete haberlerinde sık sık ağır metallerin, çevresel problemlere neden oldukları yer almaya başlamıştır. Bunun nedeni çevresel problemler söz konusu olduğunda “ağır metal” tanımı sanki çok tanımlı ve kesin bir grupmuş gibi bu kavramın çok sık “nispeten yüksek yoğunluğa sahip ve düşük konsantrasyonlarda bile toksik veya zehirleyici olan metal” olarak kullanılmasıdır. Bu yaygın kaniya, ağır metallerin belirli bir zaman aralığında canlı organizmada diğer metallere kıyasla akümülyasyonunun fazla olması ve bunun sonucu negatif etkinin giderek artması yol açmaktadır. Gerçekte ağır metal tanımı fiziksel özellik açısından yoğunluğu  $5 \text{ g/cm}^3$  ten daha yüksek olan metaller için kullanılır. Bu gruba Kurşun, kadmiyum, krom, demir, kobalt, bakır, nikel, cıva ve çinko olmak üzere 60 tan fazla metal dahildir. Bu elementler doğaları gereği yer kürede genellikle karbonat, oksit, silikat ve sülfür halinde stabil bileşik olarak veya silikatlar içinde hapis olarak bulunurlar. Her ne kadar metallerin yoğunluk değeri üzerinden hareketle ekolojik sistem üzerindeki etkileri tanımlanmaya / gruplandırılmaya çalışılıyorsa da gerçekte metallerin yoğunluk değerleri onların biyolojik etkilerini tanımlamaktan çok uzaktır. Örneğin yoğunluğu  $3,65 \text{ g/cm}^3$  olan baryumun veya  $4,51 \text{ g/cm}^3$  olan titanyumun biyolojik sistemlere kadmiyum ( $8,65 \text{ g/cm}^3$ ), kurşun ( $11,34 \text{ g/cm}^3$ ) veya lantanit grubu metallerden ( $5,25 - 9,84 \text{ g/cm}^3$ ) çok farklı etkide bulunduğu kesindir. Bir elementin yoğunluğu aslında periyodik sistemdeki (grup ve gruptaki sıra) yerinin, kimyasal özellikleri de elementin ait olduğu grubun fonksiyonudur. Metallerin ekolojik sistem üzerine etkilerinden bahsederken aslında metalin ait olduğu grubun ele tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı da suların ağır metal konsantrasyonu sürekli olarak yükselir. Ülkemizde de başta tuz ihtiyacımızı karşıladığımız tuz gölü olmak üzere kapalı göllerimizde yeterli çevresel önlem almadığımız ve su havzalarında kontrolsüz sanayileşmeye izin verdiğimizden dolayı ağır metal konsantrasyonu sürekli yükselmektedir.

Ağır metallerin ekolojik sistemde yayınımları dikkate alındığında doğal çevrimlerden daha çok insanın neden olduğu etkiler nedeniyle çevreye yayınımlı söz konusu olduğu görülmektedir. Sürekli ve kullanıma bağlı kirlenmenin yanı sıra kazalar



sonucu da ağır metallerin çevreye yayılımını önemli miktarlara ulaşabilmektedir. (1979 Lengrich'te çimento tesisinden talyum kaçağı\* ). Yıllık olarak doğal çevrimler sonucu 7600 ton Cd, 18800 ton arsen, 3600 ton cıva 332000 ton kurşun atmosfere atılmakta iken insan faaliyetleri sonucu deşarj edilen miktarlar dikkate alındığında ise selen (19 kat), kadmiyum (8 kat), cıva, kurşun, kalay (6 kat), arsen, nikel ve krom (3 kat) ) daha fazladır (Alexander,2002).

Çevre kirliliğini artıran ve ekolojik dengenin bozulmasında önemli roloynayan ağır metallerin çevreye yayılımının da etken olan en önemli endüstriyel faaliyetler çimento üretimi, demir çelik sanayi, termik santraller, cam üretimi, çöp ve atık çamur yakma tesisleridir. Çizelge 2.1' de temel endüstrilerden atılan metal türleri genel olarak gösterilmiştir. Bu metaller içersinde kurşun, çinko, bakır, kobalt, kadmiyum, krom, nikel, arsenik, cıva ve gümüş gibi metal iyonları, kalıcı etkilerinden dolayı canlı sistemleri ve çevre sağlığı yönünden önem taşımakta olup belirli bir sınırı aşınca da son derece toksik etki göstermektedir (Sağlam ve Cihangir, 1995). Havaya atılan ağır metaller, sonuçta karaya ve buradan bitkiler ve besin zinciri yoluyla da hayvanlara ve insanlara ulaşırlar ve aynı zamanda hayvan ve insanlar tarafından havadan aeresol olarak veya toz halinde solunurlar. Ağır metaller endüstriyel atık suların içme sularına karışması yoluyla veya ağır metallerle kirlenmiş partiküllerin tozlaşması yoluyla da hayvan ve insanlar üzerinde etkin olurlar (Kahvecioğlu ve ark., 2004).

Çizelge 2.1. Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri (Kahvecioğlu ve ark., 2004)

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

Yukarıda tabloda belirtilen endüstri kuruluşlarından, çalışmamızda da konu olan termik santraller kömür, fuel-oil, motorin, doğal gaz ve jeotermal enerji kaynaklarının kullanılmasıyla elektrik enerjisinin üretildiği tesislerdir. Termik santraller; çabuk yapılabilirliği, ucuza mal edilmesi, düşük kaliteli kömürlerin değerlendirilmesi gibi getirdiği avantajlar nedeniyle elektrik üretiminde tercih nedenidir. Kömür yakıtlı termik

santrallerin Türkiye’de ağırlıklı bir elektrik enerjisi üretim biçimi olarak seçilmesinin başlıca nedeni, kömürün fuel-oil veya doğalgaz gibi ülkemizde pahalı ya da kıt olan yakıtlara göre daha ucuz olarak kabul edilmesidir. Ülkemizin hidroelektrik güç ile birlikte en önemli öz enerji kaynağı linyitlerdir. Ülkemiz linyitleri yüksek nem, kükürt ve kül içerikli olup, düşük ısı değerlidirler ve büyük miktarda çevre kirliliğine neden olurlar (Karaca ve ark., 2009).

Termik santrallerde elektrik üretmek amacıyla, öğütülmüş kömür kullanılmakta ve yakma sistemine bağlı olarak değişik atık malzemeler elde edilmektedir. Modern termik santrallerde en önemli atık malzeme, yanmadan dolayı baca tarafından çekilen gazlarla birlikte yukarıya sürüklenen çok ince kül parçacıklarıdır. Santrallerde yakılan kömürden arta kalan milyonlarca kül, cüruf ve partiküller birkaç yüz metre yükseklikte ve binlerce hektar genişlikte başka bir arazi üzerine depo edilerek, ormanları maki alanlarını, tarım kültürlerini ve yerleşim alanlarını yoğun kül emisyonu altında bırakmaktadır (Pacyna, 1987). Baca gazıyla yayılan külün yüzeyi As, Cd, Cu gibi metallerle yoğunlaşır ve hava akımlarıyla uzak mesafelere taşınırlar. Araştırmalar, santralden 30 km uzaklıkta, büyük partiküllerdeki As, Cd ve Pb konsantrasyonunun atmosferdeki normal seviyesine indiğini göstermektedir (Rosensthein, 1970).

Yapımları sırasında projelerinde hiç gözükmeyen birçok çevre sorunu termik santraller ile Türkiye gündemine girmiştir. Yüksek kullanım payına sahip fosil yakıtlı termik santraller hava, su ve toprak kirliliği ile ekolojik dengenin bozulmasına olumsuz etkilerde bulunmaktadır. Kömüre dayalı termik santrallerin çevreyi olumsuz yönde etkileyen asgari 13 faktör tespit edilmiş olup bunlar; baca gazları, kül stok sahasındaki küller, kül barajları, kül siloları, kül nakil bant hattı, hidrolik kül atma sistemi, santral sahası, dekapaj sahası, açık kömür işletme sahaları, kömür nakil yolları, kirli atık sular ve termal etkidir (Karaca, 1997).

Baca gazları, kömürle çalışan termik santrallerin, çevreyi en geniş ve şiddetli etkileyen olumsuz faktörüdür. Kömür yakıtlı termik santral bacalarından atmosfere atılan başlıca kirleticiler; karbonmonoksit (CO), karbondioksit (CO<sub>2</sub>), kükürt oksitler (SO<sub>x</sub>), azot oksitler (NO<sub>x</sub>), hidrokarbon bileşikleri, ağır metaller ve partiküllerdir. Bunların yanı sıra fosil yakıt içinde bulunan radon ve uranyum gibi radyoaktif maddeler de az miktarda da olsa bulunur. Tüm fosil yakıtların yanması ile CO<sub>2</sub> oluşur, fakat enerji içeriği bazında, kömürün yanması fuel-oil’e göre % 25, doğal gaza oranla ise % 50 daha fazla CO<sub>2</sub> çıkmasına neden olmaktadır. CO<sub>2</sub> kontrolü ve önlenmesine yönelik teknolojiler ise pahalıdır (Karaca ve ark., 2009).

Baca gazındaki SO<sub>x</sub> bileşikleri, kömür kükürtünün yanma sırasında oksitlenmesi neticesinde açığa çıkar. Kömürün yanması esnasında kükürt oksitlenerek SO<sub>2</sub> açığa çıkar. Fosil yakıtların yakılmasından ortaya çıkan SO<sub>2</sub>'nin miktarı, kömür ve petroldeki kükürt oranına bağlıdır. Tahripkar olan SO<sub>2</sub> 'den ziyade bunun oksitlenmesinden ortaya çıkan SO<sub>3</sub>'tür. Kükürtlü bileşikler insan sağlığına olduğu kadar bitki ve hayvan topluluklarına da zarar vermektedir. Kükürt oksitleri nemli ortamlarda yapraklarda asit halinde toplanıp, bitkinin köklerine inerek azotu indirgeyerek bakterilerin ölmesine yol açar ve toprağın asitliğini artırır (Gürkan, 1992).

Fosil yakıtların ağır metal içerikleri de, diğer kirleticilerde olduğu gibi yakıtın cinsine ve kaynağına göre değişmektedir. Yakıttaki elementin konsantrasyonu, kazan tipi baca gazı emisyonu kontrol aygıtının yapısı, termik santralden atmosfere verilen ağır metal emisyon miktarlarını belirler (Karaca ve ark., 2009).

Adriano ve ark. (1980), termik santrallerde kömürün yanması ile bacalardan salınan uçucu küllerin asit veya alkalın karakterde olduğunu ve önemli miktarda Cd, Co, Cu, Fe, Al, Mn, Mo, Ni ve Zn içerdiğini belirlemiştir. Araştırmacılar, ayrıca söz konusu metalleri içeren uçucu küllerin, toprağın kimyasal özellikleri ile mikrobiyal aktivite üzerine de olumsuz etkiler yapıp yapmadığını incelemişler ve uçucu kül ilavesiyle toprakta nitrifikasyonun azaldığını bulmuşlardır.

Bunzl ve ark. (1983), Leinigerwerk termik santralinde yaptıkları araştırmada 0.4, 0.8, 1.4, 2.7 ve 5.2 km mesafelerden toprak örnekleri ve 2 yıl süresince de 4 ayrı zamanda elektrostatik toplayıcılardan uçucu kül örnekleri alıp analiz etmişlerdir. Analiz sonuçlarına göre kül örneklerinin Pb içeriği 3680 mgkg<sup>-1</sup>, Co içeriği 122 mgkg<sup>-1</sup> ve Ni içeriği 325 mgkg<sup>-1</sup> olarak saptanmıştır. Araştırmacılar sonuç olarak bu üç elementin santral etrafındaki dağılımının uzaklıkla ilişkisi olmadığını hatta santral topraklarının Pb, Co ve Ni içeriklerinin kirlenmiş toprakların Pb, Co ve Ni içerikleri ile aynı seviyede olduğunu belirtmişlerdir.

Mejsrik ve Suacha (1988), Çekoslovakya'da bulunan 3 ayrı termik santralden 1, 5, 10, ve 15 km uzaklıklardan 7 yıl boyunca toprak ve bitki örnekleri almışlar ve örneklerde Co, Cd, Ni ve Zn dağılımlarını araştırmışlardır. Araştırmacılar, incelenen 3 termik santral etrafındaki topraklarda ve bitkilerde belirli miktarlarda ağır metal birikiminin saptandığını ancak 7 yıllık izleme periyoduyla bu metal yığılmasının kaynağının saptanamayacağını, bunun emisyonlardan olup olmadığını belirlemek için daha uzun süreler incelenme yapılması gerektiğini bildirmişlerdir.

Nuhoğlu (1993), Muğla-Kemerköy Termik santralinde yapmış olduğu çalışma sonucunda, topraktaki asitliğin termik santrallerin oluşturduğu hava kirliliği ile fazla ilgisi olmadığı gibi bir durum ortaya koymuştur. Araştırmacı ayrıca yöre topraklarının kalsiyum karbonatça zengin olmasının termik santrallerin oluşturduğu asit yağmurları tamponlayabileceğini de belirtmiştir.

Martinez-Tarazona ve Spears (1996), Yorkshire Termik Santralinden aldıkları kömür, uçucu ve taban külü örnekleri üzerinde 15 iz element (As, Ba, Cr, Cu, Mn, Mo, Nb, Ni, Pb, Rb, Sr, V, Y, Zn, Zr) ve 10 makro element (Al, Ca, Fe, K, Mg, Na, P, S, Si, Ti) için AAS ve XRF’de analizler yapmışlardır. Araştırmacılar her element için zenginleşme faktörünü hesaplamışlar ve As, Cu, Mo, Pb ve Zn’nun uçucu küllerde zenginleştiğini tespit etmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca uçucu küllerin tane boyutunun düşmesi ile As, Cu, Mo, Pb ve Zn’nin konsantrasyonun arttığını bulmuşlardır.

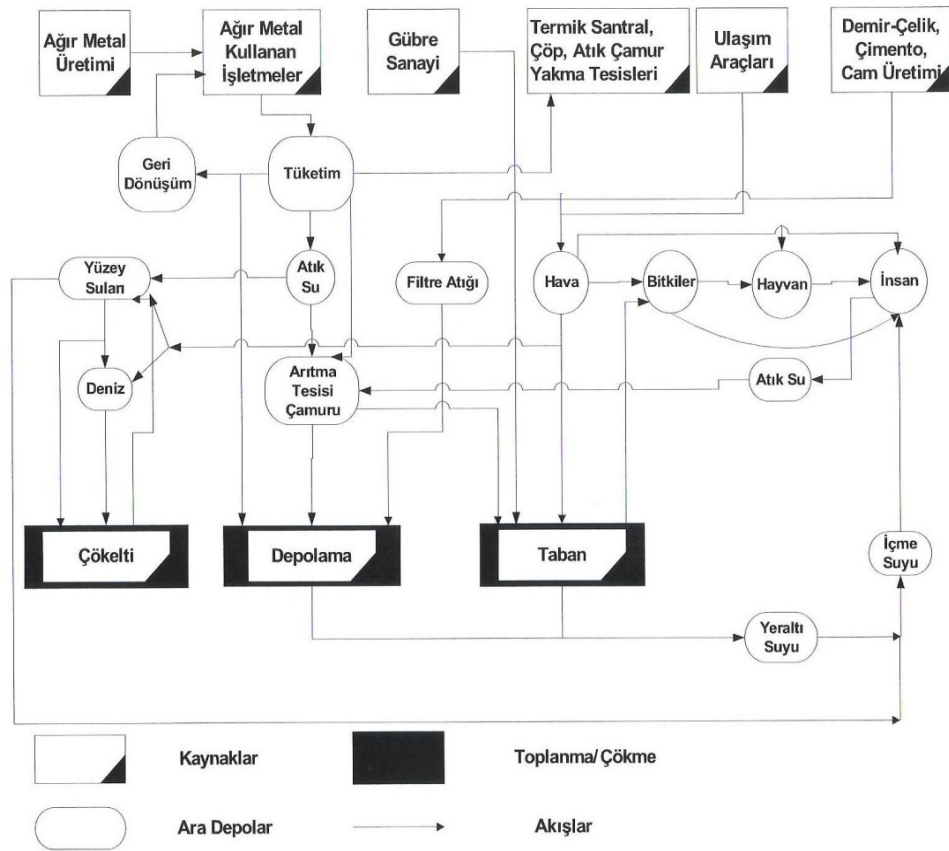
Çancı (1998), Seyitömer termik santrali uçucu kül ve taban külü örnekleri ile santral civarındaki toprak örneklerinde AAS kullanarak Pb, Zn, Cd, Cu, Co analizlerini gerçekleştirmiş ve uçucu küllerin çevreyi kirletme eğilimini değerlendirmiştir. Araştırmacı toprak örneklerinin konsantrasyonlarını farklı ülkelerin tarım amaçlı olarak belirlenen üst limitleri ile karşılaştırmış, Cd, Cu ve Zn konsantrasyonlarının verilen değerlerin altında kaldığını, Co ve Pb konsantrasyonlarının ise üst limit değerlerini aştığını tespit etmiştir.

Onacak (1999), Türkiye’deki 10 adet Termik Santralin 13 ünitesinde kömürlerin yanması sonucu oluşan katı atıkların çevreye etkilerini incelemiş ve 39 adet örneğin (beslenen kömür, uçucu kül ve taban külü) major ve iz element analizlerini XRF, ICP-AES ve ICP-MS kullanarak yapmıştır. Bu çalışmanın sonucunda termik santrallerin kömür örneklerinde Cr, Cs, Mn, Mo, Ni, Rb, Th, U ve V içeriklerinin Swaine (1990) tarafından verilen dünya kömürlerinin çoğuna ait maksimum sınır değerleri aştığını tespit etmiştir. Termik santrallerin kömür, uçucu kül ve taban külü element analiz sonuçlarına göre hesaplanan kütle-denge değerleri ve uçucu kül / taban külü konsantrasyon oranlarına göre çoğu santralde Zn, Sn, Pb, As, Mo ve Ge elementlerinin uçucu karakter gösterdikleri ve uçucu kül taneleri üzerinde önemli zenginleşme gösterdiklerini saptamıştır.

Haktanır ve ark. (2006), Yatağan termik santrali çevresinden değişik mesafelerde tarım ve orman alanlarından (orman, 2 zeytinlik ve 17 tarım alanı) hem toprak hem de bitki örnekleri alıp ağır metal analizleri yapmışlardır. Araştırmacılar genelde santralin güney, güney batısı ve kuzeybatısındaki topraklarda ağır metal içeriğinin yüksek bulunduğunu ve bu değerlerin santrale uzaklığa değil hakim rüzgar yönlerine bağlı olduğunu belirlemişlerdir.

Karaca ve ark. (2007), Seyitömer termik santrali çevresi topraklarında yapmış oldukları çalışmada, araştırma topraklarının sadece % 0.25’inde Ni ve %13.68’inde Cr’un TKKY sınır değerlerinin altında olduğunu, toprakların çoğunluğunun Ni ve Cr’ca yüksek değerler içerdiğini belirtmişlerdir. Araştırmacılar, santralin yakınında ve uzağında özellikle batı yönünden alınan toprakların genel olarak düşük Ni içermeleri, ara noktalardan alınan topraklarda ise santralden uzaklaştıkça Ni değerlerinin artmasının, nikelin net bir şekilde santral baca gazının yayıldığı hakim rüzgar yönüne bağlı hareket etmediği şeklinde açıklamışlardır. Bu durumda toprakta mevcut yüksek krom ve nikelin kaynağının jeolojik araştırma yapılmadan santral emisyonlarından mı yoksa toprağı oluşturan ana materyalden mi olduğu noktasında kesin bir ayrıma gitmenin mümkün olmadığını vurgulamışlardır.

Ağır metallerin doğaya yayınımları dikkate alındığında çok çeşitli sektörlerden farklı işlem kademelerinden biyosfere ağır metal atılımı gerçekleştiği bilinmektedir. Şekil 2.1’ de farklı sektörlerden biyosfere ağır metal yayınımları şematik olarak verilmiştir (Kahvecioğlu ve ark., 2004).



Şekil 2.1. Şematik olarak ağır metallerin doğaya yayınımları.

## 2.2. Metal Uzaklaştırma Yöntemleri

**a. Ters Osmoz:** Ağır metal içeren atık suların; basınç uygulanarak yarı geçirgen zardan geçirilerek filtrelenmesi işlemidir. Bu metodun dezavantajı pahalı olmasıdır.

**b. Elektrodializ:** Elektrodializde elektrik yüklü membranlar kullanılır. Katyon ve anyonlar seçici membran tarafından reddedilirler. Bu reddedilen anyonlar elektrodializ hücresinden deşarj edilirler. Membranı tıkayan metal hidroksitler, bu metodun kullanılmasında problem teşkil etmektedir.

**c. Ultrafiltrasyon:** Atık su belirli gözenek boyutundaki geçirgen zarın bir tarafında basınç altında bulunur. Gözenek boyutundan küçük tüm maddeler membrandan geçer, büyük maddeler kirli su tarafında kalır. Bu metodun dezavantajı ise çok fazla miktarda çamur oluşumudur.

**d. İyon Değişimi:** İyon değiştirici reçineler üzerindeki elektrostatik kuvvetlerle tutulan iyonların çözültide bulunan metal iyonlarıyla yer değiştirmesine dayanır. Yüksek maliyet ve sadece belli iyonların giderilmesi sistemin dezavantajlarındandır.

**e. Kimyasal Çöktürme:** Atık sularındaki metallerin kimyasal maddelerin yardımıyla yumaklaştırılarak çöktürülmesidir. En önemli dezavantajı toksik bileşenler içeren fazla miktarda çamur oluşumudur.

**f. Fitoremediasyon:** Toprak, sediment ve metal içeren suyun belirli bitkiler kullanılarak temizlenmesi işlemidir. Prosesin uzun sürmesi ve bitkinin yeniden kullanımının zor olması sistemin dezavantajlarındandır.

**g. Biyoremediasyon:** Tehlikeli maddeleri, zararsız (su ve karbondioksit) veya daha az zararlı maddelere parçalamak için mikroorganizmaların kullanıldığı uzun süreli arıtım prosesleri biyoremediasyon olarak bilinmektedir. Mikroorganizmaların kirleticileri çevreden alma kapasitesine sahip olmaları ve bunları büyüme ve metabolik faaliyetleri için kullanmaları esasına dayanmaktadır. Biyoremediasyon tasarımının asıl amacı, mikrobiyal büyüme ve aktivite için en uygun şartların sağlanmasıdır. Biyoremediasyon adlı yöntem iki biçimde uygulanır:

1) Atıkların döküldüğü bölgeye besin aktarımı yapılarak, toprağın bakteri kompozisyonuna göre, hali hazırda toprakta bulunan bakteriler etkin duruma geçirilir.

2) Toprağa yeni bakteriler aktarılır. Çevresel koşullar kontrol edilir veya mikroorganizmaların metabolik aktivitelerini ve büyümelerini optimize etmek için koşullar değiştirilir. Biyoremediasyon için çevrenin optimizasyonunda; sıcaklık,

inorganik nütrientler (öncelikle azot ve fosfor), elektron alıcılar (oksijen, nitrat ve sülfat) ve pH gibi çevresel faktörler modifiye edilmektedir ([www.scribd.com/doc/46508111/Mikrobiyal-Biyosorpsiyon](http://www.scribd.com/doc/46508111/Mikrobiyal-Biyosorpsiyon)).

### 2.3. BIYOSORPSİYON

Isısal ya da kimyasal yöntemlerle öldürülmüş mikroorganizmalarla yapılan, adsorpsiyon işlemi ‘biyosorpsiyon’ olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir deyişle Biyosorpsiyon; biyolojik materyallerin, sulu çözeltilerdeki atık maddelerin hücre yüzeyi veya içinde akümüle edilmesidir. Bu biyolojik materyaller; mantarlar, bakteriler, algler vb. canlılardır. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki, kullanılan mikroorganizmanın hücre tipi ve içerdiği temel bileşenler metal adsorpsiyon mekanizmasını belirlemektedir. Mikroorganizmalar ağır metallerle, hücre membranından karşılıklı taşınım, hücre duvarlarında biyosorpsiyon ve hücre dışı kapsüllerle tutulma, çökeltme, kompleks oluşumu ve oksidasyon-reduksiyon mekanizmalarının da içerisinde bulunduğu bir dizi mekanizmayla reaksiyon verirler (Elmacı ve ark., 2005). Biyosorpsiyon yöntemi, ağır metal giderimi için en uygun alternatiftir.

#### 2.3.1. Biyosorpsiyon Mekanizması ve Verimi

Biyosorpsiyon ile giderim prosesi çözünenin biyosorbenti çevreleyen film tabakasından biyosorbentin dış yüzeyine kütle aktarımı ile baslar, çözünenin yüzeyden biyosorbent yüzeyindeki aktif bölgelere aktarımı ve sorpsiyonu ile tamamlanır.

Biyosorpsiyon verimi, dengede biyosorbentin biyosorpladığı metal iyon derişiminin, başlangıç metal iyon derişimine oranı olarak aşağıdaki eşitlikte tanımlanmıştır (Gürbüz, 2006).

$$\% Ad = \frac{C_{ad,d}}{C_o} \times 100$$

$C_o$  : Başlangıç metal iyonu derişimi (mg/L)

$C_{ad,d}$ : Dengede, biyosorplanan metal iyonu derişimidir.(mg/L)

### 2.3.2. Biyosorpsiyon Termodinamiği

Ağır metal içeren çözelti biyosorbent ile temas ettirildiğinde metalin hemen biyosorplanmaya başladığını, daha sonra biyosorplanma hızı yavaşlayarak belli bir süre sonunda sabit kaldığını gözlemlenmektedir. Bu sistemde biyosorplanma hızı ile desorpsiyon hızı birbirine eşittir. Yani denge durumu söz konusudur. Biyosorbentteki ağır metal derişimi ile çözültide bulunan ağır metal derişimi dengededir, bu da biyosorpsiyon prosesinin dengede tersinir bir sistem olduğunu göstermektedir. Böylece termodinamik çalışmalar bu sistem için uygulanabilmektedir.

Biyosorpsiyon sırasındaki entalpi değişimi, entropi değişimi, serbest enerji değişimi ve denge sabiti belirlenerek biyosorpsiyon olayı termodinamik olarak incelenir (Gürbüz, 2006).

### 2.3.3. Metal Biyosorpsiyonunda Biyolojik Süreçlerin Önemi

Metallerle biyosorbsiyon sürecinin temelde iki hedefi vardır. Birincisi; altın, gümüş ve platin gibi ticari değere sahip paslanmaz metallerin geri kazanımını; ikincisi ise canlı sistemleri ve çevresi için çok küçük derişimlerde bile son derece toksik olan civa, bakır, demir, kurşun, krom, kadmiyum, nikel ve çinko gibi ağır metallerin kirli sulardan ve endüstri atıklarından uzaklaştırımıdır (Costa ve Leit, 1991). Arıtım sistemlerinde, özellikle biyolojik arıtım süreçlerinde mikroorganizmaların kullanılması arıtımın daha etkili ve randımanlı yapılmasını da sağlayacaktır.

Metal biyosorbsiyonunda etkin olarak kullanılacak biyolojik moleküller oldukça geniş bir spektruma sahiptir. Örnek olarak bakterilerden *Arthrobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter* ve *Pseudomonas*; mayalardan *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* ve *Candida*; mantarlardan *Neurospora*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* ve *Pleurotus*; alglerden *Chlorella*, *Microcystis*, *Scenedesmus*, *Anabeana*, *Ascophyllum* türleri başlıcalarıdır (Tobin ve Neufeld, 1984; Fawero ve Costa, 1991). Yine bazı sucul bitkilerden *Eicbbornia crassipes*, *Ipomoe aquatica*, *Iris pseudocorus*, *Azolla pinnata*, *Lemna minor L.* ve *Salvina molesta* metal biyosorbsiyonu yeteneklerine sahiptir. Ayrıca *Lycopersicon esculentum* (domates) ve *Nicotiana tobaccum* (tütün) gibi bitkiler de metal birikimi yapabilmektedir (Jain ve Jha, 1990; Sağlam ve Cihangir, 1995).

Ağır metallerin uzaklaştırımı ve metal biriktirme yetenekleri yönünden, bu sözü edilen organizma grupları arasında maya ve özellikle mantarlarla yapılan biyosorbsiyon çalışmaları daha verimli bulunmuştur. Ayrıca fungal kitlelerin fermantasyon endüstrilerinden büyük miktarlarda hazır elde edilmesi, genetik ve morfolojik



manipulasyon çalışmalarında kolaylıklar içermesi, özellikle toksik metallerin yüksek derişimlerine karşı farklı dirençlilik yetenekleri ve mikoriza üretmeleri tercih nedenleridir. Bunun yanında yine saprofit özellikteki mantarların metal biyosorbsiyon yeteneklerinin yüksek olduğu da gözlenmiştir. Bu konu üzerindeki son çalışmalar tarımsal ve endüstriyel atıkların biyoçevriminde oldukça geniş kullanım alanına sahip odun parçalayıcı *Basidiomycetes* sınıfı mantar türlerinin bu amaç için oldukça etkili olduğunu göstermektedir. Biyolojik moleküllerle yapılan ileri metal biyosorbsiyon çalışmalarında immobilize edilmiş hücre tekniklerinin (alg, maya, bakteri, mantar immobilizasyonu) metal bağlama ve metal uzaklaştırımında serbest moleküllere kıyasla daha etkin oldukları gözlenmiştir. Algler, mantarlar ucuz polimerik desteklere immobilize edilerek metal biyosorbsiyonunda kullanılabilir (Sağlam ve Cihangir, 1995).

#### 2.3.4. Metal Biyosorpsiyonunun Moleküler Temeli

Tign ve ark.(1991)' na göre ağır metallerin biyolojik moleküllerle alımı bazı aşamalar içermektedir. Yapılan bilimsel araştırmalar ağır metallerin metal bağlama verimliliğinin ilk aşama da çok hızlı bir şekilde cereyan etmekte olduğunu ve bu olayda metal iyonlarının hücre duvarlarına temas eder etmez hemen yüzey adsorpsiyonu ile mikroorganizmaların hücre yüzeyine bağlandığını göstermektedir. Yüzey adsorpsiyonun fiziko—kimyasal bir olay olduğu, birçok biyolojik moleküllerin, örneğin hücre duvarı bileşenleri olan polisakaritlerin, proteinlerin ve lipidlerin sahip olduğu fonksiyonel gruplar ile gerçekleştiği belirtilmiştir. Bu fonksiyonel gruplar amino, karboksilik, sülfidril, fosfat ve thiol grupları olup metalleri bağlamada farklı affinite ve özgülüğe sahiptirler. Her iki özellik yardımıyla hücre yüzeyine bağlı olan metal türlerinin tayini yapılabilmektedir. Yine metallerin hücre yüzeyine alımının, hücre yüzeyindeki negatif yüklü metal bağlayıcı moleküllere bağlanarak gerçekleştiğini belirten araştırmaların varlığı yukardaki yüzey alım mekanizmasının doğruluğunu kanıtlamaktadır. Diğer yandan hücre duvan içeriği olan proteinler, metalleri bağlamak için aktif bölgeler oluşturmakta ve metale karşı affinitelerini artırmaktadırlar. Yüzey alımında bazı mikroorganizmalar, yüzeylerinde yüksek moleküler ağırlıklı polifosfatlara benzeyen grupları ile metallerle kompleks oluşturarak metali bağlayabilmektedirler. Yüzey alımını takiben ikinci metal bağlama aşaması gerçekleşmektedir. Bu aşama yavaş cereyan etmekte ve metaller hücre membranının transport özelliğine bağlı olarak sitoplazmaya geçmektedirler. Sitoplazmadaki metaller ise çözünmez formda (mikradepozitler) şeklinde tutulmaktadır. Bu bağlanma sürecinde de polisakaritlerin önemli rolü vardır. Neticede metaller inter ve

intrafibriller, parakristalin bölgeler, proteinler, RNA ve polifosfatlar, vakuoller gibi formlarda ve hücre yapılarında alınma uğramaktadır. Genelde hücre duvarlarına metal bağlanması hızlı ve yüksek verimlilik gösterirken hücrenin sitoplazmasında ki bölgelerde (sitosoluble) çok yavaş ve düşük verimliliktedir. (Sağlam ve Cihangir, 1995).

Metallerin alınım sürecinde birçok mikroorganizmanın metal bağlayıcı proteinler sentezledikleri rapor edilmektedir. Bu sentezin, ağır metalleri detoksifikasyon mekanizması gereği yapıldığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalar metal derişimlerinin artışına paralel olarak metal- bağlayıcı proteinlerin arttığını göstermektedir. Metallerin her iki tip alınımında bu özgül düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin önemi büyüktür. Özellikle sisteince zengin, metal bağlayıcı özelliğe sahip bu düşük moleküler ağırlıklı proteinlere metallothioneinler (Mfs) adı verilmekte ve ağır metallerin detoksifikasyonunda yer almaktadır. Böyle proteinlerin çeşitli eukaryotik ve prokaryotik canlılardan izolesi mümkündür (Gadd, 1990; Karin, 1985; Sağlam ve Cihangir, 1995). Metallerin sorbsiyon verimliliğinde, ortamda bulunan metal çeşidine ve sayısına, bu metallerin kendine has özelliklerine bağlı olarak sinerjik ve antagonistik etki görülmektedir. Diğer bir değişle bir metal diğer bir metalin birikim miktarını sinerjik ve antagonistik şekilde etkileyebilmektedir. (Örneğin bazı alg türlerinde Cd ve Zn'un antagonistik etkisi veya metallerin membran transportunda Ni<sup>+2</sup> ve Cu<sup>+2</sup> in Sinerjik etkisi gibi). Bakterilerle yapılan metal biyosorbsiyonu çalışmalarında yine aynı mekanizmalarla gerçekleşmekte; özellikle bu sistemlerde biyolojik oksidasyonu gerçekleştiren aktif çamur sisteminde de görülmektedir (Blais ve Auclair, 1993; Artola ve Rigola, 1992). Mayalar ve mantarlar ağır metalleri biriktirme yetenekleri yönünden oldukça etkili görülmektedir. Bu nedenle, ilgili biyoteknolojik uygulamalarda daha çok tercih edilmektedirler (Favero ve ark., 1991; Zhou ve Kiff, 1991). Metal bağlama verimliliği bu mikroorganizmalarda genellikle bifaziktir; metallerin başlangıç aşamasında hızlı bir şekilde hücre duvarlarının negatif yüklü bölgelerine bağlanmaları düşük bir enerji ile başarılmakta ve sonra metabolik aktiviteye bağlı olarak yavaş bir şekilde sitoplazmik bileşenlere bağlanmasını izlemektedir. Bazı metallerin örneğin bakırın hücre büyümesini belli bir derişimden sonra inhibe ettiği, buna karşın metal bağlayıcı proteinlerin (MTs) sentezini artırdığı deneysel olarak saptanmıştır. Bu ise, metal bağlayıcı proteinlerin yapısına bu gibi metallerin yapısal bileşen olarak girdiğini göstermektedir (Huang ve ark., 1990; Yazgan ve ark., 1993; Sağlam ve Cihangir, 1995).

## 2.4. ADSORPSİYON

Günümüzde kullanılan atık arıtma yöntemlerinin veya sistemlerinin çoğu atık arıtımında etkindirler ama işlem sonucu meydana gelen ikincil atıkların uzaklaştırılmasından kaynaklanan sorunlar ise oldukça ciddi boyuttadır. Bu nedenle bilim adamları çevre ile dost olan yeni arıtma sistemleri geliştirmek için çalışmaktadır. Özellikle doğada ve çevrede bol miktarda bulunan organik, inorganik maddelerin veya insani aktiviteler (sanayi, tarım, evsel gibi) sonucu ortaya çıkan atıkların ya da ürün fazlalıklarının atık arıtımında kullanımı ile hem ekonomiye hem de çevreye katkıda bulunulabilmektedir. Adsorpsiyon, atık arıtımında maliyet düşüklüğü ve çevre dostu olması nedeni ile tercih edilen ileri bir arıtım yöntemidir.

Adsorpsiyon; bir fazda bulunan iyon ya da moleküllerin, bir diğer fazın yüzeyinde yoğunlaşması ve konsantre olması işlemi olarak tanımlanabilir. Havada veya suda bulunan kirleticilerin aktif karbon üzerine adsorpsiyonu, kirlenmiş olan havanın veya suyun iyileştirilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Birikim gösteren maddeye adsorbat, adsorplayan katıya adsorban denilmektedir. Üç tip adsorpsiyon çeşidi vardır:

- . Fiziksel
- Kimyasal
- Değişim (İyon değişimi gibi)

Fiziksel adsorpsiyonun moleküller arası düşük çekim gücünden veya Van Der Waals' kuvvetlerinden dolayı meydana gelmektedir. Adsorbe olan molekül katı yüzeyinde belirli bir yere bağlanmamıştır, yüzey üzerinde hareketli bir durumdadır. Bununla birlikte, adsorbat adsorbanın yüzeyinde birikir ve gevşek bir tabaka oluşturur. Fiziksel adsorpsiyon genellikle geri dönüşümlüdür (tersinir).

Kimyasal adsorpsiyon ise daha kuvvetli güçlerin etkisi sonucu oluşur (kimyasal bileşiklerin oluşumu). Genellikle adsorbat yüzey üzerinde bir molekül kalınlığında bir tabaka oluşturur, moleküller yüzey üzerinde hareket etmezler. Adsorban yüzeyinin tamamı bu mono moleküler tabaka ile kaplandığında, adsorbanın adsorplama kapasitesi bitmiş olur. Bu tür adsorpsiyon çok nadir olarak geri dönüşümlüdür (tersinmez). Adsorbe olan maddenin uzaklaştırılması için (rejenerasyon) adsorbanın yüksek sıcaklıklara kadar ısıtılması gibi işlemler uygulanır.

Değişim (exchange) adsorpsiyonu, adsorbat ile yüzey arasındaki elektriksel çekim ile olmaktadır. İyon değişimi bu sınıfa dahil edilir. Burada, zıt elektrik yüklerine sahip olan

adsorbat ile adsorban yüzeyinin birbirlerini çekmesi önem kazanmaktadır. Elektrik yükü fazla olan iyonlar ve küçük çaplı iyonlar daha iyi adsorbe olurlar. Tüm bu adsorpsiyon çeşitlerine rağmen, bir adsorpsiyon işlemini tek bir adsorpsiyon çeşidi ile açıklamak zordur.

Adsorpsiyonun hızı ve miktarı adsorbanın yüzeyinin bir fonksiyonudur. Bunun için, aktif karbon (1000 m<sup>2</sup>/g) gibi kütesine oranla yüzey alanı büyük olan maddeler kullanılır. Gazların adsorpsiyonu sırasında basınç yükseltilecek olunursa, adsorban daha fazla miktarda madde adsorplayacaktır. Çözeltilerin adsorpsiyonu için de aynı kural geçerlidir. Çözeltinin adsorpsiyonu, adsorbe olacak maddenin doğasına ve çözelti içerisindeki konsantrasyonuna bağlıdır. Sıcaklık da önemli bir faktördür (Sawyer ve McCarty, 1978).

#### 2.4.1. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Adsorpsiyonu etkileyen en önemli faktörler ortam pH'ı, ortam sıcaklığı, adsorbent ve adsorblananın başlangıç derişimi, karıştırma hızı, adsorblanan madde ve adsorbentin özellikleridir.

- a) **Ortam pH'ı:** Hidronyum ve hidroksil iyonları kuvvetle adsorplandıklarından dolayı diğer iyonların adsorpsiyonu çözelti pH'ından etkilenir. Ayrıca asidik ya da bazik bileşiklerin iyonizasyon dereceleri de adsorpsiyonu etkiler.
- b) **Sıcaklık:** Adsorpsiyon işlemi genellikle ısı veren bir tepkime (ekzotermik) biçiminde gerçekleşir. Bu nedenle azalan sıcaklık ile adsorpsiyon büyüklüğü artar. Açığa çıkan ısının genellikle fiziksel adsorpsiyonda yoğunlaşma ve kristalizasyon ısıları mertebesinde, kimyasal adsorpsiyonda ise kimyasal tepkime ısıları mertebesinde olduğu bilinmektedir.
- c) **Yüzey alanı:** Adsorpsiyon bir yüzey işlemi olduğundan, adsorpsiyon büyüklüğü spesifik yüzey alanı ile orantılıdır. Adsorbentimizin geniş bir yüzey alanına sahip olması tercih sebebidir. Gözenekli ya da parçacıklı bir yapının yüzey alanının daha fazla olduğu bilinmektedir.
- d) **Adsorblanan madde türü:** Adsorbentimizin hidrofobik (suyu sevmeyen) olduğu durumlarda, çözünenin sudaki çözünürlüğü ile adsorblama kapasitesi arasında ters orantı vardır. Metal iyonlarının hücre duvarı yüzeyine bağlanmasında, duvar yüzeyinde mevcut bulunan bazı polisakkaritler, proteinler ve lipidler ile bunların içinde mevcut bulunan karboksil, hidroksil, fosfat, ve amino gruplarının etkin oldukları bilinmektedir.

- e) **Çözücü türü:** Çözeltideki çözünürlük arttıkça çözücü-çözünen bağı kuvvetlenir, adsorpsiyon derecesi düşer. İnorganik bileşikler hidrofilik yapılarından dolayı az adsorplanırken, hidrofob maddeler tercih olarak adsorblanırlar.
- f) **Polarite:** Kutuplaşmanın genel prensibinden dolayı, polar bir çözünen polar bir adsorbent tarafından, polar olmayan bir çözücüden daha çok adsorblanacaktır (Aksu, 1988; Sağ, 1993; Sevgi, 2007).

### 2.4.2. Adsorpsiyon İzotermi

Adsorpsiyon işlemi daha etkin ve az maliyetli bir hale getirmek için bir çok araştırmacı ucuz ve yenilenebilir adsorbanlar bulmaya çalışılmaktadır. Maliyet azalımı ve etkinlik için öngörülen yollardan biri adsorpsiyonunun doğasının anlaşılmasıdır (Ho ve McCarty, 1999).

Adsorpsiyon, adsorban yüzeyinde biriken madde konsantrasyonu ve çözeltide kalan madde konsantrasyonu arasında bir denge oluşuncaya kadar devam eder. Gazlar için konsantrasyon genellikle mol yüzdesi veya kısmi basınç olarak verilir. Çözeltiler içinse konsantrasyon kütle birimleri olarak verilir (mg/l, ppm v.s.). Matematiksel olarak bu denge adsorpsiyon izotermi ile açıklanmaktadır. Zaman içerisinde Jaeger ve Erdös tarafından oluşturulan genel bir formülden yola çıkarak birçok araştırmacı, farklı izoterm denklemleri ortaya koymuşlardır. Bunlar; Freundlich adsorpsiyon izotermi, Langmuir adsorpsiyon izotermi, Redlich-Peterson izoterm modeli, Koble-Corrigan izoterm modeli, Temkin Denklemi izoterm modeli' dir. Bunlardan en genel kullanım gören izotermier Freundlich ve Langmuir denklemleridir (Aksu ve ark., 1999).

#### 2.4.2.1. Langmuir İzoterm Modeli

Langmuir izotermi, homojen adsorpsiyon için kullanılmaktadır (Al-Duri, 1996). Bu izotermde; adsorpsiyonun yüzeydeki tek bir madde tabakası ile sınırlı olduğu ve adsorplanan maddelerin katı yüzeyinde hareket etmediği varsayılmaktadır (İleri ve Çakır, 2006).

Langmuir adsorpsiyon izotermi başlıca şu kabuller üzerinde kurulmuştur.

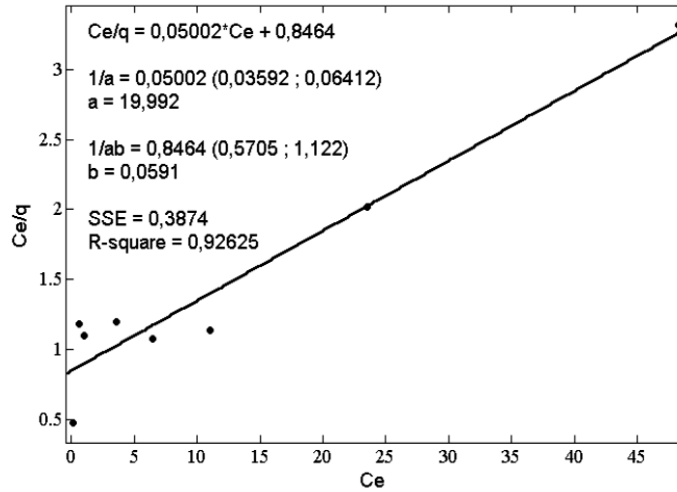
- 1) Yüzeyde adsorplanan moleküller tek tabaka halinde adsorplanırlar. Yani adsorpsiyon monomolekülerdir.
- 2) Adsorpsiyonda yüzeyin her tarafı örtülmez, yer yer örtülmeler olur.
- 3) Yüzeyin her tarafında adsorpsiyon enerjisi aynıdır.

4) Yüzeyde tutunan moleküller arasında etkileşme yoktur (Sevgi, 2007).

$$\text{Eğrisel Formu: } q = x/m = (a \cdot C_e) / ((1/b) + C_e) \quad (1)$$

$$\text{Doğrusal Formu: } C_e/q = (1/ab) + ((1/a) C_e) \quad (2)$$

Burada,  $q = x/m$ , birim biyosorbent üzerine biyosorplanan metal iyonları miktarını (mg metal/g biyosorbent),  $C_e$  dengede sıvı ortamdaki metal iyon konsantrasyonunu (mg/L),  $a$  ve  $b$  biyosorbent sabitleri olmakla birlikte sırasıyla, maksimum adsorpsiyon kapasitesini, tutan ve tutulan madde arasındaki ilgiyi ifade etmektedir.  $b$ 'nin değeri düştükçe tutulan ve tutan madde arasındaki eğilim artmaktadır. İyi biyosorbentler de, yüksek bir adsorpsiyon kapasitesi aranmaktadır (Kratochvil ve ark., 1998). Eğrisel formun grafiği  $C_e$ 'ye karşı  $q$  arasında çizilerek,  $a$  ve  $b$  izoterm sabitleri hesaplanmaktadır. İzoterm sabitlerinin bulunması için eğrisel denklem lineerleştirilerek, izoterm grafiği ( $C_e$ 'ye karşı  $C_e/q$ ) çizilerek (şekil 2.2) kullanılabilir. Doğrunun eğiminden ( $1/a$  dan)  $a$  değeri ve doğrusal şeklin  $y$  eksenini kestiği noktadan ( $1/ab$  değerinden)  $b$  değeri hesaplanmaktadır (İleri ve Çakır, 2006).



Şekil 2.2. Langmuir eşitliği doğrusal formu.

#### 2.4.2.2. Freundlich İzoterm Modeli

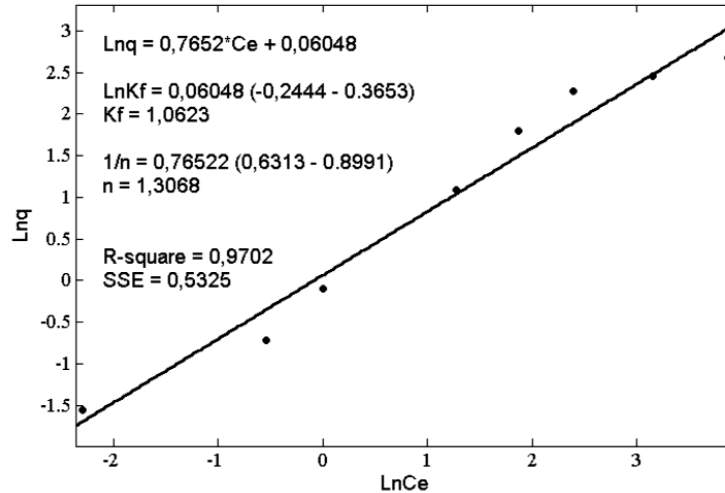
Freundlich izotermi, heterojen yüzeylerdeki eşitliği göstermektedir.

$$\text{Eğrisel Formu: } q = x/m = K_f C_e^{1/n} \quad (3)$$

$$\text{Doğrusal Formu: } \ln q = \ln K_f + (1/n) \ln C_e \quad (4)$$

Denklemden yer alan; q birim biyosorbent üzerine biyosorplanan metal iyonları miktarını (mg metal/g biyosorbent), x adsorplanan maddenin kütlesi (mg), m adsorplayıcı maddenin kütlesi (g), Ce dengede sıvı ortamdaki metal iyon konsantrasyonunu (mg/L), Kf Freundlich biyosorpsiyon sabitini, n Freundlich biyosorbent şiddetini göstermektedir. 1/n heterojenlik faktörünü ifade etmekle birlikte 0-1 arasında yer almakta ve sıfıra yaklaştıkça yüzeyin heterojenlik seviyesi artmaktadır. (Al-Duri, 1996).

Eğrisel formun grafiği birim biyosorbent üzerine biyosorplanmış madde miktarı (q) ve dengede sıvı ortamdaki metal iyon konsantrasyonu (Ce) arasında çizilerek (şekil 2), Freundlich sabiti (Kf) ve biyosorbent şiddeti (n) hesaplanmaktadır. İzoterm sabitlerinin bulunması için eğrisel formun kullanılması öncelikli olup, denklem doğrusallaştırılarak, izoterm grafiği (LnCe'ye karşı Lnq) çizilerek (şekil 2.3) kullanılabilir. İzoterm doğrusal şeklinin eğiminden 1/n ve y eksenini kestiği noktadan LnKf hesaplanmaktadır (İleri ve Çakır, 2006).



Şekil 2.3. Freundlich eşitliği doğrusal formu.

#### 2.4.2.3. Redlich –Peterson İzoterm Modeli

Redlich-Peterson modeli, biyosorpsiyon dengesinin diğer iki modelle uyum sağlamadığı durumlar için geliştirilmiş, üç farklı parametre içeren denklem olarak bilinen ampirik eşitlik, geniş derişim aralıklarında adsorbsiyon dengesini ifade etmekte kullanılabilir.

$$q_{den} = \frac{K_{RP} C_{den}}{1 + (a_{RP} C_{den})}$$

Bu eşitlikte; KRP (L/g) ve aRP (L\_/mg\_) Redlich-Peterson izoterm sabitleri,  $\beta$  ise Redlich-Peterson üsteli 0 ile 1 arasında değer alan üs  $0 \leq \beta \leq 1$ ) olarak tanımlanır. Redlich-Peterson eşitliği,  $\beta = 1$  ise, Langmuir izoterm modeline, yüksek adsorblanan derişimlerinde ise Freundlich izoterm modeline dönüşür.

#### 2.4.2.4. Koble – Corrigan İzoterm Modeli

Biyosorpsiyon dengesini ifade etmek için kullanılan ve üç farklı parametre içeren bir başka modeldir.

$$q_{den} = \frac{AC_{den}^n}{1 + B C_{den}^n}$$

Yukarıdaki eşitlikte;

A : Koble – Corrigan izoterm sabiti ( $L n mg^{1-n} / g$ )

B : Koble – Corrigan izoterm sabiti ( $Ln / mgn$ )

n : Koble – Corrigan üsteli

olarak tanımlanır.

Koble – Corrigan eşitliğinde,  $n=1$  ise, eşitlik Langmuir izoterm modeline dönüşür ve aşağıdaki şekilde ifade edilir:

$$q_{den} = \frac{AC_{den}}{1 + B C_{den}}$$

Adsorbsiyon kapasitesi çok az, yani  $B C_{den}^n \ll 1$  ise; eşitlik Freundlich modeline dönüşür ve aşağıdaki eşitlikte gösterilen şekli alır:

$$q_{den} = AC_{den}^n$$

Adsorbsiyonun fazla olduğu durumda ise  $B C_{den}^n > 1$  olup, dengede birim biyosorbent ağırlığı başına adsorblanan madde miktarı sabit kalır ve aşağıdaki eşitlikte olduğu gibi ifade edilir (Kabasakal, 2001):

$$q_{den} = \frac{A}{B}$$



#### 2.4.2.5. Temkin İzoterm Modeli

Aksu (1988), dolaylı adsorblanan / adsorblanan etkileşimlerinin adsorbsiyon izotermine etkileri Temkin izotermi ile aşağıdaki şekilde ifade edilebilir:

$$q_{den} = RT / b (\ln AC_{den})$$

### 2.5. Çalışmada Kullanılan Mikroorganizmaların Genel Özellikleri

#### 2.5.1. *Pseudomonas* Genusunun Özellikleri

Uzunlukları çok değişik olmakla beraber *Pseudomonas aeruginosa* 1,5-3 µm genişliğinde, bazen ikili bazen de kısa zincirler halinde görülen sporsuz, kapsülsüz, çubuk şeklinde aerob bakteridir. Çoğu kez bir uçlarında bir, nadiren iki-üç adet kirpiği vardır ve çok hareketlidirler. Kolay boyanırlar ve Gram negatiftirler. Uzun süre beklemiş kültürlerinde ve antiseptik maddelerin bulunduğu ortamlarda kısa veya çok uzun deforme şekilleri, hareketsiz ve pigmentsiz olanları, R (rough) tipinde üreyenlerin bulunduğu bildirilmiştir (Özcan, 1996; Davis ve ark., 1998).

*Pseudomonas aeruginosa* uygun besiyerinde optimum 30-37 °C'lerde ve hafif alkali ortamlarda gelişir. 41 °C'de üreyebilme yeteneği *P. aeruginosa* için önemli bir özellik olup arka arkaya 3 pasajda 42 °C'de üreyebilmesi *P. fluorescens* 'den ayırt edici bir özelliğidir. Aerob olmakla beraber denitrifikasyon özelliğinde olduğundan anaerob üreyen türlerine de rastlanabilir. Sıvı besiyerinde yüzeyde zar yapmak üzere yoğun ve homojen bir üreme gösterirler ve zarın hemen altında mavi yeşil pigmenti ayırt edilir. Uzun süre beklemiş kültür ortamları zamanla alkali duruma geldiğinden bakteriler litik fermentlerle erir ve sıvı besiyerini berraklaştırır (Aydın, 2001).

*P. aeruginosa* katı besiyerlerinde 3 tip koloni oluştururlar. Tip 1 koloni, 2-3 mm çapında yuvarlak, mat yüzeyli, ortası kabarık, yassı, beyaz renkli karşıdan bakılınca fluoresans özelliği olan ve besiyerinin her tarafına yayılmış olan yeşil-mavi pigmentleri göze çarpan kolonilerdir. Bu tip koloniler genellikle klinik örneklerden izole edilir. Çoğunlukla doğal kaynaklardan izole edilen tip 2 koloni, daha küçük, kabarık, konveks ve düzensiz koliform kolonilerine benzeyen kolonilerdir. Tip 3 koloniler ise *Pseudomonas aeruginosa* 'nın bazı suşlarının hücre dışı alginat salgılaması nedeniyle mukoid görünümde bakterinin oluşturduğu R kolonileridir. Kültürlerde triptofan 2-aminoasetofenon üretimine bağlı olarak karakteristik bir meyve kokusu vardır ve petri kutusunun kapağı açıldığında üzüm kokusu veya trimetilamin kokusu şeklinde hissedilir. Çoğu *Pseudomonas* suşları kültür ortamında pigment üretirler. Pigment oluşumu kültür koşullarına bağlıdır.

Mutasyonla bu özellik kaybolur ya da aynı anda birçok pigment oluşumu görülebilir. Bu pigmentler oksijensiz ortamda oluşmazlar, oda sıcaklığında daha iyi oluşurlar (Aydın, 2001).

### 2.5.2. *Bacillus* Genusunun Özellikleri

Çubuk şeklinde düz ya da düze yakın hücrelerdir. Çoğu kötü şartlara dirençlidir. Genelde gram pozitifler. Peritrik flagellalı ve flagellaları hareketlidir. Aerobik ve fakültatif anaerobtur. Çoğunda oksijen terminal elektron alıcısıdır. Endospor oluştururlar. Vejetatif hücreler 0.5X1.2 µm ile 2.5X10 µm çapındadır. *Bacillus* genusunun koloni morfolojisi çeşitlilik gösterir. Geneli beyaz veya krem renkli kolonilere sahiptir. Bazı türlerinde sarı, pembe, portakal rengi ve siyah renklere pigmentli kolonilere de rastlanır. *B. mycoides* 'in kolonileri ise rizoid şekilde agarlı besiyortamı üzerine yayılır (Buchanan ve Gibbons, 1974; Kayalı ve Beyatlı, 2003).

*Bacillus* 'ların termofilik, mezofilik ve psikrofilik türleri bulunur. Çok yüksek sıcaklık derecelerinde bile canlı kalırlar. Genellikle 35-37 °C da ve pH 7 civarında ürerler. Bütün türleri Nutrient Agar, Trypticase Soy Agar, Brain Heart Infusion ve Kanlı Agar gibi besiyerlerinde oldukça iyi ürerler. Karbon kaynağı olarak organik asit, şeker ve alkol içeren; nitrojen kaynağı olarak da amonyum bulunduran sentetik ortamlarda çok iyi gelişirler (Taubman, 1992).

*Bacillus* genusu uygun olmayan şartlarda spor oluşturma yeteneğindedir. Oluşturduğu endospor ise; silindirik, oval, yuvarlak veya böbrek şeklinde olabilir. Buna ilaveten sporlar hücre içerisinde sentral ya da subterminal olarak yerleşebilir. *Bacillus* 'ların hücre duvarı, hücre yüzeyini tamamiyle örten yüzey katmanı parakristalin oluşturur. *Bacillus* ' lar genellikle karbonhidrat kapsülü bulundururlar. Tipik habitatları toprak olmasına rağmen doğada geniş olarak, süt ve süt ürünlerinden hava su ve yiyecek gibi birçok ortamdan elde edilebilirler (Robinson, 1985).

Bazı *Bacillus* türleri, dış yüzeyinde polisakkarit veya polipeptid yapıda kapsül oluştururlar. *Bacillus anthracis* ' de poli D-glutamik asitten oluşan kapsül bulunmakta ve bu virulans faktör taşımaktadır (Rosovitz ve ark., 1998; Sneath, 1986). *Bacillus* ' lar sporları nedeniyle biyosferde birçok farklı çevreden izole edilebilirler ( Öztürk, 2007). Cinsin asıl habitatı, topraklardır. Toprak mikroflorasında yer alan *Bacillus* türleri besin maddeleri açısından zengin topraklarda bulunabildikleri gibi, besince fakir topraklardan da izole edilebilirler. Örneğin; *B. subtilis*, *B. Licheniformis* ve *B. cereus* karmaşık besin

maddelerine ihtiyaç duymazken, *B. polymyxa* ve *B. azotofixans* gibi gelişmek için bitki rizosferine ihtiyaç duyan türler de bulunur (Sneath, 1986; Massle, 1985).

Endospor oluşturan *Bacillus* türleri toprak, bitki rizosferi, gıda, su ve bazı canlıların bağırsak sistemlerinden de izole edilebilirler. Bunun yanı sıra, sivrisinek, kelebek, sinek ve kınkanatlı larvalarından da izole edilmişlerdir (Burke ve ark., 1983; Chilcott ve Wigley, 1993). *Bacillus* türleri toprakta geniş bir yayılıma sahip oldukları gibi deniz ve tatlı sularla, buraların sedimentlerinde de bulunabilirler. Bazı *Bacillus* türleri ise uygun olmayan şartlarda büyüebilme kapasitesindedirler ve üre içeren üç pH değeri olan asitli veya yüksek sıcaklığa sahip ortamlardan izole edilebilirler (Rosovitz, 1998).

Katalaz ve asit üretirler ama gaz oluşturmazlar. *Bacillus* 'ların bazı türleri yiyecekler için önemli olabilir. Bazı *Bacillus* 'ların proteolitik enzimleri peynir yapımında kullanılabilir. Bazı türleri de böcek patojenidir (Bonwart, 1989; Kalaylı, 2003). *Bacillus* 'ların birkaç türü polipeptit sınıfından antibiyotik üretir. Antibiyotikler kültürlerde sporulasyon aşaması olduğu zaman oluşmaya başladığı gözlenmiştir (Buchanan, 1974). Turnbull ve Kramer (1991) yaptıkları bir araştırmaya göre *Bacillus* türlerinin teşhisi ve türler arasındaki farklılıkların tespiti için spor ve sporangiyum morfolojileri temel alınmıştır. Buna göre de *Bacillus* 'lar 3 grupta toplanmıştır. Birinci grup *Bacillus* 'larda kendi içlerinde A ve B olmak üzere ikiye ayrılır. Bu her iki grupta sporangia şişmemiştir. Sporlar elips veya silindirik şekilli, sentral veya terminal konumludur. Gram pozitifler. A grubu ve B grubu arasındaki fark ise A alt grubunda hücre genişliği 1µm den küçük, B alt grubunda ise 1µm den büyüktür. A alt grubuna örnek olarak *B. megaterium* ve *B. cereus*; B alt grubuna örnek olarak da *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. firmus* ve *B. coagulans* verilebilir (Turnbell, 1991).

İkinci grupta yer alan *Bacillus* türlerinde sporangia şişmiştir. Sporları elips, sentral veya terminaldir. Bu grupta yer alan *Bacillus* türlerine örnek olarak *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. circulans*, *B. stearothermophilus*, *B. alvei*, *B. laterosporus* ve *B. brevis* verilebilir (Turnbell, 1991).

Üçüncü grupta yer alan *Bacillus* türlerinde de sporangia şişmiştir. Sporlar küresel, subterminal veya terminal konumludur. Örneğin *B. sphaericus* bu gruba örnek olarak verilebilir (Turnbell, 1991).

Bu genus içindeki bakterilerin çoğu patojen değildir. İki adedi insan ve hayvanlarda hastalık oluşturan basillerdir. Bunlar da *B. anthracis* ve *B. cereus* ' tur. *Bacillus anthracis* insan ve hayvanlarda antraks, şarbon, çoban çıbanı denilen hastalığın etkenidir. Hastalık *B. anthracis* sporlarının zedelenmiş deri, mukozalar ve seyrek olarak solunum yolu ile

akciğerlerden organizmaya girmeleri sonucunda oluşur. *B. anthracis* 'ler buldukları yerden lenfa yolu ile kana yayılma ve orada çoğalma eğilimindedirler. *B. anthracis* giriş kapısına göre deri şarbonu, akciğer şarbonu, bağırsak şarbonu ve septicemiye sebep olur (Bilgehan, 1995).

### 2.5.3. *Enterobacter* Genusunun Özellikleri

*Enterobacteriaceae* Prokaryotlar alemi, *Gracilicutes* bölümü (division) ve *Scotobacteria* sınıfına aittir. *Enterobacteriaceae* üyeleri birbirlerine çok yakın olup, genomları yüksek derecede homoloji göstermektedir. Bu ailede 31 cins ve 100'den fazla tür bulunmaktadır. *Enterobacteriaceae* familyası üyesi bakterilerdir. Doğada, toprakta, suda ve hayvan dışkısında doğal olarak bulunurlar. Ancak bazıları çok nadir olarak insandan izole edilmektedir. Major insan patojenlerini içine alan cinsler *Escherichia*, *Shigella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Yersinia*, *Serratia*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Hafnia*, *Providencia* ve *Edwardsiella*'dır. Bunlardan da ilk 9'u daha patojen olup, sık rastlananlar arasında yer almaktadır (Jahansson, 1999).

*Enterobacteriaceae*; kısa, yuvarlak uçlu gram negatif basillerdir. 2-3µm'den başlayıp, silindir şeklinde 6-7µm'ye kadar giden uzunluğa sahiptir. Genişlikleri ise 0.5-2µm'yi bulmaktadır. Bazı türler peritriş flagellası ile hareketliken, diğerleri hareketsizdirler (*Klebsiella* ve *Shigella*). Spor oluşturmazlar (Paterson ve ark., 2004).

Fakültatif anaeropturlar. En iyi CO<sub>2</sub>'siz ortamda 35-37 °C'de ürerler. Ancak bazı türler (*Serratia* ve *Yersinia*) 1-5 °C gibi düşük ısılarda da üreyebilirler. Koloniler ise 18-24 saat arasında görünür hale gelir (Erdem, 1999). *Klebsiella pneumoniae*, fagositozdan koruyan ve aderansında yardımcı olan mukoid polisakarit kapsülünden dolayı büyük ve nemli koloniler oluştururlar. *E. coli*'nin en önemli özelliklerinden biri 44 °C'de de üreyebilme kabiliyetidir. Jelozda yuvarlak, hafif kabarık, düzgün 1-2 mm çapında S tipi koloni yaparlar. *Enterobacter*'ler EMB Agar besiyerinde pembe mukoid, 3-4mm çapında koloniler oluştururlar (Bilgehan, 1992).

### 2.6. Bakteri Genomu ve Gen Transferi

Bir organizmanın genetik materyalinin toplamı "genom" olarak tanımlanır. Bakteri genomu, tüm esansiyel genleri taşıyan bir tek kromozom ve genellikle non-esansiyel genleri taşıyan bir veya daha çok farklı plazmit içerir. Birçok plazmid, plazmidler arasında ve plazmidlerle kromozom arasında yer değiştirebilen hareketli DNA dizileri

(transpozonlar) taşır. Gerçekten transpozonlar birçok antibiyotik direnç genine sahiptir ve bazı plazmidlerin kromozoma integre olma yeteneğinden sorumludur (Strohl, 2006).

Genler bir bakteri hücresinden diğerine üç ayrı mekanizma ile nakledilebilir. Bunlar; konjugasyon, transdüksiyon ve transformasyondur. Nakledilen DNA parçası genellikle bir replikasyon orjini içermediğinden, nakledilen DNA replikasyon orjinine sahip olan alıcı kromozomla birleşirse, taşıdığı genler yeni nesillere geçebilir (Strohl, 2006).

### **2.6.1. Konjugasyon**

Bakteri hücreleri arasında temas kurulması sonucunda, bir hücreden diğerine genlerin nakledilmesi sürecine “konjugasyon” denir. Verici( erkek) ve alıcı( dişi) hücreler birbirlerine tutunmak için uygun bir genetik yapıya ve hücreler arasında, içinden DNA’nın geçebileceği bir sitoplazmik köprü oluşturma yeteneğine sahip olmalıdır. Bu sürecin gerçekleşmesi ise Seks pilusu denilen saç benzeri yapılar ile sağlanır. Seks piluslarının, potansiyel alıcı hücreye tutunduktan sonra, pilusun alıcı hücrenin içine doğru çekildiği ve böylece alıcı ve verici hücre arasında sıkı bir temas sağlandığı düşünülmektedir.

Bazı büyük plazmitler (konjugatif plazmitler) seks piluslarının sentezinde görev alan genlerde dahil olmak üzere, kendilerinden başka hücrelere transferini destekleyici aktivite gösteren genleri taşırlar. Escherichia coli’nin F plazmidi prototiptir. Eğer F plazmidi taşıyan hücreler, F plazmidi olmaya çok sayıda hücre ile karışık olarak bulunurlarsa, F plazmidi hızla yayılır ve ve topluluktaki tüm hücreler F plazmidi taşır (Strohl, 2006).

### **2.6.2. Transdüksiyon**

Bakteri hücreleri arasında tema olmaksızın, bir fajın vektörlüğü ile genlerin bir hücreden diğerine nakledilmesine “transdüksiyon” denir. Genel ve özel transdüksiyon olmak üzere iki farklı transdüksiyon vardır. Her iki transdüksiyonda da rol oynayan faj bir tempere fajdır, yani fajı alan hücre canlılığını sürdürür.

Genel transdüksiyonda; bakteri kromozomunun fajın indüklenmesine bağlı olarak kopması sonucunda, faj DNA’sı yerine bakteri DNA’ sının rastgele bir parçası, fajın protein kılıfı tarafından tesadüfi olarak çevrelenir. Ender rastlanan bu faj partikülü bir hücreyi infekte ettiği zaman, bakteri DNA parçası da hücreye nakledilir. Bu parça rekombinasyonla alıcı bakterinin kromozomuna integre olursa, alıcı hücrede kalıcı bir transdüksiyon gerçekleşir.

Özel transdüksiyonda ise sadece belirli bakteri genleri transdüksiyona uğrar. Bu genler transdüksiyonu yapan fajın bulunduğu profaj yerleşim yerine yakın olan bakteri kromozomu genleridir. Faj, bakteri kromozomundaki genleri ender ve anormal bir koparma yolu ile kazanır. Genellikle özel transdüksiyonda rol oynayan bir faj partikülü, hem faj DNA' sını ve hem de bakteri DNA' sını bir tek molekül halinde içerir. Bu birleşik molekül, infekte edilen başka bir hücrede; faj DNA' sının bir profaj haline gelme sürecinde olduğu gibi alıcı kromozoma integre olur (Strohl, 2006).

### 2.6.3. Transformasyon

Transformasyon genlerin bir hücreden diğerine çıplak DNA aracılığı ile nakledilmesidir. Transformasyonun keşfedilmesi ile birlikte kalıtsal materyalin DNA olduğu kanıtlanmıştır. Bir hücrenin transforme olma yeteneğinin, DNA' nın hücre zarından geçebilmesine, bununda, hücrenin geçici fizyolojik durumuna bağlı olduğunu göstermiştir. Serbest çift zincirli DNA alıcı hücreye girerken, iki zincirden biri nükleazlar tarafından parçalanır. Kalan tek zincir kromozomda homolog dizinin bulunduğu bölgeyi arar. Eğer böyle bir sıra bulunursa; hücreye giren zincir, kompleks bir “kes ve yapıştır” süreci ile alıcı hücreye ait iki zincirden birinin yerini alır (Strohl, 2006).

### 2.6.4. Transpozisyon

Transpozisyon ile transpozon veya transpozabl elementler diye bilinen kısa DNA sekansları aktarılabilir. Özellikle Gram-olumlu bakterilerde bulunan konjugatif transpozonlar, plazmid olmaksızın gen aktarımını sağlayabilir. Direnç genleri özellikle transpozonlarca taşınmakta ve düşük yoğunlukta antibiyotik varlığında bu taşınma hızlanmaktadır (Yüce, 2001).

## 2.7. Ekstrakromozomal Genetik Elemanlar

### 2.7.1. Plazmidler

Plazmidler konak kromozomundan bağımsız olarak replike olabilen genetik elemanlardır. Hücre içerisinde genellikle halkasal DNA olarak bulunurlar. Plazmidlerle kromozom arasındaki temel fark, plazmitlerin sadece zorunlu olmayan genleri taşırlar. *Escherichia coli* suşlarında doğal olarak bulunan 300' den fazla plazmit izole edilmiştir.

Hemen hemen bütün plazmitler çift zincirli DNA taşırlar. Plazmidlerin çoğu halkasal olmasına rağmen doğrusal plazmidlerin de olduğu bilinmektedir. Doğal plazmidlerin büyüklükleri yaklaşık olarak 1 kilobaz ile 1 megabaz arasında değişiklik

gösterir. Tipik bir plazmit, kromozom büyüklüğünün %5'inden daha küçük olan çift zincirli halkasal bir DNA molekülüdür. Hücreden izole edilen plazmit DNA' ların çoğu süpersarmal yapıdadır. Bir DNA'nın hücre içinde kazanabileceği en kompakt yapı budur.

Plazmid replikasyonunda görev alan enzimler normal hücre enzimleridir. Bundan dolayı, plazmidin kendisi tarafından taşınan genler, öncelikle replikasyona başlama işlemlerinin kontrolü ve replike olmuş plazmitlerin kardeş hücreler arasında paylaşımı ile ilgilidir. Ayrıca, farklı plazmidlerin hücre içindeki sayıları da farklıdır. Bu sayı kopya sayısı olarak adlandırılır. Bazı plazmitler hücrede sadece 1-3 kopya halinde bulunurken, diğer plazmidler 100 kopyadan fazla bulunabilirler. Kopya sayısı plazmid üzerinde bulunan genler ve konak plazmit arasındaki etkileşim tarafından kontrol edilir.

Gram negatif bakterilerde plazmid replikasyonu, replikasyon orjininden başlar, halka etrafında çift yönlü ilerler ve teta ara ürününü oluşturur. Ancak bazı plazmidler tek yönlü replikasyon mekanizmasına sahiptir. Plazmid DNA'larının boyutları kromozoma kıyasla küçük olduğu için, replikasyonun tamamı çok hızlı bir şekilde, belki hücre bölünme döngüsünün yaklaşık olarak 10'da 1'i veya daha kısa zamanda gerçekleşir.

Gram pozitif bakterilerde bulunan plazmitlerin çoğunun replikasyonu ise,  $\theta$ X174 fajında olduğu gibi dönen çember mekanizması ile gerçekleşir. Bu mekanizma öncelikle tek-zincirli bir ara ürün verir. Bu nedenle bu plazmidler bazen tek zincirli DNA plazmidleri olarak adlandırılırlar. Doğrusal plazmidlerin çoğu, DNA sentezinin başlamasında rol alan ve her bir zincirin 5<sup>1</sup> ucuna bağlanan bir proteini içeren mekanizma ile replike olur (Martinko, 2010).

### 2.7.1.1. Plazmid Çeşitleri ve Biyolojik Önemi

Çeşitli *E.coli* suşlarında birçok plazmid tipine rastlanmıştır. Ancak en çok bilinenleri, F, R ve Col plazmidleridir. Bu plazmidler, bazı özellikleri paylaşırlar da, önemli farklılıklara sahiptirler.

#### 1)Fertilite veya Seks Plazmidleri:

Bu plazmidler, konakçılarına, kromozomal genlerini F plazmidinden yoksun hücrelere aktarma yeteneği kazandırır. F plazmidini, bu gibi durumlarda kendisini de alıcı hücreye transfer edebilir.

#### 2) R Direnç Plazmidleri:

R plazmidleri, konakçıyı bir veya daha fazla antibiyotiğe karşı dirençli kılar. Bu tip plazmidler, transfer edilerek başka hücrelerin de direnç kazanmasına yol açabilirler.

### 3) Col Kolisinojenik Plazmidler:

Col plazmidleri, “kolisin” adını alan bir grup proteinin sentezinden sorumlu genleri içerirler. Kolisinler, yakın suşlardan aynı tip Col plazmitini taşımayan bakterileri öldürme özelliğindedirler. Öldürme mekanizması, Col plazmidinin tipine göre değişiklik gösterir.

Plazmidler konak için esas olan genleri taşıyamalarına rağmen, hücrenin fenotipi üzerinde önemli etkileri olan genleri taşıyabilirler. Bazı durumlarda bakterinin ekolojisi için temel özellikleri kodladığı düşünülen genler plazmidler üzerinde yer almaktadır. Örneğin *Rhizobium*'un bitkilerle etkileşerek azot bağlayan kök yumruları oluşturma yeteneği, belirli plazmid işlevlerini gerektirir. Diğer plazmidlerin bir hücreye örneğin zararlı kirleticileri parçalama yeteneği gibi özel metabolik özellikler kazandırdığı gösterilmiştir. Gerçekten de, plazmidlerin bakterilere bazı özel yetenekler kazandıran en önemli mekanizma olduğu görülmektedir. Pek çok durumda bu özellikler yatay gen akışı ile aktarılmaktadır. Bir plazmid üzerinde bulunacak genleri kısıtlayan tek koşul bunların kendi replikasyonunu ve konağın kendi yaşamını engelleyen türden olmamalarıdır. Plazmidlerin prokaryotlara kazandırdığı fenotiplerden bazıları aşağıdaki gibidir (çizelge 2.2) (Madigan ve ark., 2010).

Çizelge 2.2. Plazmidlerin Prokaryotlara Kazandırdığı Fenotiplerden Bazıları

<b>Fenotip Sınıfı</b>	<b>Organizmalar</b>
<b>Antibiyotik Üretimi</b>	<i>Streptomyces</i>
<b>Konjugasyon</b>	<i>Escherichia, Pseudomonas, Rhizobium, Staphylococcus, Sulfobolus, Vibrio</i>
<b>Fizyolojik İşlevler</b>	
Okta, kafur, naftalen yıkımı	<i>Pseudomonas</i>
Herbisitlerin yıkımı	<i>Alcaligenes</i>
Bütanol ve aseton oluşumu	<i>Clostridium</i>
Laktoz, sükröz veya üre kullanımı ve azot fiksasyonu	Enterik bakteriler
Nodülleşme ve simbiyotik azot fiksasyonu	<i>Rhizobium</i>
Pigment üretimi	<i>Erwinia, Staphylococcus</i>
<b>Direnç</b>	
Antibiyotik direnci	<i>Campylobacter</i> , Enterik bakteriler,
Kadmiyum, kobalt, civa, nikel, ve çinko direnci	<i>Neisseria</i>
Bakteriyosin direnci ve sentezi	<i>Pseudomonas, Staphylococcus, Listeria, Alcaligenes, Acidocella</i>
<b>Virülens</b>	
Konak hücrenin istilası	<i>Salmonella, Shigella, Yersinia</i>
Koagülaz, hemolizin, enterotoksin	<i>Staphylococcus</i>
Enterotoksin, K antijeni	<i>Escherichia</i>
Bitkilerde tümör oluşumu	<i>Agrobacterium</i>



Çok sayıda bakteri ürettikleri proteinler ile yakın akraba türleri ve hatta aynı türün farklı suşlarını öldürmekte veya büyümelerini engellemektedir. Bu maddelere “bakteriyosin” adı verilir ve bunlar antibiyotiklere göre daha dar bir alanda aktivite gösterirler. Bakteriyosinleri ve bunların işlenerek taşınmasında görev alan proteinleri kodlayan genler genellikle bir plazmit ve ya bir transpozon üzerinde taşınır. Bakteriyosinler kendisini üreten organizmaların isimlerine göre adlandırılırlar. Örneğin *Escherichia coli*’deki Col plazmitleri. (Madigan ve ark., 2010).

*Escherichia coli*’deki Col plazmidleri çeşitli kolisinler üretir. Bir hücreden salınan kolisinler duyarlı hücrelerin duyarlı hücrelerin yüzeyinde bulunan reseptörlere bağlanır. Kolisin bağlanan reseptörlerin hücredeki normal işlevi, büyüme faktörü veya mikrobesein gibi değişik maddelerin dış zardan (lipopolisakkarit tabaka) taşınmasıdır. Kolisinler bazı temel hücrelere işlevlerini bozarak, hücreyi öldürürler. Kolisin E2 DNA’ yı parçalayan bir endonükleaz, kolisin E3 ise 16S rRNA’da özgül bölgeleri kesen ribozomları inaktive eden bir endonükleazdır. Col plazmidleri hem konjugatif ve hem de non-konjugatif olabilirler. (Madigan ve ark., 2010).

Günümüzde genetik mühendisliği ile yapay olarak üretilen plazmidlerde mevcuttur. Bu plazmidlere çok çeşitli kaynaklardan elde edilen genleri sokmak mümkün olduğundan, türler arası bariyer olmadan genetik transfer yapmak mümkündür. Ayrıca, yapay olarak sentezlenen genler de plazmide aktarılabilir. Yapay plazmidler için gerekli olan unsurlar şunlardır; kendi replikasyonlarını kontrol eden genlerin bulunması, eğer konjugatif iseler bu işlemi yürütecek transfer (tra) fonksiyonunu barındırmaları, seçilen konakta kararlı bulunabilme özelliği taşıması (Madigan ve ark., 2010).

### 2.7.2. Transpozonlar

Bir replikon (bakteri DNA’sı, plazmid) üzerinde bulunan iki uçlarından zıt dizi düzeninde tekrarlanmış sıralarla sınırlandırılmış ve değişik bir fonksiyonu kodlayan, replikon üzerinde ya da replikonlar arası yer değiştirme yeteneğindeki DNA parçalarına transpozon denir (<https://www.anadolu.edu.tr/aos/kitap/EHSM/1213/unite04.pdf>).

Tn’lar kendi translokasyonlarından sorumlu transpozaz enzimlerini kodlayan genlerini, antibiyotik direnç genlerini ve ayrıca bazı katabolik genleri taşırlar. Transpozisyon en etkili DNA alışveriş yöntemlerinden biri olup alıcı hücrede kimi zaman replikon füzyonu, delesyon veya inversiyon gibi DNA’da çeşitli yeniden düzenlenmelere yol açar (Helmuth, 2000).

### 2.7.3. İntegronlar

İntegronlar ise Tn 21 transpozon ailesinin bir parçası olarak veya geniş konak spektrumlu plazmitlerde bulunan DNA bölgeleridir. Bilinen üç grup integrondan, hastalık etkeni suflar açısından en önemlisi Class I integron'dur. Bu integronda, gen kasetlerindeki genlerin ve site-spesifik integrasyondan sorumlu genlerin ekspresyonunu sağlayan genler ve ayrıca dezenfektan direncinden sorumlu genlerle, özellikle class I integron varlığı için bir gösterge olan sulfonamid direnç geni yer alır. İntegronlar plazmit kökenli olmakla birlikte, özellikle belirli bazı faj tiplerinde olmak üzere, *Salmonella*'larda kromozoma integre olmuş olarak bulunabilirler. Kromozoma integrasyon, direnç genlerinin antibiyotiklerin selektif baskısı olmasa bile devamlılıklarının nedenidir (Daly, 2000; Helmuth ve ark., 1986).

*Salmonella*'larda streptomisin, kloramfenikol, tetrasiklin, ampisilin, sulfonamid, beta-laktam direnç genleri integronda yer alırlar. Bu genlerin kaynağı bir transpozon, faj veya patojenite adası da olabilir (Helmuth, 2000).

### 2.8. Mikroorganizmaların Yaşamında Metallerin Rolü

Birçok ağır metal, d orbitallerinin tamamen dolu olması nedeniyle geçiş elementleridir. Bu d orbitalleri ağır metal katyonlarına redoks tepkimelerine girebilen veya giremeyen herhangi bir bileşik ile karmaşık yapı oluşturmasını sağlamaktadır. Bu nedenle, ağır metaller birer iz element olarak birçok karmaşık biyokimyasal reaksiyonda önemli rol oynamaktadır (Nies, 1999).

Bruins (2000)' e göre, mikroorganizmaların yaşamları boyunca birtakım gereksinimleri için metal iyonlarına ihtiyaç duyarlar. Kalsiyum, kobalt, bakır, krom, demir, potasyum, magnezyum, manganez, sodyum, nikel, çinko gibi bazı metaller esansiyeldir ve besinsel rolleri vardır. Gümüş, alüminyum, kadmiyum, altın, civa ve kurşun gibi metallerin ise biyolojik rolleri yoktur ve esansiyel değildirler. Esansiyel metaller; biyokimyasal reaksiyonları katalizlemek, protein yapısını ve bakteri hücre duvar yapısını stabilize etmek, osmotik dengeyi korumak, gen ekspresyonunu düzenlemek, biyomolekülleri aktive etmek, elektron alıcısı veya vericisi olarak enerji metabolizmasında önemli rol oynamaktadırlar. Demir, bakır, nikel gibi esansiyel geçiş metalleri redoks tepkimelerinde rol alırken, magnezyum ve çinko gibi esansiyel metaller elektrostatik güçleri sayesinde çeşitli enzimleri ve DNA'yı stabilize etmektedirler. Demir, nikel, magnezyum ve kobalt, düzenleyicilik görevi olan kompleks moleküllerin yapısında yer almaktadır.

Bakteriler açısından en önemli besin maddelerinden birisi demirdir. Demir bakterilerin metabolizmaları ve üremeleri için gerekli bir gelişme faktörüdür. Demir, sahip olduğu geniş oksidasyon-redüksiyon potansiyeli sayesinde metabolik birçok olayda önemli rol oynamaktadır. Bakteriler üreme ortamlarında 0.4-4 µmol/L oranında demir olmasını isterler. Serbest demir ferrik formda ( $Fe^{+3}$ ) olup, primer olarak yüksek oranda çözülmez hidroksil, karbonat, fosfat şeklinde bulunur. Serbest demir iyonu konsantrasyonu kan, lenf, ekstrasellüler doku ve eksternal sekresyonda son derece düşük olup 1018mol/L  $Fe^{+3}$  düzeyindedir. Serbest iyonik demir, konak hücrede bulunan demir-bağlayan ve taşıyan proteinlere bağlı olarak bulunur. Bu proteinler kan ve lenf için transferin, ekstrasellüler sekresyon için laktoferrindir. Transferrin ve laktoferrin  $Fe^{+3}$  için yüksek düzeyde afiniteye sahiptir. Normal demir metabolizmasında kısmen doymuş halde bulunurlar. Bu nedenle normal koşullarda konak demir metabolizması, bakteri için yeterli demiri sunmaz. Bakteriler kendilerine yeterli miktarda demir temin etmek için çeşitli yöntemler geliştirmişlerdir. Bakterilerin çoğunluğu, düşük afiniteli demir asimilasyon sistemlerine sahip olup bu sistemler sayesinde demirin polimerik formlarını kullanabilirler. Diğer bakteriler ise, yüksek afiniteli demir asimilasyon sistemine sahiptirler. Bu sistem "siderofor" olarak isimlendirilen düşük molekül ağırlıklı taşıyıcı proteinlere sahiptir. Sideroforlar ferrik demire özgül olup bakteri hücresinin demir ihtiyacını karşılarlar. Siderofor üretimi ortamda bulunan demir konsantrasyonuna genetik bir cevap şeklinde gelişir. Sideroforun görevi ortamdaki demiri yakalamaktır. Siderofor demiri bağladığı zaman bakteri membranında bulunan kendisine özgül reseptörleri sayesinde demiri hücre içine sokar. Membranda bulunan demir reseptörleri düşük demir konsantrasyonunda sentezlenir. Hayvan ve insanlarda da fazla miktarda demir vardır ancak bu demir hemoglobin, myoglobin gibi hücre içindedir. Bu durum bakteriler için uygun değildir. Konakçıda demir serbest değildir çeşitli doku, kan ve salgılarda bağlı halde bulunur. Kandaki demir hemoglobin ve transferrine, süt ve diğer salgılardaki demir ise laktoferrine bağlı olarak bulunur. Patojen bakteriler konakçıda canlı kalabilmek sideroforlar aracılığı ile demiri bağlarlar. Bu nedenle siderofor bakterilerde önemli bir virülens faktördür. "Enterochelin" *Escherichia* ve *Salmonella* türleri tarafından üretilen bir siderofordur (Ülgen, 2011).

*A.baumannii* suşları, farklı demir kaynaklarını kullanabilme yeteneğine ve konağa kolonize olmayı sağlayan bağımsız demir kazanım sistemine sahiptir. Bu bakteriler, demir kazanım kapasitelerindeki farklılığa göre siderofor aracılı ve/veya hemin kazanım fonksiyonlarını eksprese etmektedir. *A.baumannii*'nin siderofor aracılı kazanım sistemi olan asinetobaktin (acinetobactin) ilk kez *A.baumannii* 19606 suşunda tanımlanmış ve

bunun hemin kazanım sistemlerinin ekspresyonuna da katkı sağladığı bildirilmiştir. Üretildikten sonra sideroforlar çeşitli bakteriler için tanımlanan antibiyotik direncindeki atım pompaları ile benzer mekanizma ile hücre dışına salınmaktadır (Aşık, 2011).

Yapılan moleküler çalışmalar, *A.baumannii* kromozomunda asinetobaktin ile ilişkili 18 açık okuma bölgesi (ORF) içeren bir bölge olduğunu göstermiştir. Bu bölgede yer alan *bauA* ve *basD*, sırasıyla asinetobaktin transportu ve biyosentezinden, *barA* ve *barB* ise siderofor salınımından sorumlu genlerdir. Klinik izolatların analizi, farklı türlerin farklı demir alım sistemi eksprese etme ve farklı biyofilm yapıları oluşturma yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir. Nitekim siderofor biyosentezi ve salınımı ile ilgili gen delesyonları olan suşlarda hemin kazanım sistemlerinin devreye girdiğinin gösterilmesi, *A.baumannii*'nin demir ihtiyacını gidermede oldukça başarılı olduğunu vurgulamaktadır (Aşık, 2011).

Potasyum ve sodyumun ise hücre içi osmotik basıncın düzenlenmesinde rolü vardır.  $Co^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Ni^{2+}$  ve  $Zn^{2+}$  gibi esansiyel metal iyonlarının yüksek konsantrasyonu ve esansiyel olmayan metal iyonları mikroorganizmalar üzerinde toksik etki yaratmaktadır. Esansiyel olmayan metal iyonları, esansiyel metal iyonlarının bağlandığı doğal bağlanma bölgelerine bağlanarak veya ligandlar ile karşılıklı etkileşime girerek toksik etkilerini göstermektedirler. Bu tür metallerin, tiol (-SH) içeren gruplara veya oksijen bölgelerine olan affiniteleri, esansiyel metallerin affinitesinden daha yüksektir. Metal iyonları yüksek konsantrasyonlarda canlı üzerine toksik etki de göstermektedir. Toksik etkileri arasında nükleik asitlerin ve proteinlerin yapısında değişikliklerin meydana gelmesi, oksidatif fosforilasyonu etkilemeleri ve osmotik dengenin bozulması sayılabilir (Gülcan, 2006).

### 2.9. Mikrobiyal Metal Direnç Mekanizmaları

Metallere karşı direnç mekanizmaları prokaryotik hayatın başlaması ile ortaya çıkmıştır. (Sevgi E.,2007). Guzzo ve ark.,(1999)' a göre toksik metallere karşı direnç mekanizmalarının geliştirilmesine yol açan etmen, mikroorganizmaların bulunduğu çevrede, toksisiteye sebep olan metalin varlığı ve bu metalin organizma üzerinde yarattığı stresdir (Gülcan, 2006). Ji ve Silver (1995)'e göre bu dirençliliğin çoğu plazmid aracılığı ile sağlanmaktadır. Yapılan çalışmalarda mikroorganizmalardaki ağır metal direnç mekanizması ile antibiyotik direnç mekanizması arasında bir bağlantı olduğu ortaya konmuştur. Çünkü her iki mekanizmada da mikroorganizmalar arasında konjugasyon ya da transdüksiyon ile genetik madde aktarımı gerçekleşmektedir. Bazı mikroorganizmalarda bu iki dirençlilikte aynı plazmid kökenli olabilmektedir. Bakterilerdeki metal dirençliliğinin ise antibiyotik kullanımından daha önce ortaya çıktığı bildirilmiştir (Sevgi E.,2007).

Mikroorganizmalardaki metal dirençlilik mekanizmaları;

- 1) Geçirgenlik bariyeri
- 2) Metallerin hücreden dışarıya bırakılması (Efflux pompa sistemi)
- 3) Ekstraselüler alıkonma
- 4) Proteinlerin metal bağlama özelliği sayesinde metallerin hücre içerisinde tutulması.
- 5) Metallerin enzimatik detoksifikasyon ile daha az toksik hale getirilmesi
- 6) Hücresel hedeflerin metal duyarlılıklarının azaltılması

gibi mekanizmalar ile mikroorganizmalar metallere direnç göstermektedirler (Silver 1992).

Metal iyonları, dış membrana ve kapsüle non-spesifik olarak bağlanabilmektedir. Bu bağlanma, dış membranda yer alan  $-NH_2$ ,  $-SH$ ,  $-OH$ ,  $-SO_3H$ ,  $-COOH$  ve  $-PO_3H$  grupları ile metal iyonları arasındaki spesifik olmayan etkileşim ile gerçekleşmektedir. Bakterilerin doğal olarak sahip oldukları ekstraselüler polisakkarit tabaka, metal iyonlarını biyosorblama yeteneğine sahiptir ve bu sayede bu iyonların hücre komponentleri ile etkileşime girmesi önlenmektedir. Bağlanma bölgesinin doygunluğa ulaşmasından dolayı metale karşı sınırlı bir koruma sağlanmaktadır. Metal iyonlarını bağlayabilme özelliğine sahip bakterilere *Klebsiella aerogenes*, *Pseudomonas putida* ve *Arthrobacter viscosus* örnek olarak verilebilir (Gülcan, 2006).

Geçirgen bariyer sayesinde metaller hücre dışında bırakılırlar ve bu durum mikroorganizmanın hücre zarında, duvarında veya membranında bir takım değişiklikler meydana getirilmektedir ve bu mekanizma sayesinde mikroorganizma metale duyarlı olan önemli hücresel komponentlerini korur. Örneğin, *Escherichia coli* ile yapılan bir çalışmada bakterinin membran kanal proteini olan porinlerin sayısını azaltmak suretiyle gümüş iyonlarının hücre içine girişinin engellendiği bildirilmiştir (Li ve ark., 1997).

*Enterococcus hirae*'deki *Cop* sistemi geçirgenlik bariyeri ile metallerin hücre dışında tutulmasını sağlar. *Cop* sistemi yapısal özellikte *Cop A* ve *Cop B* proteinlerini içerir. *Cop B*  $Cu^+$  ve  $Ag^+$ 'nin hücre içerisine geçirgenliğini engelleyerek bakteride bakır ve gümüş iyonlarına karşı direnç sağlar. *Cop* sistemi ayrıca düzenleyici özelliği olan *Cop Y* ve *Cop Z* proteinlerini de içerir. *Cop Y* ve *Cop Z*,  $Cu^{+2}$  direncinden sorumludur. Hücre zarında bir takım değişiklikler meydana getirerek  $Cu^{+2}$ 'nin hücre içerisine girmesine engel olurlar (<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/initiative2006/pdf/TsaiLectSum.pdf>).

Bazı araştırmacılar bakterilerde bakır dirençliliğinin temelini periplazmik bağlanmaya dayandığını söylemektedirler.  $Cu(II)$  dirençliliği *Cop* operonda yer alan *copA*, *copB*, *copC* ve *copD* olarak adlandırılan genler tarafından sağlanmaktadır. Bu

genlerden, *copA* ve *copB* kısmi dirençlilik sağlarken *copC* ve *copD* genleri Cu(II)' ye karşı tam dirençlilik sağlamaktadır. *CopA* ve *copC* proteinleri iç ve dış membran arasında, *copB* proteinleri ise dış membranda bulunmaktadır. Bu proteinlerin lokalizasyonu, dirençliliğin ya periplazmik bağlanmadan veya ekstrasellüler ayırmadan kaynaklandığını desteklemektedir (Silver, 1998).

McEntee ve ark.(1986)'a göre *Staphylococcus aureus*'un bazı türlerinde, peniklinaz'ın kodlarını bulunduran plazmidler, hücre membranı değişimi aracılığı ile Cd<sup>2+</sup> geçirgenliğini engellemede diğer metaller kadar iyi direnç oluşturmada araç olabilmektedir. Budurum metal iyonlarının girişini engellemek için zardaki uyumsal değişimler olarak örülmektedir. Bu Cd<sup>2+</sup>'un 0,01-0,1 nM seviyelerinde genelde düşük düzeyde direnç olarak görülür (Sevgi, 2007).

Mikroorganizmaların metal uzaklaştırmasında kullandığı mekanizmalardan bir tanesi de metallerin hücre dışına aktif transportudur. Bu mekanizma, kromozomal ya da plazmid kodlu olabilir. Bakterilerdeki arsenat, kadmiyum, bakır gibi metallere karşı direnç bu mekanizma ile gerçekleşmektedir. Mikroorganizmalar bu mekanizma sayesinde toksik olan metalleri sitoplazmalarından uzaklaştırırlar. Esansiyel olmayan metaller ATP'ye bağımlı veya ATP az bağımlı olmayan besin taşıma sistemleri aracılığı ile hücre içerisine girebildikleri gibi hızlı bir şekilde hücre dışına taşınmaktadırlar (Silver,1998; Mies ve Silver,1995).

Bakterilerde kadmiyum direnci ilk kez *Staphylococcus aureus*'ta tanımlanmıştır. Bakteri üzerinde bulunan plazmid PI258, kadmiyum direncinden sorumlu *Cad A* ve *Cad B* proteinlerini içermektedir. Benzer duruma *E. coli*' de de rastlanmıştır. *E. coli* *Cad A* ve *Cad C* olmak üzere iki protein içermektedir. *Cad A* hücre için gerekli olmaya toksik metalleri ATP az' bağımlı pompa sistemi ile sitoplazmadan uzaklaştırır. *Cad C* ise operonda bulunan düzenleyici rolü olan bir proteindir. *E.coli*'de tanımlanan kromozomal *zntA* ise *Cad A*'ya benzer özellikte olup Cd<sup>+2</sup> ve Zn<sup>+2</sup> direncinden sorumludur (<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/initiative2006/pdf/TsaiLectSum.pdf>).

Mikroorganizmalar tarafından üretilen sistein zengin bazı proteinler (metalloprotein) sayesinde toksik olan bazı metaller sitoplazmada biriktirilirler. Mikroorganizma için önemli olan hücre bileşenleri bu proteinler sayesinde metalin etkisinden korunmaktadırlar. Genellikle Cd(II), Cu(II) ve Zn(II)'ye karşı dirençlilikte bazı mikroorganizmalar bu yolu seçmektedir (Nies ve Silver, 1995). Bakterilerde proteinler aracılığı ile metal bağlama mekanizma ile genellikle Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> ve Zn<sup>2+</sup> metalleri alıkonmaktadır (Nies ve Silver, 1995).

*Pseudomonas* türlerinde de sisteince zengin bir protein sentezlenmekte ve hücre içine giren toksik metaller bu proteinlere bağlanmak suretiyle bakteri toksik metallere karşı direnç kazanmaktadır. Yapılan bir çalışmada *Pseudomonas putida*'nın da metalloprotein ürettiği tespit edilmiştir (Bruins ve ark., 2000). Mergey (1991), yaptığı bir çalışmada *P. putida*'da metallothioneinlere benzeyen 3 farklı sistein bakımından zengin protein üretildiğini bildirmiştir. *Mycobacterium scrofulaceum*'da siyah bakır sülfat formunun çökmesinde alikoyma aracılığıyla ile hücre içi birikimi de ispatlanmıştır (Sevgi, 2007).

Metaller, enzimlerin ve proteinlerin yapısındaki –SH gruplarına bağlanarak bu molekülleri inaktive edebilmektedirler. Civa bu özelliğinden dolayı toksik metal olarak kabul edilmektedir. Bazı bakteri grupları civayı enzimatik detoksifikasyon ile daha az toksik hale getirmektedirler. Bazı bakteriler Hg(II) dirençliliği sağlayan ve bir operon (mer operonu) tarafından kodlanan gen setlerine sahiptir. Bu operon; sadece Hg(II)'yi detoksifiye etmekle kalmayıp, aynı zamanda civayı hücre dışına tasımakta ve kendi kendini regüle edebilmektedir. Mer operonu, organik civa liyaz ve civa redüktaz olmak üzere iki enzim kodlamaktadır. Organik civa liyaz enzimi C-Hg bağını kırarken, civa redüktaz Hg(II)'yi Hg(0)'a (metalik civa) indirgemektedir (Brown ve ark., 2002).

*E. coli* R733' de bulunan *Ars* operonu; *ars R* ve *ars D* diye tanımlanan iki tane düzenleyici protein içerir. Bunların dışında da *Ars A*, *Ars B* ve *Ars C* olarak tanımlanan üç tane yapısal protein içerir. *S.aureus*'da *Ars* operon sistemine sahiptir. Ancak *S.aureus*, *E. coli* R733' e göre *Ars D* ve *Ars A* proteinlerinden yoksundur. *Ars A*, *Ars B*, *Ars C* proteinleri arsenat ve antimanite asidini stümüle eder (<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/initiative2006/pdf/TsaiLectSum.pdf>).

Coral ve ark. (2005) Sofulu (Adana) arazisinden izole ettikleri 15 adet *Enterobacter* spp.' Nin  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Cr^{+2}$  ve  $Ni^{+2}$  iyonlarına karşı gösterdikleri metal toleransını incelemişlerdir. Araştırmacılar Ent-5 adı verdikleri izolatin bakıra, Ent-7, Ent-15 ve Ent- 5 izolatlarının nikel ve bakıra dirençli olduğunu ve genel olarak izolatların en fazla bakıra dirençli olduğunu tespit etmişlerdir. Bakterilerin %33'ü 25 mM konsantrasyonunda bakıra, %40'ı 16 mM konsantrasyonda nikel, %46' sı 14 mM konsantrasyonda kadmiyuma ve %33'ü 16 mM konsantrasyonunda kroma dirençli çıkmıştır. Yaptıkları plazmid izolasyon çalışması sonucunda da Ent-5 suşuna ait farklı büyüklüklerde 4 adet plazmid saptamışlardır.

Habi ve Daba (2009), yaptıkları bir çalışmada Cezayir Irmak'ının üst sularından plazmid içeren, antibiyotik ve metal direncine sahip, *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteri izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacılar izole ettikleri *Enterobacter*

suşlarının 8 µg/ml ile 4096 µg/ml arasındaki değişen konsantrasyonlarda Hg<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup> ve Pb<sup>+2</sup> iyonlarına karşı dirençli olduğunu saptarken, en düşük direncin Cd<sup>+2</sup>'a ve en yüksek direncin ise Pb<sup>+2</sup> a olduğunu belirtmişlerdir.

Lu ve ark. (2005), yerel sanayi bölgesi atıksu arıtma tesisinden izole ettikleri *Enterobacter* sp. JI olarak adlandırdıkları bakteri suşu ile yaptıkları biyosorpsiyon çalışmasında; bakterinin %90 oranında Pb<sup>+2</sup>, Cu<sup>+2</sup> ve Cd<sup>+2</sup> iyonlarını absorbe ettiğini saptamışlardır. Araştırmacılar bakterinin bakır adsorpsiyon kapasitesini 32,5 mg/l ve kadmiyum adsorpsiyon kapasitesini ise 46,2 mg/l olarak tespit etmişlerdir. Ayrıca bunu Langmuir ve Freundlich izoterm modelleri ile de desteklemişlerdir.

İlhan ve ark. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada *Penicillium lanosa-coeruleum* biyokütlesi ile gerçekleştirilen Cu<sup>+2</sup>, Pb<sup>+2</sup> ve Ni<sup>+2</sup> ağır metallerinin biyosorpsiyonu üzerine çeşitli ön işlemler uygulamışlardır. Saf biyokütleyle kıyasla Cu<sup>+2</sup> ve Pb<sup>+2</sup> biyosorpsiyonu için ısıtma, NaOH ve deterjan ön işlemlerinin, Ni<sup>+2</sup> biyosorpsiyonu için ise glutraldehitin etkili olduğunu gözlemlemişlerdir.

Taghavi S ve ark. (2010) yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada *Enterobacter* sp., 638 suşunun bakır direncini 100 µM olarak saptamışlardır ve bu dirençliliğin genom üzerindeki genlerde taşındığını saptamışlardır. Diğer taraftan *Enterobacter* sp. 638 suşunun arsenata karşı gösterdiği direnci 200 µM olarak rapor etmişlerdir ve bakterinin bu direnci pENT 638-1 kodlu plazmid aracılığı ile sağladığını belirtmişlerdir. Araştırmacılar bakteri suşunda 500 µM ZnSo<sub>4</sub>, 500 µM CdCl<sub>2</sub>, 100 µM CoCl<sub>2</sub> ve 50 µM NiCl<sub>2</sub> konsantrasyonlarında ağır metal dirençliliği saptamışlardır ve bu ağır metallere karşı dirençliliği sağlayan genlerin ise bakteri kromozomu üzerinde lokalize olduğunu rapor etmişlerdir.

Haq ve ark. (1991) çalışmalarında kimya ve tekstil endüstri bölgelerinden 2 tane *Klebsiella* ve 1 tane *Enterobacter cloaceae* izole etmişlerdir. Araştırmacılar Cd<sup>+2</sup> iyonuna karşı bakterilerin oldukça yüksek tolerans gösterdiğini saptamışlardır. CMBL-Cd1 (*Enterobacter cloaceae*)'in Cr<sup>+2</sup> ve Pb<sup>+2</sup> iyonlarına karşı oluşturduğu maksimum direnç 800 µg/ml ve 1400 µg/ml olarak tespit edilmiştir. CMBL-Cd2 (*Klebsiella* sp.1)'nin Cr direnci 600 µg/ml ve Pb<sup>+2</sup> direnci 1200 µg/ml olarak belirlenmiştir. CMBL-Cd3 (*Klebsiella* sp-2)'nin ise Cr<sup>+2</sup> direnci 50 µg/ml ve Pb direnci 900 µg/ml olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar plazmid DNA izolasyon çalışmaları sonucunda ise CMBL-Cd2'ye ait pCBL3 ve CMBL-Cd1' ait pCB1 kodlu plazmidin bulunduğunu göstermişlerdir. Ayrıca içerikleri belirlenirken λ Hin III restriksiyon kesim enzimi ile muamele ederek sonuç almışlardır.



Mullen ve ark. (1989)' a göre, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* ve *Pseudomonas aeruginosa*;  $Ag^+$ ,  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  ve  $La^{+3}$  çözeltilerinden bu metalleri degrades etmektedir. Araştırmacılar 0,001 mM'dan başlayan ve 1 mM'a kadar olan konsantrasyonlarda kadmiyum ve bakır sorpsiyonu incelemiş ve bunu Freundlich izotermi ile tanımlamışlardır. *P. aeruginosa* ve *B. cereus*' ta 1mM'lık konsantrasyonda en fazla  $Cd^{+2}$  ve  $Cu^{+2}$  metallerinin atıldığını ve bu bakterilerde  $Ag^+$  ve  $La^{+3}$  metallerinin atılmasının daha az olduğunu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada Freundlich K sabitleri E.coli' de en etkin  $Cd^{+2}$  un çıkartılması olduğunu ve *B. subtilis*' te en çok  $Cu^{+2}$  biyosorpsiyonunun gerçekleştiğini rapor etmişlerdir. 1 mM'lık solüsyondan toplam  $Ag^+$ 'nin yaklaşık %89'u adsorplanırken,  $Cd^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$  ve  $La^{+3}$ , nin 1 mM'lık çözeltilerinden sırası ile sadece %12, %29 ve %27' sinin adsorbe edildiğini belirtmişlerdir. Elektron mikroskobu ile yaptıkları çalışma sonucu ise  $La^{+3}$ , in iğne şeklinde kristalize çökelti halinde hücre yüzeyinde biriktiğini göstermişlerdir.  $Ag^{+2}$ ,nin ise bazen hücre yüzeyinde kolloidal toplanmalar şeklinde ve bazen de sitoplazmada çökelti halinde toplandığı gözlenmiştir. Sorpsiyon lokasyonunun belirlenmesinde  $Cd^{+2}$  ve  $Cu^{+2}$ , nin yeterli elektron saçılımı sağlamadığı rapor edilmiştir. Bu metallerin bakteriler tarafından taşınımı sırası ile  $Ag^+$ ,  $La^{+3}$ ,  $Cu^{+2}$ ,  $Cd^{+2}$  şeklinde olduğunu bildirmişlerdir (Sevgi E.,2007).

Park ve ark. (2007), Cr (VI) giderimi için fermantasyon atığını biyokütle olarak kullanmışlardır ve çalışmada değişken parametreler arasında biyosorpsiyonu etkileyen en önemli parametrenin endüstriyel sülfirik asit veya atık asit kullanılarak kolaylıkla kontrol edilebilir olmasından dolayı pH olabileceğini belirtmişlerdir.

Ren ve ark.(2010), yakın zamanda yaptıkları bir çalışmada *Enterobacter cloaceae* subsp. *cloaceae* ATCC 13047 strainin genom sekans analizini gerçekleştirmişlerdir. *E. cloaceae* ATCC 13047 bakteri kültürünün genomunun 5,3 bp büyüklüğünde halkasal kromozoma sahip olduğunu ve 2 tane plazmidi olduğunu rapor etmişlerdir. Bu plazmidler 200,300 bp büyüklüğünde pECL-A ve 85,650 bp büyüklüğünde pECL-B' dir. pECL-A'nın 1 tane *cop* operonu, 2 tane *sil* operonu, 3 tane *ars* operonu, 1 tane *mer* operonuna sahip olduğunu belirtmişlerdir. Araştırmacılar bu operonların ağır metal dirençliliğinde rol oynadığını vurgulamışlardır.

Altalhi (2009), yaptığı bir çalışmada *Vitis vinifera* L.(asma) bitkisinin gövde ve yapraklarından 111 adet bakteri izole etmiştir. Araştırmacı yaptığı identifikasyon çalışması sonucunda bu bakterileri genus düzeyinde 14 gruba ayırmıştır. Bunları *Acetobacter* sp., *Acinetobacter* sp., *Citrobacter* sp, *Planococcus* sp, *Staphylococcus* sp. ve *Streptomyces* sp olarak tanımlamıştır. Çalışmada  $Hg^{+2}$ ,  $Cu^{+2}$ , $Cd^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Ni^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$  metallerinin

Minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC<sub>s</sub>) düzeyine bakılmıştır ve izolatların 10 µg/ml Hg<sup>+2</sup>, 50 µg/ml Cu<sup>+2</sup> ve Cd<sup>+2</sup>, 200 µg/ml Mn<sup>+2</sup>, Ni<sup>+2</sup> ve Zn<sup>+2</sup> direnci olduğu saptanmıştır. Araştırmacı yapraklardan izole ettiği bakterilerin %18,44'ünde, köklerden izole ettiği bakterilerin %11,83'ünde plasmid saptamıştır.

Deeb (2009), tarafından yapılan bir çalışmada *Eichornia crassipes*'in yapraklarından genusuna ait suşlar izole edilmiştir. Araştırmacı bu izolatları *Enterobacter* BN4, *Enterobacter* BN4M, *Enterobacter* BN4T olarak isimlendirilmiştir. Yapılan ağır metal dirençlilik çalışmasında izolatların MTC değerleri *Enterobacter* BN4 için 3mM Cd<sup>+2</sup>, 5 mM Zn<sup>+2</sup>, 6 mM Pb<sup>+2</sup> olarak rapor etmiştir. *Enterobacter* BN4M'nin MTC değerlerini 0,6 mM Cd<sup>+2</sup>, 0,7 mM Zn<sup>+2</sup>, 5.8 mM Pb<sup>+2</sup> ve *Enterobacter* BN4T'nin MTC değerlerini ise 3Mm Cd<sup>+2</sup>, 5 mM Zn<sup>+2</sup>, 6 mM Pb<sup>+2</sup> olarak belirlenmiştir. Araştırmacı bakterilerin plazmid izolasyonunu gerçekleştirdiğinde ise *Enterobacter* BN4 izolatına ait 1 adet pBN4 olarak adlandırdığı plazmid saptamıştır. Son olarak izolatlar ile yaptığı biyosorpsiyon çalışması sonucunda ise en fazla Pb<sup>+2</sup> nin, en düşük olarak da Cd<sup>+2</sup> nin adsorbe olduğunu rapor etmiştir.

Sar ve ark. (1999), *Pseudomonas aeruginosa* biyokütlesi ile Ni<sup>+2</sup> ve Cu<sup>+2</sup> biyosorpsiyonunu gerçekleştirdiklerinde, biyokütleyle ısıtma işlemi ve otoklavlama uygulanmasının her iki metalin biyosorpsiyonunu saf biyokütleyle oranla düşük düzeyde azalttığını, alkali ön işlem uygulamalarının arttırdığını rapor etmişlerdir. Ayrıca HCl ile uygulanan ön işlemin her iki metalin biyosorpsiyonunu da azalttığını bildirmişlerdir. Al-Qodah (2006), NaOH ve HCl ön işlemlerine maruz bırakılmış aktif çamur biyokütlesi ile gerçekleştirdiği Cu<sup>+2</sup>, Cd<sup>+2</sup> ve Ni<sup>+2</sup> biyosorpsiyonunda, izotermilerin NaOH ön işlemi>saf biyokütle>HCl ön işlemi ve Cu<sup>+2</sup>>Cd<sup>+2</sup>>Ni<sup>+2</sup> eğilimleri ile sonuçlandığını bildirdiği gözlenmiştir.

Mathema ve ark. (2011), Katmandu'daki Bagmati Irmak'ından HgCl<sub>2</sub>'ye karşı dirençli olan *Enterobacter* sp., *Streptococcus* sp. ve *Pseudomonas* sp. bakterilerini izole etmişlerdir. *Enterobacter* sp.'nin 40 µg/mL HgCl<sub>2</sub>'ye, *Pseudomonas* sp.'nin 15 µg/mL HgCl<sub>2</sub> ve *Streptococcus* sp.'nin ise 20 µg/mL HgCl<sub>2</sub> konsantrasyonlarına karşı direnç gösterdiklerini saptamışlardır. Araştırmacılar agaroz jel elektroforezi ile yaptıkları plazmid belirleme çalışması sonucunda ise *Enterobacter* sp. izolatının 18 kb. Büyüklüğünde 1 adet plazmid DNA belirlemişlerdir. Plazmid profilleme çalışmasını iki şekilde gerçekleştirmişlerdir. Birincide restriksiyon enzimi kullanmadan görüntü elde etmişlerdir. İkincide ise λ / Mlu restriksiyon enzimi ile kesim yapılarak görüntü alınmıştır.

### BÖLÜM 3 MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Cam Malzemeler

Tez çalışması sırasında kullanılan cam malzemeler deterjanlı su ile yıkandıktan sonra iyice durulanmış ve ardından da birkaç kez steril saf sudan geçirilerek kullanılır hale getirilmiştir. Besiyeri içeren erlenler otoklavda 121°C’de 1,2 atmosfer basınç altında 15 dakika süre ile steril edilerek kullanılmıştır. Katı besiyerleri için kullanılan petri kapları ise besiyeri dökülmeden önce Pasteur fırınında 200°C’de 2 saat süre ile steril edilmiştir.

##### 3.1.2. Kimyasallar

Çalışmada analiz amaçlı kullanılan tüm kimyasal maddeler Merck firmasından temin edilmiştir.

##### 3.1.2.1. 10X TBE (Tris, Borik asit, EDTA)

21,6 g Tris, 11 g Borik asit, 1,86 g EDTA 200 mL distile suda çözülmüş ve pH 8,3’e ayarlanmıştır (Maniatis ve ark.,1982).

##### 3.1.2.2. Agaroz Jel (%1)

Plazmid DNA’nın yürütülmesi için kullanılmıştır (Maniatis ve ark.,1982).

##### 3.1.2.3. Örnek Yükleme Tamponu (Loading Buffer)

%0,25 Brom fenol mavisi ve %10 gliserol ile hazırlanan stoktan uygun hacme distile su ilavesiyle hazırlanmıştır (Maniatis ve ark.,1982).

##### 3.1.2.4. 1X TBE Yürütme Tamponu (Running Buffer)

10X TBE’den 10 kat sulandırılarak hazırlanmıştır (Maniatis ve ark.,1982).

##### 3.1.2.5. Boyama Solüsyonu (Staining, Ethidium Bromür)

1 g EtBr 100 mL distile suda çözülerek hazırlanan stok çözeltiden son hacmi 10 mg/mL olacak şekilde hazırlanır (Maniatis ve ark.,1982).

**3.1.2.6. Marker DNA**

Çalışmada kullanılan pUC Mix marker Fermentas firmasından temin edilmiştir.

**3.1.2.7. Plazmid İzolasyon Kiti**

Çalışmada plazmid DNA'ların izolasyonunda GeneJET™ Plazmid Miniprep Kit-Fermentas kullanılmıştır.

**3.1.2.8. Kral Suyu**

100 mL için; 25 mL nitrik asit, 75 mL hidroklorik asit karıştırılarak hazırlanmıştır.

**3.1.3. Besiyerleri**

Bakteri izolasyonu ve kültüre edilmesinde kullanılan Nutrient Agar, GSP Agar besiyerleri ve ağır metal dirençliliğinin belirlenmesi amaçlı kullanılan Mueller Hinton Broth besiyeri Himedia firmasından temin edilmiştir.

**3.1.4. İnkübatörler**

Bakterilerin kültürünün yapılması amacıyla kullanılan katı ortamların inkübasyonu Memmert IPP 400 soğutmalı inkübatör ve Stuart SI500 çalkalamalı inkübatörde gerçekleştirilmiştir.

**3.1.5. Bakteri İdentifikasyonu**

İzole edilen bakterilerin identifikasyonu Vitex II (Biomerieux) cihazı ile gerçekleştirilmiştir.

**3.1.6. Jel Görüntüleme**

Agaroz jelde yürütülen plazmid DNA'ların görüntü ve büyüklüğü Quantum ST4 jel görüntüleme cihazı ile belirlenmiştir.

**3.2. YÖNTEM****3.2.1. Toprak Örneklerinin Alınması**

Belirlenen istasyonlardan toprak örnekleri alınırken toprağın üst kısmı metal bir aparat ile sıyırıldıktan sonra steril bir spatula ile yaklaşık yüzeyden 10-20 cm aşağıdan 20 gram toprak örneği alınarak steril cam kavanozlara konmuştur. Alınan örnekler kullanılabilecek kadar +4 °C' de saklanmıştır (Kim ve ark., 1998).

### 3.2.2. Toprak Örneklerinin ICP Cihazı İle Ağır Metal Analizi

Belirlenen istasyondan alınan toprak örneklerinden 0,5 gram tartılarak üzerine 10 mL Kral suyu eklenmiştir ve Bandorex sonikatör cihazı ile 15 dk boyunca çözünmesi sağlanmıştır.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan toprak örneklerinin alındığı istasyonlar (googleearth).

### 3.2.3. Bakteri İzolasyonu

#### 3.2.3.1. *Pseudomonas* ve *Enterobacter* Genusuna Ait Bakterilerin İzolasyonu

*Pseudomonas*, *Aeromonas* ve *Enterobacter* analizinde kullanılan besiyeri Glutamate Starch Phenol Red Agar olarak da adlandırılır. Bileşimi; Sodyum L(+) glutamat (10,0 g/L), eriyebilir nişasta (20,0 g/L), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (2,0 g/L), MgSO<sub>4</sub> (0,5 g/L), fenol red (0,36 g/L), agar (12,0 g/L) şeklindedir. Dehidre besiyeri 45 g/L konsantrasyonunda olacak şekilde distile suda ısıtılarak eritilir ve otoklavda 121 °C' de 15 dakika süre ile sterilize edilir ve petri kutularına dökülür. Bileşimdeki glutamat ve nişasta yegane besin maddeleri olup, pek çok refakatçi flora bu maddelerini besin olarak kullanamaz. Nişasta, *Aeromonas*'

lar tarafından asit oluşturularak parçalanır ve bileşimindeki indikatör nedeni ile koloni rengi sarı olur. *Pseudomonas*' lar ise kırmızı renkli koloni oluşturur. 28 °C' de 3 gün yapılan inkübasyon sonunda oluşan 2–3 mm çaplı sarı renkli ve etrafı sarı zonlu koloniler *Aeromonas*, yine 2–3 mm çaplı kırmızı ve etrafı kırmızı zonlu koloniler *Pseudomonas* olarak değerlendirilir. Genellikle küçük ve mukoid görünümlü koloniler ise *Enterobacteriaceae* familyasına ait bakteriler olarak değerlendirilir (Anonymous 1994; Akoğlu 2006).

Çan Termik Santral bölgesinde belirlenen istasyonlardan alınan toprak örneklerinin 1 gramı, içinde 9 ml steril serum fizyolojik çözeltilisi bulunan deney tüplerine aktarılmıştır. Karıştırıcıda 5 dk kuvvetli bir şekilde karıştırılmıştır. Örneklerden  $10^{-1}$  den  $10^{-9}$  a kadar seri seyreltmeler hazırlanarak,  $10^{-3}$  seyreltmeden itibaren GSP Agar besiyerine 0,1 ml ekimler yapılmış ve 28 C° de 3 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda morfolojik olarak farklı olan koloniler seçilmiştir (Kim ve ark., 1998: Öztürk 2007).

Petride üreyen, etrafı kırmızı zonlu koloniler *Pseudomonas*, genellikle küçük ve mukoid görünümlü koloniler ise *Enterobacter* olarak değerlendirildi. Seçilen farklı koloniler Nutrient Agar (NA) besiyerine ekilerek saf kültürleri elde edilmiştir.

### 3.2.3.2. *Bacillus* Genusuna Ait Bakterilerin İzolasyonu

*Bacillus* genusuna ait bakteri türlerinin izolasyonu için NA besiyeri kullanılmıştır. Ankara iline ait farklı semtlerden alınan toprak örneklerinin 1 gramı, içinde 9 ml steril serum fizyolojik çözeltilisi bulunan deney tüplerine aktarılmıştır. Karıştırıcıda 5 dk kuvvetli bir şekilde karıştırılmıştır. Örnekler etüvde 65 °C' de 60 dk tutularak vejetatif bakteri formlarının ölmesi ve ortamda bu bakterilerin sporlu formlarının kalması sağlanmıştır. Örneklerden  $10^{-1}$  den  $10^{-7}$  ye kadar seri seyreltmeler hazırlanarak,  $10^{-3}$  seyreltmeden itibaren NA besiyerine 0,1 ml ekimler yapılmış ve 30 °C' de 5 gün boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Inkübasyon sonunda morfolojik olarak farklı olan koloniler seçilmiştir (Kim ve ark., 1998: Öztürk 2007).

Seçilen farklı koloniler NA besiyerine ekilerek saf kültürleri elde edilmiştir.

### 3.2.4. MIC( Minimal İnhibisyon Konsantrasyonu) Yöntemi İle Ağır Metal Dirençlilik Düzeylerinin Belirlenmesi

Her suş için dört farklı ağır metalin ayrı ayrı minimal inhibisyon konsantrasyonları (MIC) hesaplanmıştır. Bunun için 8 µg/mL'den 8192 µg/mL'ye kadar değişen

konsantrasyonlarda  $ZnCl_2$ ,  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ,  $Pb(NO_3)_2$  ve  $CuSO_4$  Mueller Hinton Broth besiyeri kullanılarak bakterilerin minimal inhibisyon konsantrasyonları araştırılmıştır. Metallerin sulu çözeltileri besi ortamına steril filtre (Whatmann, 0.2µm çapında) aracılığı ile sterilizasyon işleminden geçirilerek ilave edilmiştir. Bakteri kültürleri 0,5 McFarland ( $1,5 \times 10^8$  hücre/ml) standardına göre hazırlanıp, 0,1 ml olarak tüplere aktarılmıştır (Gülcan, 2006).

Kontrol organizma olarak *E. coli* ATCC 10536 kültürü kullanılmıştır. Denenen bakteri suşu kontrol organizmanın MIC değerinden daha yüksek bir ortamda üreyorsa dirençli sayılmıştır.

### 3.2.5. Bakteri İdentifikasyonu

Yapılan MIC çalışması sonucunda yüksek düzeyde ağır metal direncine sahip olduğu belirlenen GSP agarda üreyen ve *Pseudomonas* ve *Enterobacter* genusuna ait olduğu tahmin edilen bakterilerin ilk önce gram boyamaları yapıldı ve gram negatif olan bakteriler oksidaz testine tabi tutuldu ve oksidaz pozitif olanlar *Pseudomonas*, oksidaz negatif olanlar ise *Enterobacter* olarak değerlendirildi ve Vitek II (Biomerieux) cihazı ile identifikasyon yapıldı.

Nutrient agarda üreyen ağır metale direnç gösteren bakterilerin gram boyamaları yapıldı ve bakteri hücresinde tipik tek bir endospor görülen suşlar *Bacillus* olarak değerlendirildi ve Vitek II (Biomerieux) cihazı ile identifikasyon yapıldı.

### 3.2.6. Plazmid İzolasyonu ve Agaroz Jel Elektroforezi

Bakteri suşlarından, plazmid DNA izolasyonunda minipreparasyon metodu kullanılmıştır (Dillon, 1985).

%1 lik agaroz jel hazırlanıp içerisine 5 µL ethidium bromür eklendikten sonra elektroforez tankına dökülmüştür. DNA örnekleri 70 Volt'luk akım uygulanarak 3 saat süre ile yürütülmüştür. Elektroforez bitiminde plazmid DNA'ların büyüklüğü Quantum ST4 Jel görüntüleme cihazı ile belirlenmiştir.

### 3.2.7. Ağır Metallerin Biyosorpsiyonu

Biyosorpsiyon çalışması için MIC değeri en yüksek ve plazmid içerdikleri saptanan 2 suş kullanılmıştır. Bu suşlar *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) ve *Bacillus mycoides* (izolat 26)' dir. Denenecek olan suşlar 250 ml'lik Nutrient Broth besiyerinde 30 °C'de 18 saat inkübe edilerek durgun faza ulaşması sağlanmıştır. Ardından bakteri kültürü

10000 devir/dakika da 10 dakika santrifüj edilerek hücreler çöktürölüp süpernatant kısmı atılmıştır. Hücreler steril distile su ile birkaç kez yıkanmıştır yıkanmış olan hücreler ayrı ayrı; 50 mL 2048 µg/mL Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, 50 mL 512 µg/mL ZnCl<sub>2</sub>, 50 mL 512 µg/mL Cu<sub>0</sub><sub>4</sub>S\*5H<sub>2</sub>O, 50 mL 1024 µg/mL FeCl<sub>3</sub>\*6H<sub>2</sub>O içeren solüsyonlar içine 50' şer mg inoküle edilmiştir. Kültür çalkalayıcı inkübatörde 150 devir/dakikada, 2 saatte bir 2 ml örnek almak suretiyle, 30 °C'de 10 saat süreyle inkübe edilmiştir. Alınan örnekler 10000 devir/dakika da 10 dakika santrifüj edilerek hücreler çöktürölüp, süpernatant kısmındaki ağır metal konsantrasyonunun analiz edilmesi için temiz ve steril eppendorf tüplerine aktarılıp hacimleri 1,5 mL'ye tamamlanıp vortekslendikten sonra steril falcon tüplerine aktarılarak son hacim 10 mL'ye tamamlanmıştır.

Örnekler ICP'de analiz edilmek üzere buzdolabında saklanmıştır (Sevgi, 2007).



## BÖLÜM 4 ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

### 4.1. Toprakтан Bakteri İzolasyon Bulguları

Çalışmada A (40° 1dk 8sn N, 26° 58dk 11sn E), B (40° 1dk 27sn N, 26° 58dk 38sn E), C (40° 1dk 28sn N, 26° 58dk 26sn E) ve D(40° 1dk 24sn N, 26° 58dk 49sn E) istasyonları olmak üzere dört istasyon belirlenmiştir. Belirlenen dört istasyondan yapılan bakteri izolasyon çalışması sonucunda *Enterobacter*, *Pseudomonas* ve *Bacillus* genusuna ait olduğundan şüphelenilen toplam 345 adet bakteri izole edilmiştir. A istasyonundaki topraklardan 118, B istasyonundaki topraklardan 87, C istasyonundaki topraklardan 73, D istasyonundaki topraklardan ise 67 adet bakteri izole edilmiştir.

### 4.2. Toprak Örneklerinin ICP Analiz Değerleri

Çan Termik Santral bölgesinden alınan toprak örneklerinin ICP Analiz sonuçları aşağıdaki (çizelge 4.1 ve çizelge 4.2) gibi tespit edilmiştir.

Çizelge 4.1. Toprak Örneklerinin mg/kg Türünden Sonuçları

Toprak Örnekleri	Pb	Zn	Fe	Cu	pH
A İstasyonu	64,4	165,44	26800,96	190,4	6,0
B İstasyonu	54,24	222,52	22887,12	185,2	7,2
C İstasyonu	66,96	138,84	25313,36	209,64	6,3
D İstasyonu	56,12	123,4	21756,48	179,08	7,4
Kontrol Toprağı	27,12	35,84	6583,6	24,04	7,8

Çizelge 4.2. Toprak Örneklerinin ppm Türünden Sonuçları

Toprak Örnekleri	Pb	Zn	Fe	Cu	pH
A İstasyonu	1,617	4,136	670,024	4,76	6,0
B İstasyonu	1,356	5,563	572,178	4,63	7,2
C İstasyonu	1,674	3,471	632,834	5,241	6,3
D İstasyonu	1,403	3,085	543,912	4,477	7,4
Kontrol Toprağı	0,678	0,896	164,759	0,601	7,8

A istasyonundan alınan toprak örneklerindeki ağır metallerin mg/kg cinsinden miktarları Cu için 190,4 mg/kg, Fe için 26800,96 mg/kg, Pb için 64,4 mg/kg, Zn için 165,44 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

B istasyonundan alınan toprak örneklerindeki ağır metallerin mg/kg cinsinden miktarları; Cu için 185,2 mg/kg, Fe için 22887,12 mg/kg, Pb için 54,24 mg/kg, Zn için 222,52 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

C istasyonundan alınan toprak örneklerindeki ağır metallerin mg/kg cinsinden miktarları; Cu için 209,64 mg/kg, Fe için 25313,36 mg/kg, Pb için 66,96 mg/kg, Zn için 138,84 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

D istasyonundan alınan toprak örneklerindeki ağır metallerin mg/kg cinsinden miktarları; Cu için 179,08 mg/kg, Fe için 21756,48 mg/kg, Pb için 56,12 mg/kg, Zn için 123,4 mg/kg olarak tespit edilmiştir.

Kontrol toprağından alınan toprak örneklerindeki ağır metallerin mg/kg cinsinden miktarları; Cu için 24,04 mg/kg, Fe için 6583,6 mg/kg, Pb için 27,12 mg/kg, Zn için 35,84 mg/kg (ppm) olarak tespit edilmiştir.

### **4.3. Bakterilerin Ağır Metal Direnci ve İdentifikasyon Bulguları**

Yapılan MIC (minimal inhibisyon konsantrasyon) çalışması sonucunda yüksek dirence sahip bakteriler belirlendi ve 37 adet bakteri kültürü için identifikasyon çalışması gerçekleştirildi.

Dirençli suşların identifikasyon işlemi Vitek II (Biomerieux) cihazı ile gerçekleştirildi. Cihazın identifikasyon sonuçlarına bakıldığında ise her suş için %95-%99 arasında değişen oranlarda identifikasyonun gerçekleştiği tespit edilmiştir. İstasyonlardan elde edilen dirençli suşların identifikasyon bulguları çizelge 4.2, çizelge 4.3, çizelge 4.4 ve çizelge 5.5' de verilmiştir.

Çizelge 4.3. A İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler

---

<b>A İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler</b>
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 1)
<i>Enterobacter aerogenes</i> (izolat 2)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 3)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 4)
<i>Enterobacter aerogenes</i> (izolat 5)
<i>Bacillus mycoides</i> (izolat 6)
<i>Brevibacillus laterosporus</i> (izolat 7)
<i>Bacillus vallismortis</i> (izolat 8)

---

A istasyonundan izole edilen ve direnç gösteren suşlar; *Enterobacter cloacea* complex (izolat 1), *Enterobacter aerogenes* (izolat 2), *E. cloacea* complex (izolat 3), *E. cloacea* complex (izolat 4), *E. aerogenes* (izolat 5), *Bacillus mycoides* (izolat 6), *Brevibacillus laterosporus* (izolat 7), *Bacillus vallismortis* (izolat 8) olarak tanılanmıştır.

Çizelge 4.4. B İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler

---

<b>B İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler</b>
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 9)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 10)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 11)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 12)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 13)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 14)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 15)
<i>Enterobacter aerogenes</i> (izolat 16)
<i>Enterobacter cloacea</i> complex (izolat 17)
<i>Brevibacillus laterosporus</i> (izolat 18)
<i>Brevibacillus laterosporus</i> (izolat 19)
<i>Bacillus mycoides</i> (izolat 20)
<i>Bacillus megaterium</i> (izolat 21)

---

B istasyonundan izole edilen ve direnç gösteren suşlar; *E. cloacea* complex (izolat 9), *E. cloacea* complex (izolat 10), *E. cloacea* complex (izolat 11), *E. cloacea* complex (izolat 12), *E. cloacea* complex (izolat 13), *E. cloacea* complex (izolat 14), *E. cloacea*

complex (izolat 15), *E. aerogenes* (izolat 16), *E. cloacea* complex (izolat 17), *B. laterosporus* (izolat 18), *B. laterosporus* (izolat 19), *B. mycoides* (izolat 20), *Bacillus megaterium* (izolat 21) olarak tanılanmıştır.

Çizelge 4.5. C İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler

---

**C İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler**

---

*Enterobacter cancerogenus* (izolat 22)

*Pseudomonas aeruginosa* (izolat 23)

*Bacillus mycoides* (izolat 24)

*Pseudomonas putida* (izolat 25)

*Bacillus mycoides* (izolat 26)

*Brevibacillus laterosporus* (izolat 27)

*Pseudomonas fluorescens* (izolat 28)

*Bacillus mycoides* (izolat 29)

*Pseudomonas aeruginosa* (izolat 30)

---

Çizelge 4.4’ de C istasyonundan izole edilen ve direnç gösteren suşlar; *Enterobacter cancerogenus* (izolat 22), *Pseudomonas aeruginosa* (izolat 23), *B. mycoides* (izolat 24), *Pseudomonas putida* (izolat 25), *B. mycoides* (izolat 26), *B. laterosporus* (izolat 27), *Pseudomonas fluorescens* (izolat 28), *B. mycoides* (izolat 29), *P. aeruginosa* (izolat 30) olarak tanılanmıştır.

Çizelge 4.6. D İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler

---

**D İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler**

---

*Enterobacter aerogenes* (izolat 31)

*Enterobacter cancerogenus* (izolat 32)

*Bacillus megaterium* (izolat 33)

*Enterobacter cancerogenus* (izolat 34)

*Pseudomonas fluorescens* (izolat 35)

*Bacillus megaterium* (izolat 36)

*Bacillus megaterium* (izolat 37)

---

Çizelge 4.5’ de, D istasyonundan izole edilen ve direnç gösteren suşlar; *E. aerogenes* (izolat 31), *E. cancerogenus* (izolat 32), *B. megaterium* (izolat 33), *E.*

*cancerogenus* (izolat 34), *P. fluorescens* (izolat 35), *B. megaterium* (izolat 36), *B. megaterium* (izolat 37) olarak tanımlanmıştır.

A, B, C, D istasyonlarından izole edilen bakterilerin ağır metal dirençlilik düzeylerinin belirlenmesinde referans suş olarak kullanılan *E. coli* ATCC 10536'nin sahip olduğu minimum inhibisyon katsayısı değerleri Çizelge 4.2'de verilmiştir.

Çizelge 4.7. Referans Suş *E. coli* ATCC 10536 Ağır Metal Dirençlilik Düzeyi

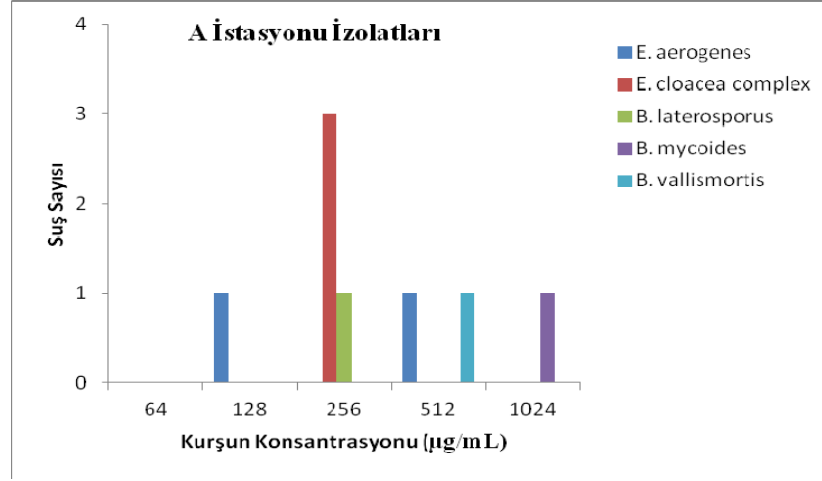
Referans Suş	MIC Değerleri (µg/mL)			
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub> .6.H <sub>2</sub> O	ZnCl <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>
<i>E. coli</i> ATCC 10536	256	512	512	128

A istasyonundan izole edilen bakterilerin MIC (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri Çizelge 4.3' de verilmiştir.

Çizelge 4.8. A istasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri

A İstasyonu İzolatları	MIC Değerleri (µg/mL)			
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub> .6.H <sub>2</sub> O	ZnCl <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>
<i>Enterobacter cloacea complex</i> (izolat 1)	256	2048	512	512
<i>Enterobacter aerogenes</i> (izolat 2)	512	4096	1024	2048
<i>Enterobacter cloacea complex</i> (izolat 3)	256	4096	512	1024
<i>Enterobacter cloacea complex</i> (izolat 4)	256	2048	512	512
<i>Enterobacter aerogenes</i> (izolat 5)	128	4096	2048	2048
<i>Bacillus mycoides</i> (izolat 6)	1024	2048	2048	1024
<i>Brevibacillus laterosporus</i> (izolat 7)	256	1024	512	1024
<i>Bacillus vallismortis</i> (izolat 8)	512	2048	1024	512

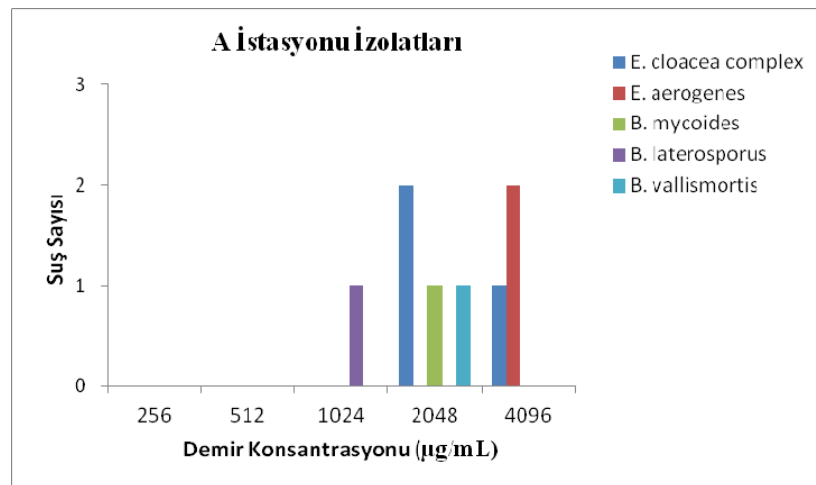
A istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 8 bakterinin  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. A İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci

A istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. aerogenes* (izolat 5)'in 128 µg/mL' ye, *E. cloacea complex* (izolat 1), *E. cloacea complex* (izolat 3), *E. cloacea complex* (izolat4) ve *B. laterosporus* (izolat 7)' nin, 256 µg/mL' ye, *E. aerogenes* (izolat 2) ve *B. vallismortis* (izolat 8)' in 512 µg/mL' ye ve *B. mycooides* (izolat 6)' nin 1024 µg/mL' ye direnç gösterdiği sonucuna varılmıştır.

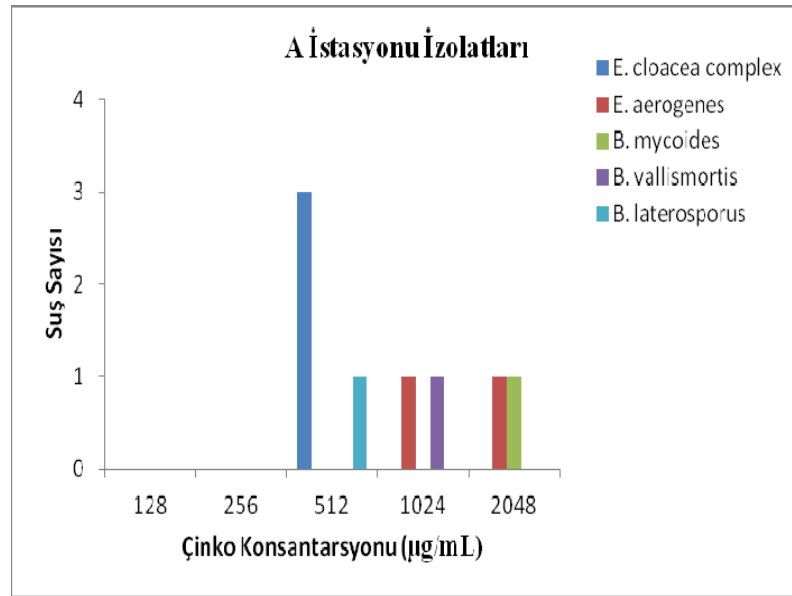
A istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 8 bakterinin  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.2'de verilmiştir.



Şekil 4.2. A İstasyonu İzolatlarının Demir Direnci

A istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *B. laterosporus* (izolat 7)' un  $1024 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *E. cloacea* complex (izolat 1), *E. cloacea* complex (izolat4), *B. mycoïdes* (izolat 6) ve *B. vallismortis* (izolat 8)' in  $2048 \mu\text{g/mL}$ ' ye ve *E. aerogenes* (izolat 2), *E. cloacea* complex (izolat 3) ve *E. aerogenes* (izolat 5)' in  $4096 \mu\text{g/mL}$ ' ye direnç gösterdiği sonucuna varılmıştır.

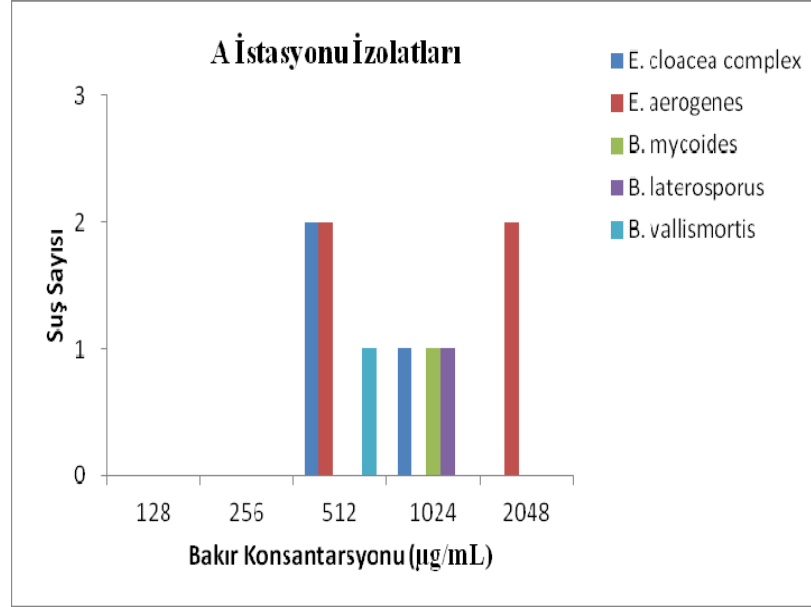
A istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 8 bakterinin  $\text{ZnCl}_2$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.3' de verilmiştir.



Şekil 4.3. A İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci

A istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $\text{ZnCl}_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. cloacea* complex (izolat 1), *E. cloacea* complex (izolat 3), *E. cloacea* complex (izolat4) ve *B. laterosporus* (izolat 7)' un  $512 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *E. aerogenes* (izolat 2) ve *B. vallismortis* (izolat 8)' in  $1024 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *E. aerogenes* (izolat 5)' in ve *B. mycoïdes* (izolat 6)' in  $2048 \mu\text{g/mL}$ ' ye dirençli olduğu sonucuna varılmıştır.

A istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 8 bakterinin CuSO<sub>4</sub> çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.3'de verilmiştir.



Şekil 4.4. A İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci

A istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin CuSO<sub>4</sub> çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. cloacea* complex (izolat 1), *E. cloacea* complex (izolat4) ve *B. vallismortis* (izolat 8)'in 512 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 3), *B. mycooides* (izolat 6) ve *B. laterosporus* (izolat 7)' un 1024 µg/mL' ye, *E. aerogenes* (izolat 2)'in ve *E. aerogenes* (izolat 5)' in 2048 µg/mL' ye dirençli olduğu tespit edilmiştir.

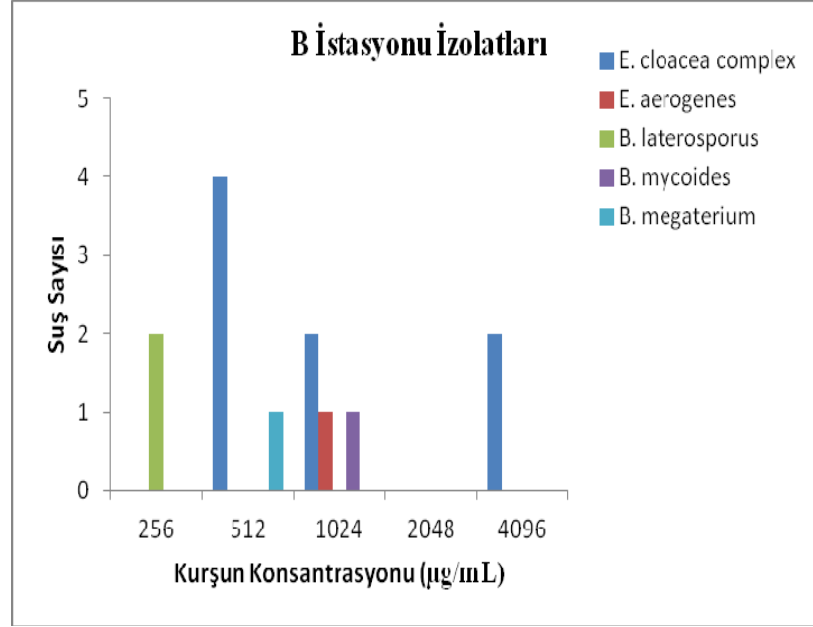


B istasyonundan izole edilen bakterilerin MIC (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri Çizelge 4.4’ de verilmiştir.

Çizelge 4.9. B istasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri

B İstasyonu İzolatları	MIC Değerleri (µg/mL)			
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub> .6.H <sub>2</sub> O	ZnCl <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>
Enterobacter cloacea complex (izolat 9)	1024	4096	1024	2048
Enterobacter cloacea complex (izolat 10)	4096	8192	4096	2048
Enterobacter cloacea complex (izolat 11)	512	4096	2048	1024
Enterobacter cloacea complex (izolat 12)	512	2048	512	512
Enterobacter cloaceae complex (izolat 13)	4096	8192	4096	1024
Enterobacter cloacea complex (izolat 14)	1024	4096	1024	2048
Enterobacter cloacea complex (izolat 15)	512	4096	2048	1024
Enterobacter aerogenes (izolat 16)	1024	4096	2048	2048
Enterobacter cloacea complex (izolat 17)	512	2048	512	1024
Brevibacillus laterosporus (izolat 18)	256	2048	1024	1024
Brevibacillus laterosporus (izolat 19)	256	4096	512	1024
Bacillus mycoides (izolat 20)	1024	4096	512	1024
Bacillus megaterium (izolat 21)	512	4096	1024	1024

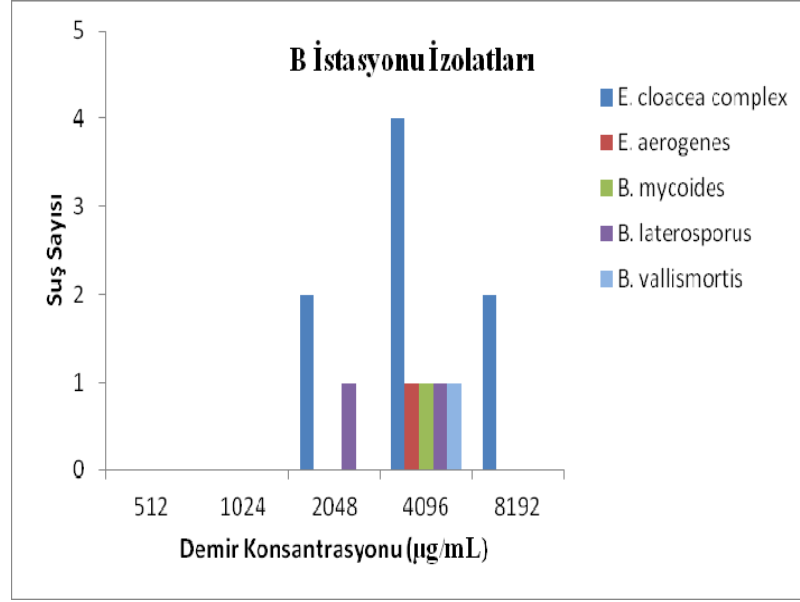
B istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 13 bakterinin  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.5'de verilmiştir.



Şekil 4.5. B İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci

B istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *B. laterosporus* (izolat 18) ve *B. laterosporus* (izolat 19)' un 256 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 11), *E. cloacea* complex (izolat 12), *E. cloacea* complex (izolat 15), *E. cloacea* complex (izolat 17) ve *B. megaterium* (izolat 21)' un 512 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 9), *E. cloacea* complex (izolat 14), *E. aerogenes* (izolat 16) ve *B. mycoides* (izolat 20)' in 1024 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 10) ve *E. cloacea* complex (izolat 13)'in 4096 µg/mL' ye direnç gösterdiği sonucuna varılmıştır.

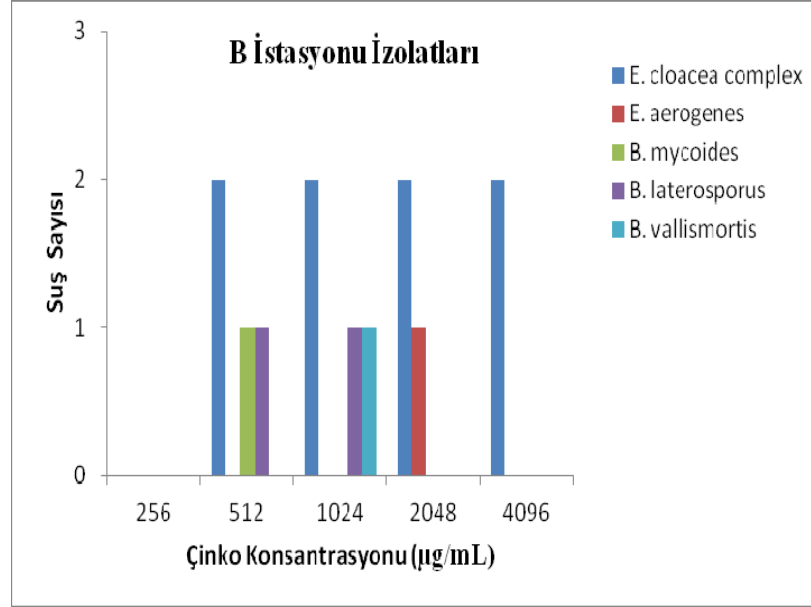
B istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 13 bakterinin  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.6. B İstasyonu İzolatlarının Demir Direnci

B istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. cloacea* complex (izolat 12), *E. cloacea* complex (izolat 17) ve *B. laterosporus* (izolat 18)'in 2048 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 9), *E. cloacea* complex (izolat 14), *E. cloacea* complex (izolat 11), *E. cloacea* complex (izolat 15), *E. aerogenes* (izolat 16), *B. laterosporus* (izolat 19), *B. mycoides* (izolat 20) ve *B. megaterium* (izolat 21)' in 4096 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 10) ve *E. cloacea* complex (izolat 13)'in 8192 µg/mL' ye dirençli olduğu tespit edilmiştir.

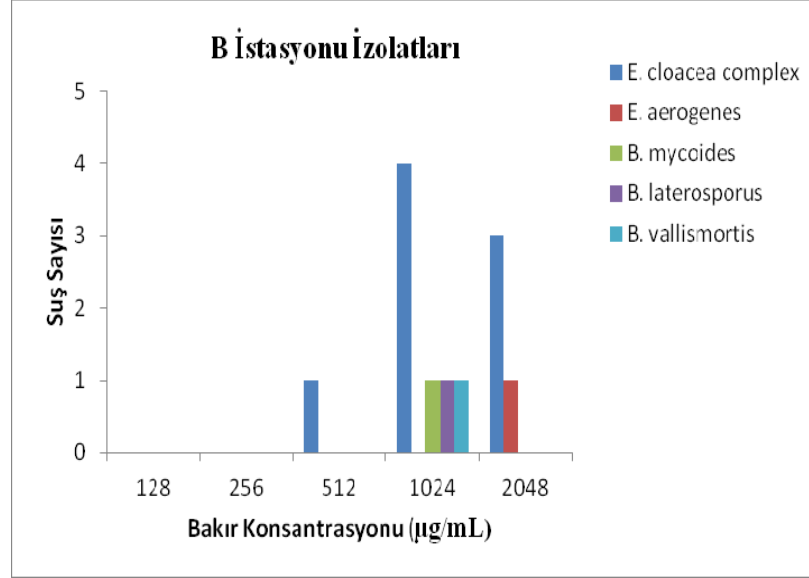
B istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 13 bakterinin  $ZnCl_2$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.7'de verilmiştir.



Şekil 4.7. B İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci

B istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $ZnCl_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. cloacea* complex (izolat 12), *E. cloacea* complex (izolat 17), *B. laterosporus* (izolat 19) ve *B. mycoides* (izolat 20)' in 512 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 9), *E. cloacea* complex (izolat 14), *B. laterosporus* (izolat 18) ve *B. megaterium* (izolat 21)' un 1024 µg/mL'ye, *E. cloacea* complex (izolat 11), *E. cloacea* complex (izolat 15) ve *E. aerogenes* (izolat 16)' in 2048 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 10) ve *E. cloacea* complex (izolat 13)' in 8192 µg/mL' ye dirençli olduğu sonucuna varılmıştır.

B istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 13 bakterinin CuSO<sub>4</sub> çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.8'de verilmiştir.



Şekil 4.8. B İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci

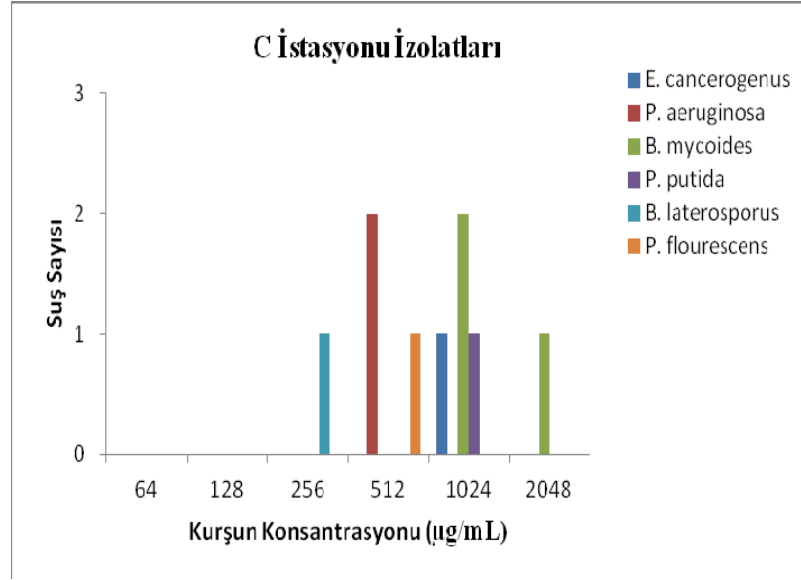
B istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin CuSO<sub>4</sub> çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. cloacea* complex (izolat 12)' in 512 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 11), *E. cloacea* complex (izolat 13), *E. cloacea* complex (izolat 15), *E. cloacea* complex (izolat 17), *B. laterosporus* (izolat 18), *B. laterosporus* (izolat 19), *B. mycoides* (izolat 20) ve *B. megaterium* (izolat 21)' un 1024 µg/mL' ye, *E. cloacea* complex (izolat 9), *E. cloacea* complex (izolat 10), *E. cloacea* complex (izolat 14) ve *E. aerogenes* (izolat 16)' in 2048 µg/mL' ye dirençli olduğu tespit edilmiştir.

C istasyonundan izole edilen bakterilerin MIC (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri Çizelge 4.5’ de verilmiştir.

Çizelge 4.10. C istasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri

C İstasyonu İzolatları	MIC Değerleri (µg/mL)			
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub> .6.H <sub>2</sub> O	ZnCl <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>
Enterobacter cancerogenus (izolat 22)	1024	4096	1024	2048
Pseudomonas aeruginosa (izolat 23)	512	4096	2048	1024
Bacillus mycoides (izolat 24)	1024	4096	1024	1024
Pseudomonas putida (izolat 25)	1024	2048	512	1024
Bacillus mycoides (izolat 26)	2048	2048	1024	512
Brevibacillus laterosporus (izolat 27)	256	4096	512	1024
Pseudomonas fluorescens (izolat 28)	512	2048	1024	2048
Bacillus mycoides (izolat 29)	1024	4096	1024	1024
Pseudomonas aeruginosa (izolat 30)	512	1024	2048	1024

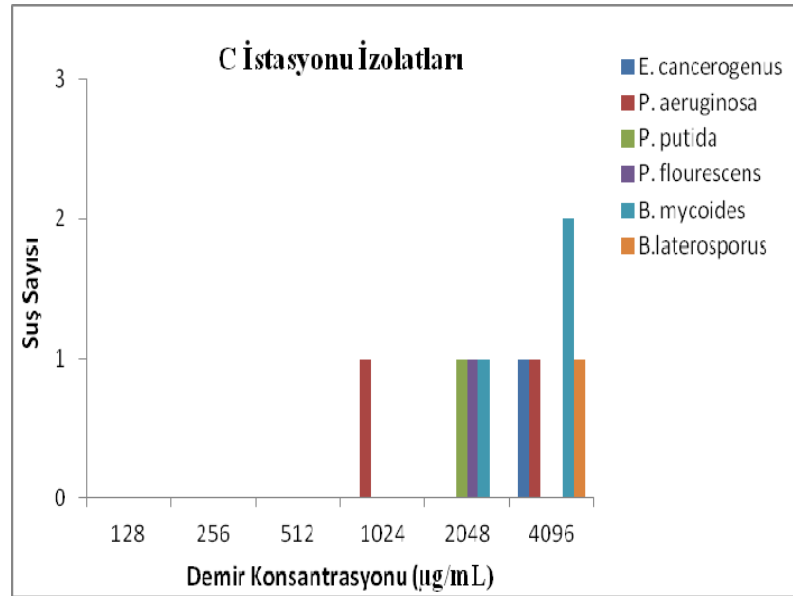
C istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 9 bakterinin  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.9'da verilmiştir.



Şekil 4.9. C İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci

C istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *B. laterosporus* (izolat 27)' nin 256 µg/mL' ye, *P. aeruginosa* (izolat 23), *P. fluorescens* (izolat 28) ve *P. aeruginosa* (izolat 30)' un 512 µg/mL' ye, *E. cancerogenus* (izolat 22), *B. mycoides* (izolat 24), *P. putida* (izolat 25) ve *B. mycoides* (izolat 29) 1024 µg/mL' ye, *B. mycoides* (izolat 26)' in 2048 µg/mL' ye direnç gösterdiği sonucuna varılmıştır.

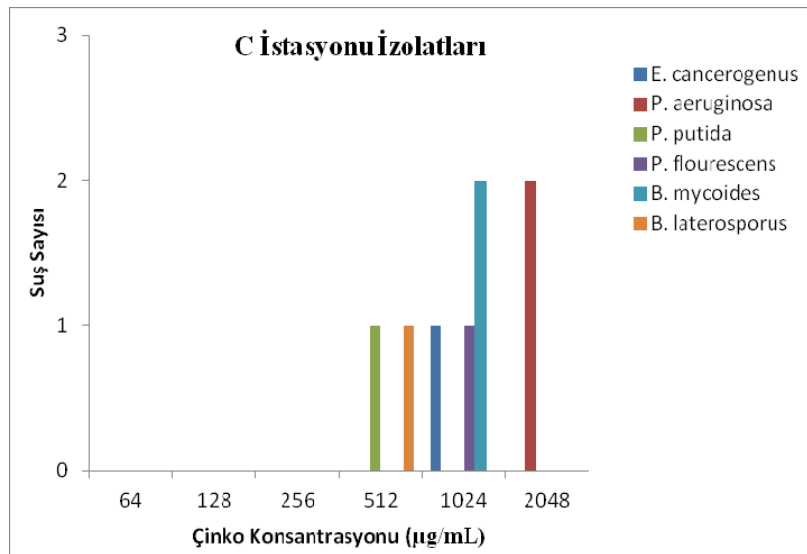
C istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 9 bakterinin  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.10'da verilmiştir.



Şekil 4.10. C istasyonu İzolatlarının Demir Direnci

C istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *P. aeruginosa* (izolat 30)' un 1024  $\mu g/mL$ ' ye, *P. putida* (izolat 25), *B. mycoides* (izolat 26) ve *P. fluorescens* (izolat 28)' in 2048  $\mu g/mL$ ' ye, *E. cancerogenus* (izolat 22), *P. aeruginosa* (izolat 23), *B. mycoides* (izolat 24), *B. laterosporus* (izolat 27) ve *B. mycoides* (izolat 29)' in 4096  $\mu g/mL$ ' ye dirençli olduğu tespit edilmiştir.

C istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 9 bakterinin  $ZnCl_2$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.11' de verilmiştir.

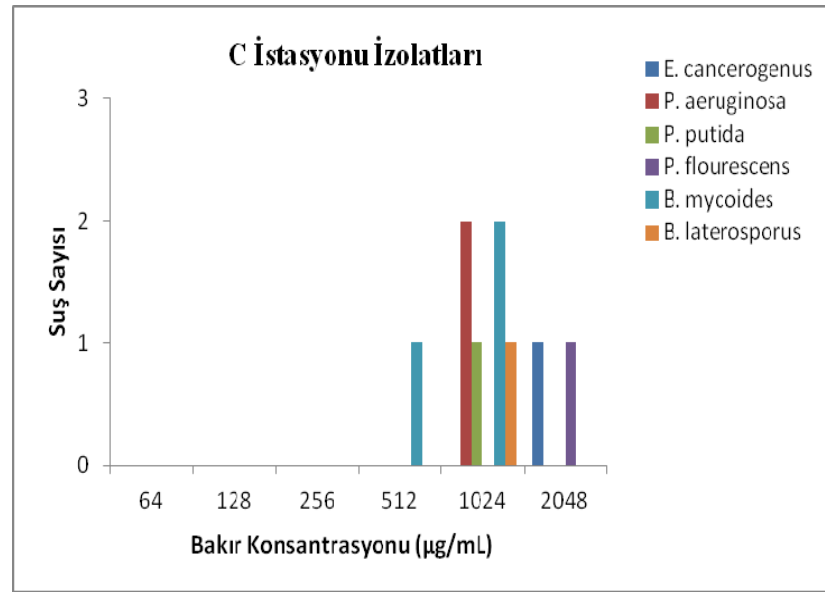


Şekil 4.11. C İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci



C istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $ZnCl_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *P. putida* (izolat 25) ve *B. laterosporus* (izolat 27)' un  $512 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *E. cancerogenus* (izolat 22), *B. mycooides* (izolat 24), *B. mycooides* (izolat 26), *P. fluorescens* (izolat 28) ve *B. mycooides* (izolat 29)' in  $1024 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *P. aeruginosa* (izolat 23) ve *P. aeruginosa* (izolat 30)' un  $2048 \mu\text{g/mL}$ ' ye dirençli olduğu sonucuna varılmıştır.

C istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 9 bakterinin  $CuSO_4$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşan direnç Şekil 4.12' de verilmiştir.



Şekil 4.12. C İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci

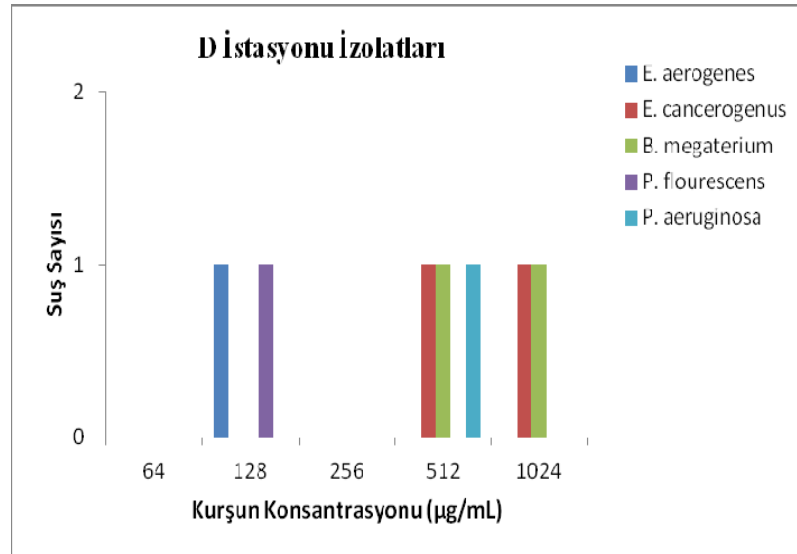
C istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $CuSO_4$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *B. mycooides* (izolat 26)' in  $512 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *P. aeruginosa* (izolat 23), *B. mycooides* (izolat 24), *P. putida* (izolat 25), *B. laterosporus* (izolat 27), *B. mycooides* (izolat 29) ve *P. aeruginosa* (izolat 30)' un  $1024 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *E. cancerogenus* (izolat 22) ve *P. fluorescens* (izolat 28)' in  $2048 \mu\text{g/mL}$ ' ye dirençli olduğu tespit edilmiştir.

D İstasyonundan izole edilen bakterilerin MIC (Minimal İnhibisyon Konsantrasyon) değerleri Çizelge 4.6’ de verilmiştir.

Çizelge 4.11. D İstasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri

D İstasyonu İzolatları	MIC Değerleri (µg/mL)			
	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	FeCl <sub>3</sub> .6.H <sub>2</sub> O	ZnCl <sub>2</sub>	CuSO <sub>4</sub>
Enterobacter aerogenes (izolat 31)	128	2048	1024	2048
Enterobacter cancerogenus (izolat 32)	512	4096	512	1024
Bacillus megaterium (izolat 33)	1024	4096	1024	1024
Enterobacter cancerogenus (izolat 34)	1024	4096	1024	2048
Pseudomonas fluorescens (izolat 35)	128	2048	1024	512
Bacillus megaterium (izolat 36)	512	4096	1024	2048
Pseudomonas aeruginosa (izolat 37)	512	4096	2048	1024

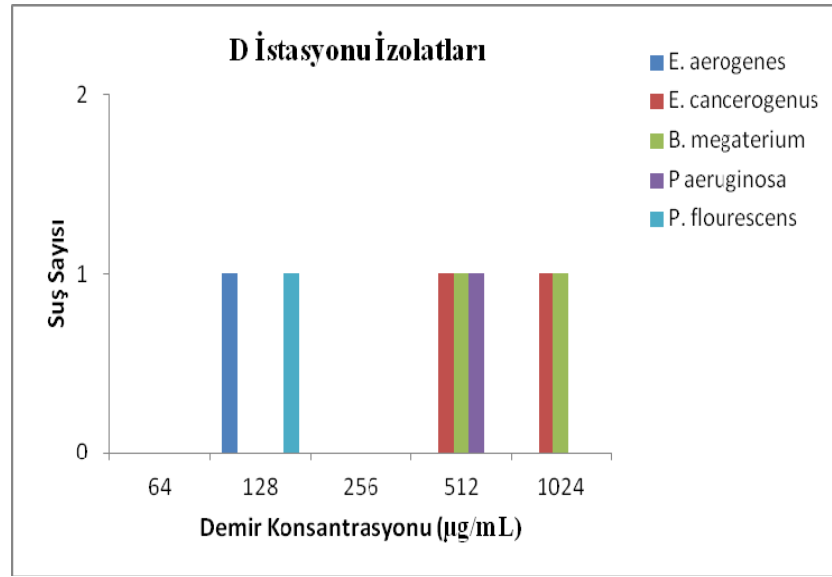
D İstasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536’ nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 7 bakterinin Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> çözeltilisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.13’de verilmiştir.



Şekil 4.13. D İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci

D İstasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $Pb(NO_3)_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. aerogenes* (izolat 31)' in ve *P. fluorescens* (izolat 35)'in  $128 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *E. cancerogenus* (izolat 32), *B. megaterium* (izolat 36) ve *P. aeruginosa* (izolat 37)' nin  $512 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *B. megaterium* (izolat 33) ve *E. cancerogenus* (izolat 34)' un  $1024 \mu\text{g/mL}$ ' ye direnç gösterdiği sonucuna varılmıştır.

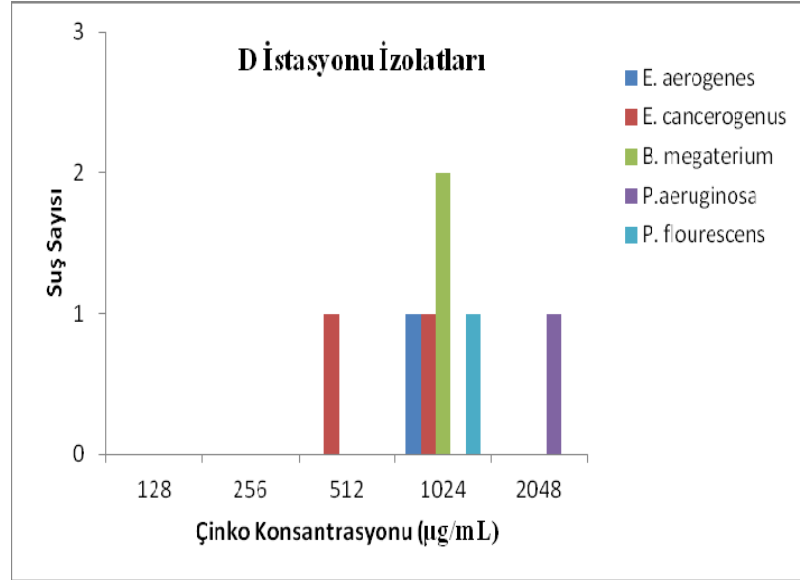
D İstasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 7 bakterinin  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.14'de verilmiştir.



Şekil 4.14. D İstasyonu İzolatlarının Demir Direnci

D İstasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $FeCl_3 \cdot 6H_2O$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. aerogenes* (izolat 31)' in ve *P. fluorescens* (izolat 35)'in  $2048 \mu\text{g/mL}$ ' ye, *E. cancerogenus* (izolat 32), *B. megaterium* (izolat 33), *E. cancerogenus* (izolat 34), *B. megaterium* (izolat 36) ve *P. aeruginosa* (izolat 37)' nin  $4096 \mu\text{g/mL}$ ' ye dirençli olduğu tespit edilmiştir.

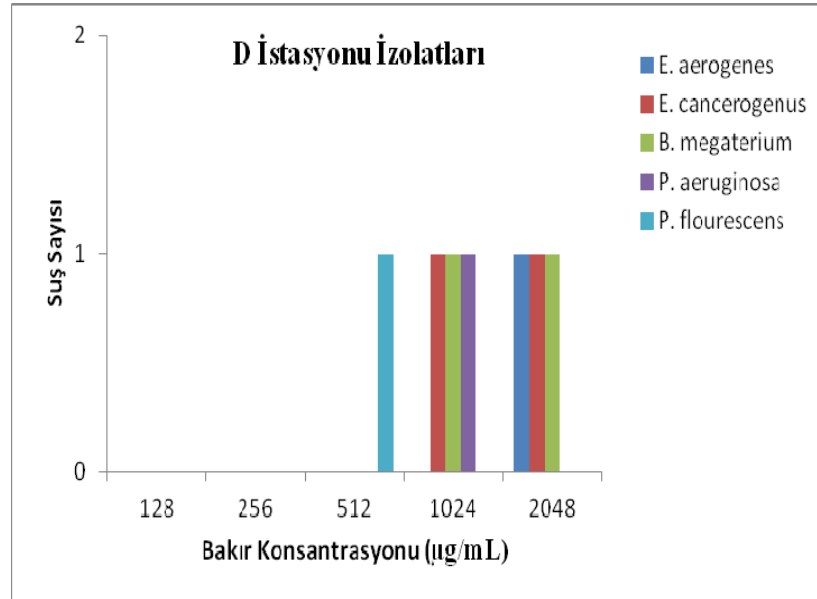
D İstasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 7 bakterinin  $ZnCl_2$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.15'de verilmiştir.



Şekil 4.15. D İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci

D istasyonu topraklarından izole edilen bakterilerin  $ZnCl_2$  çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *E. cancerogenus* (izolat 32)' nin 512  $\mu g/mL$ , *E. aerogenes* (izolat 31), *B. megaterium* (izolat 33), *P. fluorescens* (izolat 35), *E. cancerogenus* (izolat 34) ve *B. megaterium* (izolat 36)' un 1024  $\mu g/mL$ ' ye, *P. aeruginosa* (izolat 37)' nin 2048  $\mu g/mL$ ' ye dirençli olduğu sonucuna varılmıştır.

D istasyonundan izole edilen ve referans suş *E. coli* 10536' nin MIC değerinden daha yüksek çıkan 7 bakterinin  $CuSO_4$  çözeltisine karşı değişen konsantrasyonlarda oluşturduğu direnç Şekil 4.15'de verilmiştir.

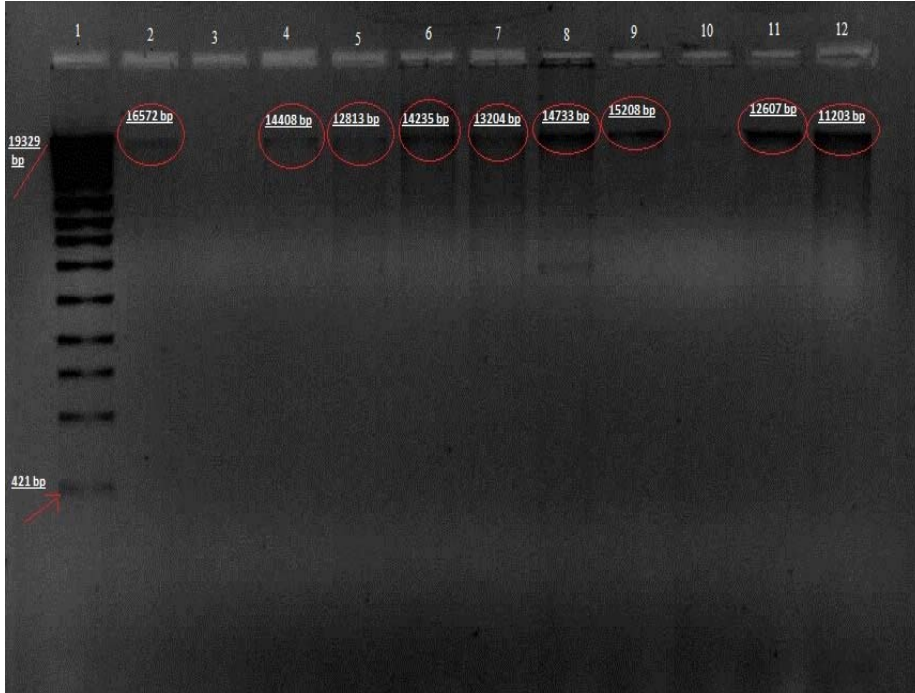


Şekil 4.16. D İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci

D istasyonundan alınan topraklardan izole edilen bakterilerin CuSO<sub>4</sub> çözeltisine karşı gösterdikleri direnç incelendiğinde *P. fluorescens* (izolat 35) 512 µg/mL' ye, *E. cancerogenus* (izolat 32), *B. megaterium* (izolat 33) ve *P. aeruginosa* (izolat 37)' nin 1024 µg/mL' ye, *E. cancerogenus* (izolat 34)' un 2048 µg/mL' ye dirençli olduğu tespit edilmiştir.

#### 4.4. Ağır Metale Direnç Gösteren Bakterilerin Plazmid Profillerinin Belirlenmesi

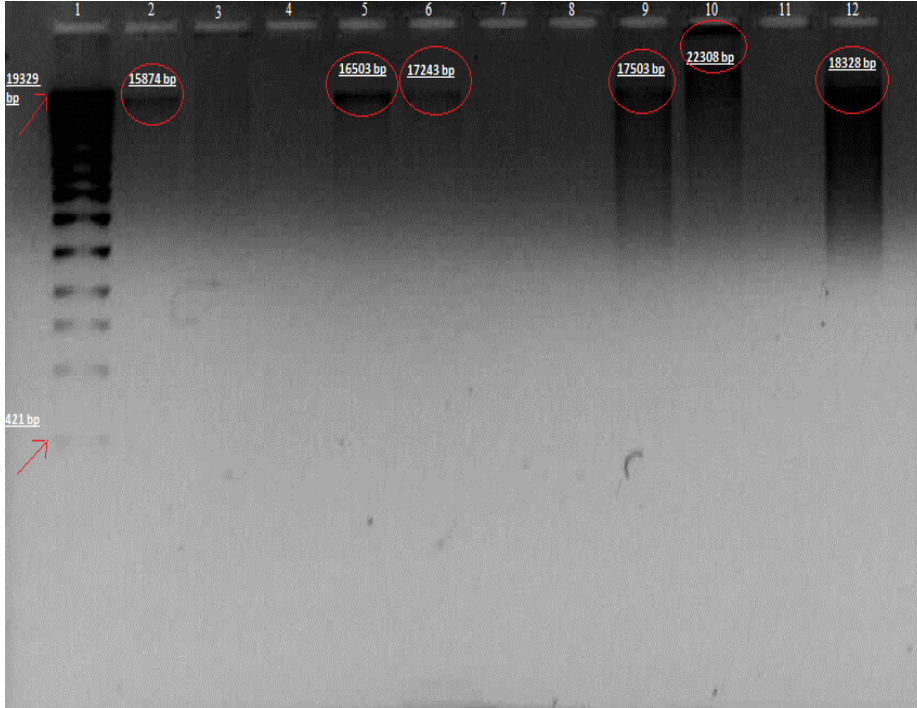
Çalışmada belirlenen bölgelerden izole edilen ve ağır metale direnç gösterdiği belirlenen 37 bakterinin plazmid izolasyonu gerçekleştirildi. İzolatların plazmid büyüklükleri marker DNA'ya (Fermentas pUC mix marker) göre belirlenmiştir. Agaroz jel elektroforezi sonucunda 18 bakterinin plazmid içerdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4.17. Direnç gösteren suşların plazmid içerikleri [No1: Marker DNA, No2: *E. cancerogenus* (izolat 22) , No3: *E. aerogenes* (izolat 2), No4: *B. mycoides* (izolat 24), No5: *P. putida* (izolat 25), No6: *B. mycoides* (izolat 26), No7: *E. aerogenes* (izolat 2) No8: *P. flourescens* (izolat 28), No9: *B. mycoides* (izolat 29), No10: *P. aeruginosa* (izolat 23) No11: *B. laterosporus* (izolat 19), No12: *B. mycoides* (izolat 6).]

Şekil 4.17'de agaroz jel elektroforezi ile yapılan plazmid DNA belirleme çalışması sonucunda 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 11 ve 12 nolu kuyucuklarda toplam 9 adet plazmid DNA görüntülenmiştir. 2 nolu kuyucukta *E. cancerogenus* (izolat 22)'a ait ~ 16572 bp

büyükliğinde 1 adet plazmid saptanmıştır. 4 nolu kuyucukta *B. mycooides* (izolat 24)' e ait ~ 14408 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid görüntülenmiştir. 5 nolu kuyucukta *P. putida* (izolat 25)'ya ait ~ 12813 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid saptanmıştır. 6 nolu kuyucukta *B. mycooides* (izolat 26)' e ait ~ 14235 bp büyüklüğünde 1 adet plazmidin olduğu gözlenmiştir. 7 nolu kuyucukta *E. aerogenes* (izolat 2)' de ~ 13204 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid satanmıştır. 8 nolu kuyucukta *P. flourescens* (izolat 28)'e ait ~ 14733 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid saptanmıştır. 9 nolu kuyucukta *B. mycooides* (izolat 29)' e ait ~ 15208 bp büyüklüğünde plazmid belirlenmiştir. 11 nolu kuyucukta *B. laterosporus* (izolat 19)' da ~ 12607 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid saptanırken 12 nolu kuyucukta *B. mycooides* (izolat 6)'ya ait ~ 11203 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid bulunduğu gözlenmiştir. 3 nolu kuyucukta *E. aerogenes* (izolat 2) ve 10 nolu kuyucukta *P. aeruginosa* (izolat 23)' da plazmid DNA rastlanmamıştır.



Şekil 4.18. Direnç gösteren suşların plazmid içerikleri [No1:Marker DNA, No2: *E. cancerogenus* (izolat 34), No3: *E. cloaceae* complex (izolat 3), No4: *E. cloaceae* complex (izolat 4) No5: *P. aeruginosa* (izolat 37), No6:*E. cloaceae* complex (izolat 10), No7: *E. cloaceae* complex (izolat 12), No8: *B. megaterium* (izolat 21), No9: *B. megaterium* (izolat 36), No10: *B. vallismortis* (izolat 8), No11: *B. laterosporus* (izolat 27), No12:*E. cloaceae* complex (izolat 11).]

Şekil 4.18'de agaroz jel elektroforezi ile yapılan plazmid DNA belirleme çalışması sonucunda 2, 5, 6, 9, 10 ve 12 nolu kuyucuklarda toplam 6 adet plazmid DNA

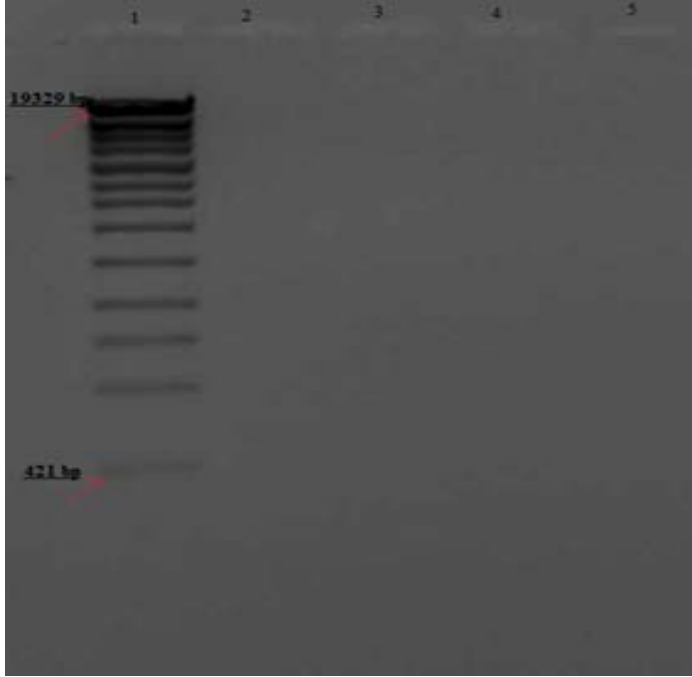
görüntülenmiştir. 2 nolu kuyucukta *E. cancerogenus* (izolat 34)' ait ~ 15874 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid DNA, 5 nolu kuyucukta *P. aeruginosa* (izolat 37)' da ~ 16503 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid DNA, 6 nolu kuyucukta *E. cloaceae* complex (izolat 10)'de ~ 17243 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid DNA, 9 nolu kuyucukta *B. megaterium* (izolat 36)'a ait ~ 17503 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid DNA, 10 nolu kuyucukta *B. vallismortis* (izolat 8)' e ait ~ 22308 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid ve 12 nolu kuyucukta *E. cloaceae* complex (izolat 11)' e ait ~ 18328 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid DNA gözlenmiştir. No3: *E. cloaceae* complex (izolat 3), No4: *E. cloaceae* complex (izolat 4), No7: *E. cloaceae* complex (izolat 12), No8: *B. megaterium* (izolat 21) ve No11: *B. laterosporus* (izolat 27) suşlarında ise herhangi bir plazmid saptanmamıştır.



Şekil 4.19. Direnç gösteren suşların plazmid içerikleri [No1: Marker DNA, No2: *E. aerogenes* (izolat 5), No3: *B. laterosporus* (izolat 7), No4: *B. mycoides* (izolat 20), No5: *E. cloaceae* complex (izolat 9), No6: *E. cloaceae* complex (izolat 13), No 7: *B. laterosporus* (izolat 18), No8: *E. aerogenes* (izolat 16), No9: *E. cloaceae* complex (izolat 14), No10: *P. aeruginosa* (izolat 30), No11: *B. megaterium* (izolat 33), No12: *P. fluorescens* (izolat 35).]

Şekil 4.19'de agaroz jel elektroforezi ile yapılan plazmid DNA belirleme çalışması sonucunda 4,8 ve 9 nolu kuyucuklarda toplam 3 adet plazmid DNA görüntülenmiştir. 4 nolu kuyucukta *B. mycoides* (izolat 20)' e ait ~ 15448 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid saptanmıştır. 8 nolu kuyucukta *E. aerogenes* (izolat 16)' e ait ~ 19383 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid ve 9 nolu kuyucukta *E. cloacea* complex (izolat

14)' e ait ~ 18264 bp büyüklüğünde 1 adet plazmid saptanmıştır. 2 nolu kuyucukta *E. aerogenes* (izolat 5)' e ait, 3 nolu kuyucuktaki *B. laterosporus* (izolat 7)'a ait, 5 nolu kuyucukta: *E. cloaceae* complex (izolat 9)' e ait, 6 nolu kuyucukta *E. cloaceae* complex (izolat 13)'e ait, 7 nolu kuyucukta *B. laterosporus* (izolat 18)' a ait, 10 nolu kuyucukta *P. aeruginosa* (izolat 30)'ya ait, 11 nolu kuyucukta *B. megaterium* (izolat 33)' a ait, 12 nolu kuyucukta *Ps. fluorescens* (izolat 35)' e ait plazmid DNA' ya saptanmamıştır.



Şekil 4.20. Direnç gösteren suşların plazmid içerikleri [No1: Marker DNA, No2: *E. cloaceae* complex (izolat 15), No3: *E. cloacea* complex (izolat 17), No4: *E. aerogenes* (izolat 31), No5: *E. cancerogenus* (izolat 32)]

Şekil 4.20' de agaroz jel elektroforezi ile yapılan plazmid DNA belirleme çalışması sonucunda; 2 nolu kuyucukta *E. cloacea* complex (izolat 15)' e ait, 3 nolu kuyucukta *E. cloacea* complex (izolat 17)'e ait, 4 nolu kuyucukta *E. aerogenes* (izolat 31)' e ait, 5 nolu kuyucukta *E. cancerogenus* (izolat 32)' a ait plazmid DNA'ya saptanmamıştır.

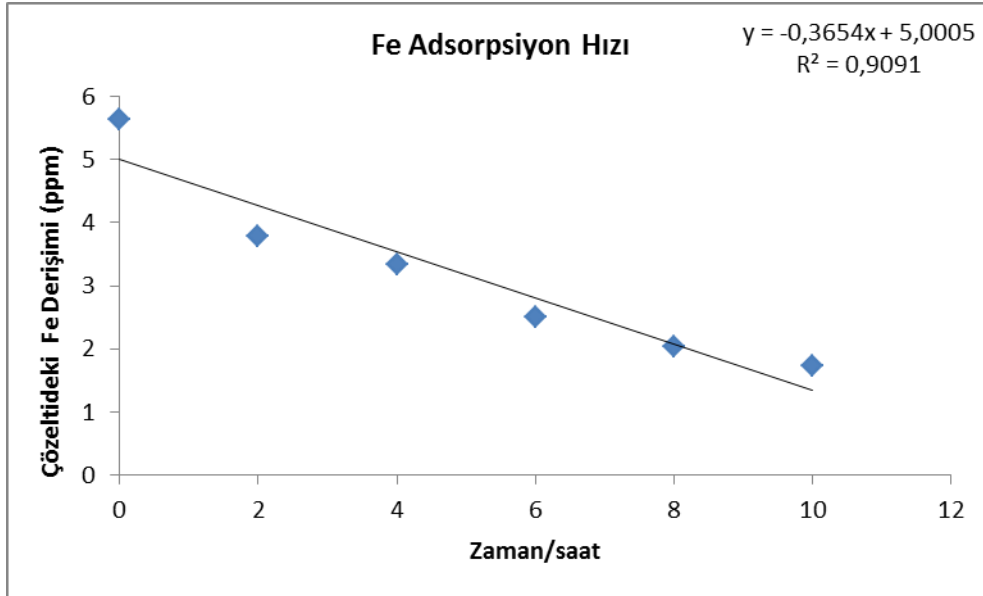
Referans suş *E. coli* 10536 baz alınarak yapılan ağır metal dirençlilik tespiti sonucunda yüksek düzeyde direnç gösteren 37 adet bakterinin Plazmid DNA izolasyon çalışması sonucunda 18 bakteride plazmid varlığı saptanırken, 19'unda plazmid saptanamamıştır. İzole edilen bakterilerin gösterdikleri ağır metal direnç özelliklerinin plazmid veya kromozomal oldukları tespit edilmiştir. Kromozom dışında, bakterilerde bulunan hücreye bazı önemli özellikler kazandıran ve bu özellikleri genetik kontrol altında tutan plazmidler bulunmaktadır. Plazmidler mikroorganizmalara antibiyotik ve ağır



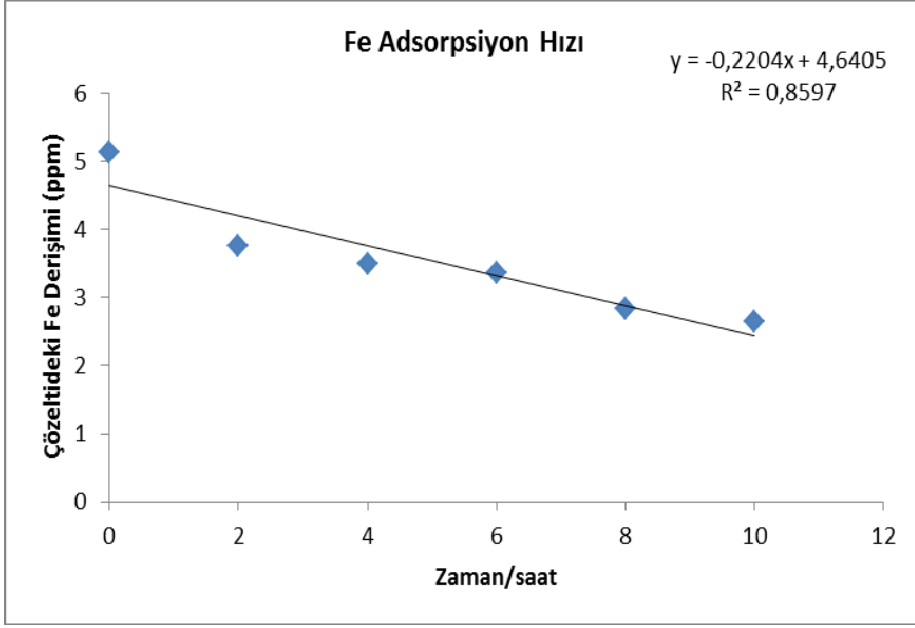
metal dirençliliği gibi özellikler kazandırmaktadırlar ve üzerinde 1-2 veya daha fazla gen taşıyabilirler (Bilgehan, 2002). Plazmid büyüklükleri 1-2 milyon dalton arasında değişebildiği belirtilmektedir (Akman, 1983; Olgun ve Topal, 1999). Plazmidler bir bakteride kendiliğinden oluşabildiği gibi bir başka bakteriden aktarılma yolu ile meydana gelebilirler. Bir plazmid hücrede kendiliğinden kaybolabileceği gibi kimyasal ve fiziksel yollarla da yok olabilirler (Bilgehan, 2002).

#### 4.5. Seçilen İzolatların Biyosorpsiyon Bulguları

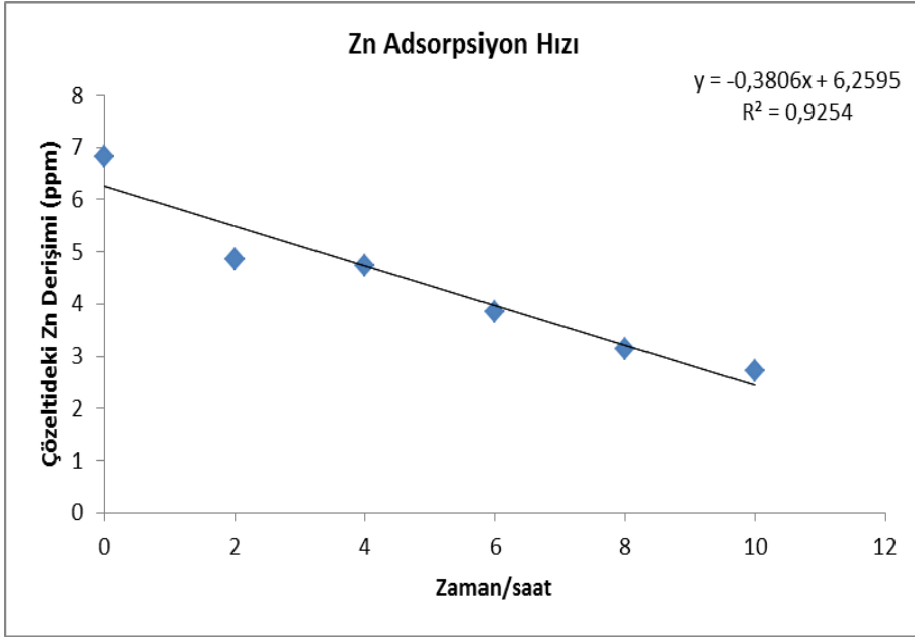
*E. cloacea* complex (izolat 10) ve *B. mycoides* (izolat 26)' in 2'şer saat aralıkla gösterdiği metal adsorpsiyon düzeyleri şekil 4.21, şekil 4.22, şekil 4.23, şekil 4.24, şekil 4.25, şekil 4.26, şekil 4.27, şekil 4.28' de verilmiştir.



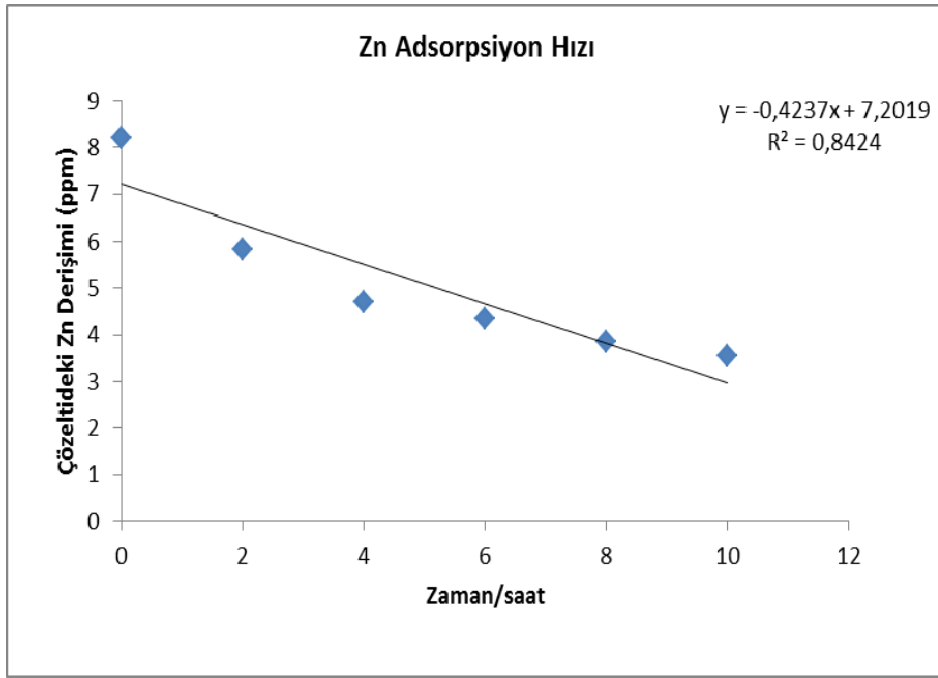
Şekil 4.21. *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) suşunun demir biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi.



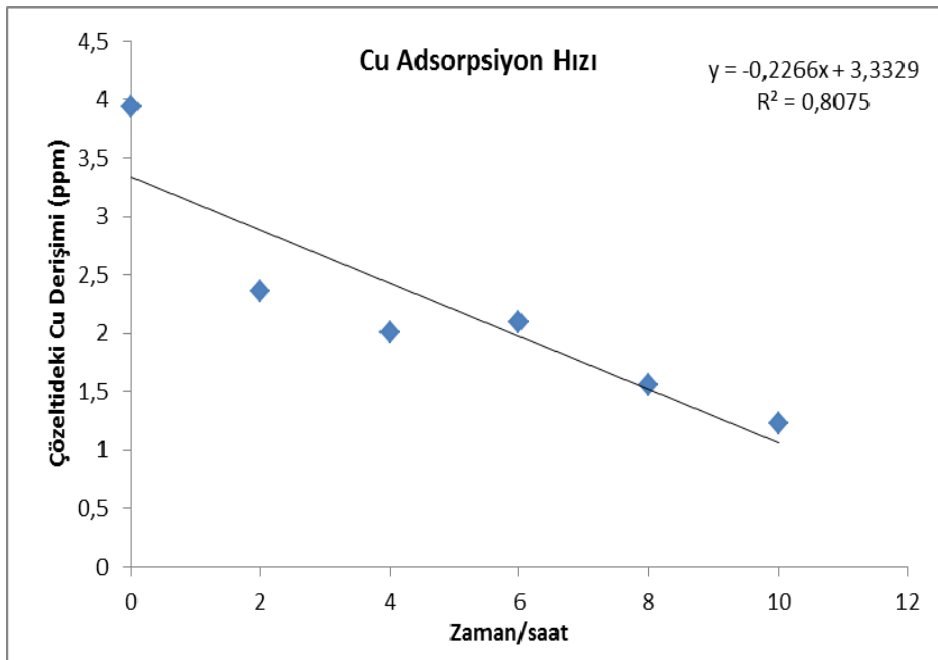
Şekil 4.22. *Bacillus mycoides* (izolat 26) suşunun demir biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi



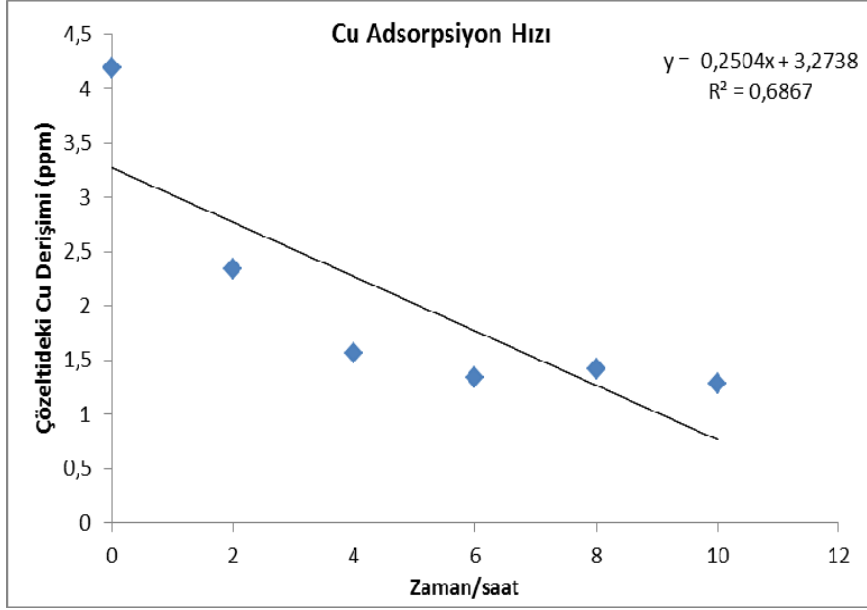
Şekil 4.23. *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) suşunun çinko biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi.



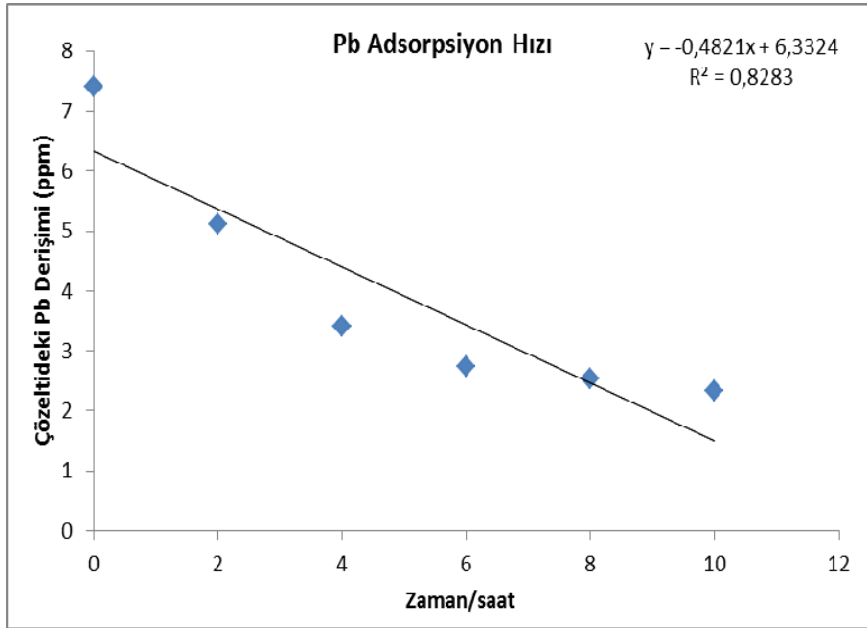
Şekil 4.24. *Bacillus mycoides* (izolat 26) suşunun çinko biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi.



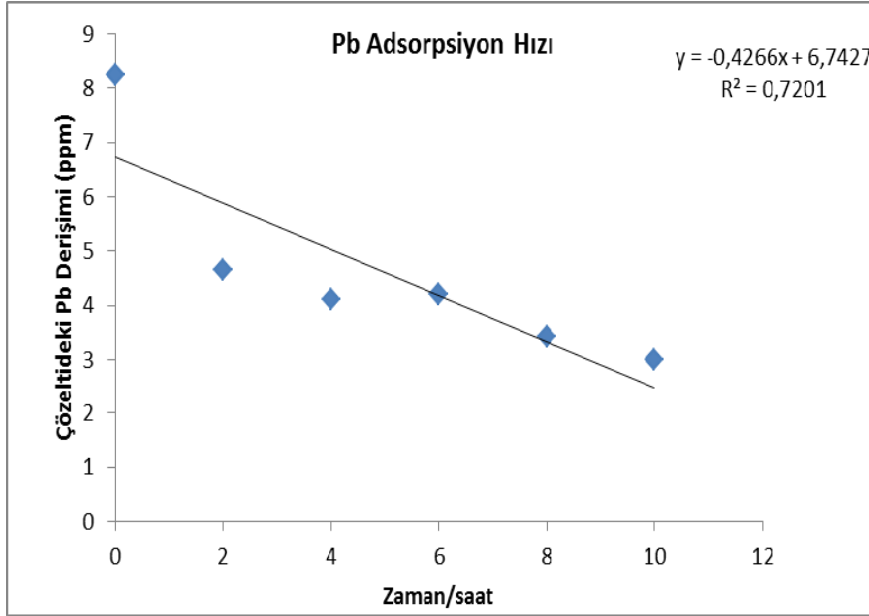
Şekil 4.25. *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) suşunun bakır biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi.



Şekil 4.26. *Bacillus mycoides* (izolat 26) suşunun bakır biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi.



Şekil 4.27. *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) suşunun kurşun biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi.



Şekil 4.28. *Bacillus mycoides* (izolat 26) suşunun kurşun biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi.

Bakterilerin metal adsorpsiyon hızları;

**Hız:**  $Dc/dt = -a.b.e^{b.t}$  diferansiyelinden  $t = 0$  anına göre maksimum adsorpsiyon hızı  $ppm/saat$  cinsinden hesaplanmıştır.

*E. cloacea* complex (izolat 10)'in demir için adsorpsiyon hızı;

**Demir Adsorpsiyon Hızı:**  $-a.b.e^{b.t} = -5,005 \times (-0,3654) \times 1 = 1,82 ppm/saat$  (50 mg bakteri için)

$$a = 5,005$$

$$b = -0,3654$$

Bulunan bu değer 50 mg bakteri içindir. Bu değer 20 ile çarpılmıştır ve 1 g demir için adsorpsiyon hızı  $ppm/saat$  olarak hesaplanmıştır.

$$\mathbf{1\ g\ Demir\ Adsorpsiyon\ Hızı} = 1,82 \times 20 = 36,4 ppm/saat$$

*E. cloacea* complex (izolat 10) ve *B. mycoides* (izolat 26) suşlarının Pb, Fe, Zn, Cu metallerini adsorplama hızları Çizelge 4.7' de verilmiştir.

Çizelge 4.12. Ağır metallerin adsorpsiyon hızları (ppm/saat)

Mikroorganizmalar	Adsorpsiyon Hızları			
	Fe	Pb	Zn	Cu
Enterobacter cloacea complex (izolat 10)	36,4	61,05	47,64	15,10
Bacillus mycooides (izolat 26)	20,45	57,52	61,02	16,39

Yapılan biyosorpsiyon çalışması sonucunda *E. cloacea* complex (izolat 10)'in Fe, Pb, Zn ve Cu metalleri arasında en yüksekte en düşüğe doğru adsorpsiyon hızı sırası ile Pb,Zn,Fe,Cu olarak hesaplanmıştır. *B. mycooides* (izolat 26)'in adsorpsiyon hızı Zn,Pb,Fe,Cu olarak hesaplanmıştır.

A, B, C ve D istasyonlarından alınan toprak örneklerinin ICP cihazı ile analizi sonucundan ağır metal içeriklerinin kontrol toprağına oranla oldukça yüksek çıktığı saptanmıştır. Bu değerler Çevre ve Orman Bakanlığının düzenlemiş olduğu Toprak Kirliliğinin Kontrolü Yönetmeliği' nin belirlediği sınır değerlerine oranla kıyaslandığında A ve C istasyonlarındaki kurşun oranının sınır değerlerinin üstünde çıktığı gözlenirken, A, B, C, D istasyonlarında bulunan bakır, kurşun, çinko ve demir oranının ise sınır değerlerine yakın olduğu gözlenmiştir. İstasyonlardan alınan toprak örneklerinde sırası ile en fazla bulunan metalin demir olduğu ve bunu takiben bakır, çinko ve kurşunun kontrol toprağına kıyasla oldukça yüksek düzeyde bulunduğu tespit edilmiştir.

A istasyonundan alınan toprak örneğinde bulunan  $Pb^+$ ,  $Zn^+$ ,  $Cu^+$  ve  $Fe^+$  metal iyon düzeylerinin diğer istasyonlara oranla oldukça yüksek olduğu gözlenmiştir. Bunun nedeni olarak hakim olan rüzgar yönünün topraktaki ağır metal oranını arttırdığı söylenebilir. Termik santrallerden salınan toksik ağır metaller özellikle hakim rüzgar yönünde maksimum kirliliğin oluşacağı yerdeki toprakta, suda birikip sınır değerinin üzerine çıktığı zaman o toprakta tarım yapılamaz ve o su, içme suyu olarak kullanılamaz. Ağır metal bakımından kirlenmiş toprakta tarım yapmak oldukça risklidir. (Algan ve Bilen, 2005)

Karaca (1997), Afsin-Elbistan Termik santralinde yapmış olduğu çalışmada genel olarak hakim rüzgar yönünden alınan örneklerin iz element ve ağır metal içeriklerini, çevre köylerden alınan örneklere kıyasla yüksek bulmuş, özellikle santrale yakın mesafelerde konsantrasyonlar oldukça artış göstermiştir. Yapılan korelasyon analizlerine göre, hakim

rüzgar yönünde alınan toprakların üreaz, asit ve alkalın fosfataz aktiviteleri ile Fe hariç diğer bütün iz elementlerin ve ağır metal, azot, KDK arasında önemli negatif, organik madde ve pH ile de pozitif korelasyon belirlenmiştir. Araştırmacının çalışmasında rüzgar yönünün hakimiyetinin etkisi bu tez çalışmasında tespit edilen veriler ile de paralellik göstermektedir.

Çan Termik Santral bölgesindeki topraklardan izole edilen bakterilerin 37 tanesi referans suş olan *E. coli* ATCC 10536 suşunun kurşun, demir, bakır ve çinko metallerine karşı oluşturduğu dirençten daha yüksek düzeyde direnç oluşturmuşlardır. Bu durum 37 izolatın genomik ve ya plazmid kollu olabilen ağır metallere direnç genlerini taşıdığını göstermektedir.

A istasyonu izolatlarından *E. aerogenes* (izolat 5)'in minimum inhibisyon konsantrasyon düzeyi, kontrol mikroorganizma *E. coli* 11230 ile kıyaslandığında Pb'a direnç oluşmadığı gözlenirken, Fe, Zn, Cu metallerine karşı oldukça iyi direnç oluşturduğu gözlenmiştir. Yine aynı bölge izolatları olan *E. aerogenes* (izolat2), *E. cloacea* complex (izolat 1), *E. cloaceae* complex (izolat 3), *E. cloacea* complex (izolat 4), *B. laterosporus* (izolat 7), *B. vallismortis* (izolat 8)'in minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri, kontrol organizmanın değerleri ile karşılaştırıldığında Pb eşit düzeyde çıkarken, Fe, Zn, Cu metallerine karşı minimum inhibisyon konsantrasyon değerlerinin daha yüksek olduğu saptanmıştır. *E. aerogenes* (izolat 2) ve *B. mycoides* (izolat 6)'nın ise referans suş baz alındığında Pb, Cu, Fe ve Zn'ya karşı direnç gösterdiği saptanmıştır.

B istasyonundan izole edilen suşlardan *B. laterosporus* (izolat 18), *B. laterosporus* (izolat 19)'un Pb' na karşı oluşturdukları minimum inhibisyon konsantrasyon değerleri, referans suş ile eşit çıkarken Fe, Zn ve Cu metallerine karşı yüksek düzeyde direnç gösterdikleri gözlenmiştir. Bu bölgedeki izolatlardan *E. cloacea* complex (izolat 12), *E. cloacea* complex (izolat 17), *Brevibacillus laterosporus* (izolat 19) ve *B. mycoides* (izolat 20)'nin Zn'ya karşı gösterdiği minimum inhibisyon konsantrasyon değeri, referans mikroorganizma ile eşit çıkarken, çalışmada kullanılan diğer metallere karşı ise direnç olduğu tespit edilmiştir. Aynı bölge izolatlarından *E. cloacea* complex (izolat 9), *E. cloacea* complex (izolat 10), *E. cloacea* complex (izolat 11), *E. cloacea* complex (izolat 13), *E. cloacea* complex (izolat 14), *E. cloacea* complex (izolat 15), *E. cloacea* complex (izolat 16) ise referans suş ile kıyaslandığında çalışmada kullanılan tüm metallere karşı dirençli çıkmıştır.

C istasyonundan izole edilen *B. laterosporus* (izolat 27)'un Pb ve Zn metallerine karşı oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyon düzeyi referans suş ile eşit çıkmıştır.

Aynı bakterinin Cu ve Fe metallerine karşı oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyon değeri kontrol organizmadan daha yüksek çıkarak direnç oluşturduğu gözlenmiştir. Yine bu bölgeden izole edilen *P. putida* (izolat 25)'nin Zn'ya karşı oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyon düzeyi kontrol organizmanın inhibisyon düzeyi ile eşit çıkarken Fe, Pb ve Cu metallerine karşı ise direnç oluşturduğu tespit edilmiştir. Aynı istasyon izolatlarından olan *E. cancerogenus* (izolat 22), *P. aeruginosa* (izolat 23), *B. mycoides* (izolat 24), *B. mycoides* (izolat 26), *P. florescens* (izolat 28), *B. mycoides* (izolat 29), *P. aeruginosa* (izolat 30) çalışmada kullanılan Fe, Zn, Cu ve Pb metallerine karşı yüksek düzeyde direnç oluşturmuştur.

D istasyonu izolatlarından *E. aerogenes* (izolat 31) ve *P. flourescens* (izolat 35)'in minimum inhibisyon konsantrasyon düzeyi, kontrol mikroorganizma ile kıyaslandığında Pb'a direnç oluşmadığı gözlenirken, Fe, Zn, Cu metallerine karşı direnç oluşturdukları gözlenmiştir. *Enterobacter cancerogenus* (izolat 32)'un ise Zn'ya karşı oluşturduğu minimum inhibisyon konsantrasyon düzeyi kontrol organizmanın inhibisyon düzeyi ile eşit çıkarken Fe, Pb ve Cu metallerine karşı ise direnç oluşturduğu tespit edilmiştir. Bölge izolatlarından *B. megaterium* (izolat 33), *E. cancerogenus* (izolat 34), *B. megaterium* (izolat 36), *P. aeruginosa* (izolat 37) ise referans suş ile kıyaslandığında çalışmada kullanılan tüm metallerle karşı dirençli çıkmıştır.

Khleifat ve ark. (2009) Petra City' deki atık su arıtma tesisinden bakteri izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Yaptıkları 16 S Rdna analizi sonucunda bu bakteriyi *Keibsiella oxytoca* olarak tanımlamışlardır. Araştırmacılar plazmid izolasyon çalışması gerçekleştirmişler ve *K. oxytoca*'ya ait 23 kb'den daha büyük bir adet plazmid saptamışlardır. Saptanan plazmidin *E. coli* JM83 suşuna transformasyonunu sağlamışlardır. Transformasyon gerçekleşmeden önce *E. coli* JM83 suşunun Cd<sup>+2</sup> MTC değerini 400 µg/mL olarak tespit etmişlerdir. Transformasyon gerçekleştikten sonra *E. coli* JM83 suşunun Cd<sup>+2</sup> MTC değerini 500 µg/mL olarak belirlemişlerdir. Bunun neden olarak metal direnç geninin *K. oxytoca*'da bulunan 23 kb'lik plazmid üzerinde kodlandığını vurgulamışlardır. Yaptıkları biyosorpsiyon çalışması sonucunda ise *K. oxytoca* suşunun Cd biyosorpsiyon kapasitesini %80 olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar aynı zamanda *K. oxytoca* ile yaptıkları antibiyotik direnç çalışmasında suşun % 100 oranında antibiyotik direnci bulunduğunu rapor etmişlerdir.

Matyar ve ark. (2009) İskenderun Körfezi'nde yapmış olduğu çalışma incelendiğinde, *Aeromonas spp.* izolatlarının yüksek oranda CZ ve SXT' ye (%66,6) , *Pseudomonas spp.* izolatlarının ise FM (%86,2), CZ (%84,8) ve CXM' e (%71,7) karşı



direnç gösterdikleri belirlenmiştir. Ayrıca *Aeromonas spp.* İzolatlarının %98,3'ünün, *Pseudomonas spp.* izolatlarının ise %75,4'ünün bakıra karşı direnç gösterdiğini de belirlemişlerdir.

Hu ve ark.(2007) yaptıkları bir araştırmada; çinko ve demir maden ocaklarından yüksek  $Cd^{+2}$  direncine sahip bakteri izolasyonu gerçekleştirmişler. Yapılan identifikasyon çalışması sonucunda bakterinin *B. cereus* olduğu saptanmıştır. Yaptıkları biyosorpsiyon çalışmasında bu bakterinin  $Cd^{+2}$  iyonunu absorplama kapasitesini araştırmışlardır. Araştırmacılar buldukları izolatu 16s r RNA gen analizine göre *Bacillus cereus* HQ-1 olarak tanımlamışlardır. Bakterinin  $Cd^{+2}$  metaline karşı oluşturduğu minimal inhibisyon konsantrasyon (MIC) düzeyini 0,012 mol/L olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar biyosorpsiyon hızının maksimum olduğu zaman dilimini 0-120 dk olarak rapor etmişlerdir. Çözeltideki  $Cd^{+2}$  iyon derişimi t=0 anında  $1,75 \times 10^4$  mol/L olarak tespit edilmiştir. Langmuir ve Freundlich adsorpsiyon izotermi ile de çalışmalarını desteklemişlerdir.

Congeevaram ve ark. (2007) yaptıkları bir çalışmada krom ve nikel metalleri ile kontamine olmuş toprak ve atık sulardan ağır metale dirençli bakteri ve fungus izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. İzolatların morfolojik, fizyolojik ve biyokimyasal özelliklerini incelemişler ve izole ettikleri bakterinin *Micrococcus sp.* olduğunu, fungusun ise *Aspergillus sp.* olduğunu rapor etmişlerdir. Araştırmacılar *Micrococcus sp.* ve *Aspergillus sp.*'nin Ni ve Cr biyosorpsiyonunu gerçekleştirmişlerdir. Biyosorpsiyon gerçekleşirken pH, sıcaklık ve zaman faktörlerinin biyosorpsiyon üzerindeki etkisini de göz önüne alarak çalışmalarını gerçekleştirmişlerdir. *Aspergillus sp.* için sıcaklık 28-30 °C, pH 4.5-5.5 ve 0-12 saat aralığında Ni biyosorpsiyon kapasitesinin maksimum olduğunu tespit etmişlerdir. *Aspergillus sp.*'nin maksimum Cr biyosorpsiyonunu ise sıcaklık 28-30.5 °C, pH 4.6 -5.5 ve 0-16 saat aralığında gerçekleştirdiğini rapor etmişlerdir. *Micrococcus sp.* için Cr biyosorpsiyonunun maksimum gerçekleştiği aralığı pH 8-8.5, Ni için ise pH 7.5-8.5 olarak belirlemişlerdir. Bakterinin Cr ve Ni için biyosorpsiyon hızının en yüksek olduğu sıcaklık aralığını 30.5-35 °C olarak belirlerken, süre olarak 0-18 saat arasında maksimum biyosorpsiyonun gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.

Sevgi (2007), Mersin Kazanlı çevresindeki önemli bir sanayi kuruluşunun etrafından aldığı toprak örneklerinde *Pseudomonas* ve *Bacillus* genusuna ait bakteri izolasyonu gerçekleştirmişlerdir. Araştırmacı 225 adet *Pseudomonas sp.* ve 101 adet *Bacillus sp.* izole etmiş ve bu izolatların ağır metal dirençlilik düzeylerini araştırmıştır. Çalışmada değişen konsantrasyonlarda  $CuCl_2$ ,  $CoCl_2$ ,  $NiCl_2$ ,  $CdCl_2$ ,  $ZnCl_2$  ve  $K_2Cr_2O_7$  metal bileşiklerini besiyerine eklemiş ve 24 saatlik inkübasyondan sonra metallerin

maksimum tolere edilebilir konsantrasyonlarını (MTC) belirlemiştir. Araştırmacı yüksek MTC değerine sahip suşlarda plazmid DNA izolasyonu gerçekleştirmiş ve A1P41, B2P55, B2P60, B2P77, B2P99, B2P115, B2P117 ve B2P123 olarak adlandırdığı toplam 8 adet bakteride 1,8 kb ve 2,1 kb büyüklüğünde 2 adet plazmid, B2P110 olarak adlandırdığı bakteride ise 1,8 kb, 2,1 kb ve 28 kb'lık 3 adet plazmid olduğunu rapor etmiştir. ICP cihazı kullanarak yaptığı biyosorpsiyon çalışması sonucunda ise Zn'nin biyosorpsiyon hızının diğer metallerin biyosorpsiyon hızından daha yüksek olduğunu tespit etmiştir. Araştırmacının çalışmasında bulunduğu sonuçlar bu tez çalışmasından çıkan sonuçlar ile de paralellik göstermektedir.

Singh K.L ve Ashok K.(1998), yaptıkları bir çalışmada çoklu ağır metal direncine sahip *Bacillus* sp. izolasyonu gerçekleştirmişler ve MIC yöntemi ile metal direnç düzeylerine bakmışlardır. Belirli konsantrasyonlarda As, Cu, Hg, Ni, ve Zn metallerini bakteri kültürü içeren besi ortamlarına eklemişler. MIC değerlerini; As 20 mM, Cu 2 mM, Cd 1.60 mM, Hg 2.25 mM, Ni 7.50 mM, ve Zn 3.70 mM olarak belirlemişler. Araştırmacılar plazmid DNA izolasyon çalışması sonucunda 26 kb büyüklüğünde 1 adet plazmid saptamışlar. Dirençliliğin plazmid kollu olup olmadığını öğrenmek için bakteri kültürü içeren besi ortamına akriflavin ekleyerek bakterinin plazmidini atmasını sağlamışlardır. Araştırmacılar ortama yeniden aynı konsantrasyonda ağır metal eklemişlerdir ve bu kez suşun ağır metale duyarlı olduğunu saptamışlardır. Sonuçta çalıştıkları izolatta ağır metal dirençliliğinin plazmid aracılığı ile gerçekleştiğini rapor etmişlerdir.

## BÖLÜM 5

### SONUÇ VE ÖNERİLER

Tamamlanan doktora tez araştırmasında, bölgemizde ve ülkemizde ekosistemler ve insan sağlığı üzerinde olumsuz etkileri bulunan termik santrallerin civarındaki alanlardan belirlenen istasyonların, toprakta bakteriyal biotası üzerinde etkileri saptanmıştır. Bu kapsamda topraktan izole edilen *Enterobacter cloacea* complex (izolat 10) ve *Bacillus mycoides* (izolat 26) bakterilerinin Pb, Zn, Cu ve Fe metallerine karşı oluşturduğu MIC değerleri diğer izolatlarla göre yüksek çıkmıştır. Bu nedenle araştırmada izolat 10 ve izolat 26 biyosorpsiyon kapasitesi araştırılmalarında kullanılmıştır. Alınan adsorpsiyon sonuçlarına göre bu izolatların metal adsorblaba hızı yapılan diğer araştırmalara göre da yüksek düzeyde bulunmuştur.

Termik santrallerde soğutucu, buhar elde etme ve temizleme gibi amaçlarla kullanılan sular sıcaklık dereceleri yükselmiş olarak toprak ve yer altı sularına, denizlere boşaltılmaktadır. Bu sırada kullanılan su çeşitli kimyasal maddelerle muamele edilmekte ve bu kimyasal maddeler ile beraberinde ağır metallerde toprağa karışmaktadır. Özellikle demir ve sülfat bileşikleri başta olmak üzere bol miktarda ağır metaller ile toprak ve akarsular kirlenmektedir. Araştırmamızda yaptığımız toprak analizi sonucunda da demir metalinin yüksek çıkması dikkat çekmektedir.

Linyit kullanan termik santrallerde kömürün yanması ile bol miktarda kül açığa çıkmaktadır. Araştırmamıza da konu olan Çan Termik Santral'i linyit kullanan bir işletmedir. Santral bacasından etrafa yayılan küllerin içerisinde bulunan gazların bir kısmı havada kalarak asit yağmurlarına neden olmaktadır. Yere ulaşan küller ise toprak yüzeyini ve bitkilerin üzerlerini kaplarlar. Bu nedenle toprak yüzeyine yığılan küller toprak kalitesinde ciddi derecede bozulmalar meydana getirirler ve yağmurlar sonucunda yer altı sularına sızarlar. Termik santral bölgesindeki hakim olan rüzgarın yönü ve şiddetine, bölgenin topografyasına bağlı olarak uçucu küller uzun mesafelere taşınabilir. Dolayısıyla kirliliğin meydana geldiği bölgedeki toprakların rutin olarak ağır metal analizleri yapılmalıdır. Çünkü termik santrallerden salınan ve sınır değerinden yüksek olan toksik ağır metal içeren küller toprakta birikerek toprağın tarımsal olarak kullanılmasını sınırlar. Çan Termik Santrali bölgesinde bulunan tarlalarda ise oldukça yoğun buğday ekimi yapılmaktadır. Çalışmanın sonucunda toprakta çıkan Pb, Zn, Cu ve Fe değerleri kontrol toprağının ve sınır değerlerinin üstünde çıkmıştır. Bu durumda oldukça ciddi sonuçlar doğurabilir. Çünkü ağır metaller toksik düzeye ulaştıklarında başta insan sağlığı olmak

üzere tüm canlıların yaşamını tehdit etmektedir. Aliminyum, arsenik, kadmiyum, kurşun, civa ve çinko toksik etkisi en yüksek ve en yaygın ağır metallerdir. Aliminyum sinir sistemi bozuklukları ve beyinde hasara, arsenik bağırsak ve karaciğerde tahribata, kurşun böbrek, beyin, kas ve kemik dokularda hasara, çinko deri ve karaciğer hastalıklarına sebep olmaktadır. Ayrıca Türkiye’de metale kirlenmiş bazı bölgelerde yaşayan insanlarda kanser vakalarında artış olduğu görülmektedir.

Günümüzde bu önemli çevre sorununu çözmek için çeşitli konvansiyonel arıtma teknolojileri bulunmaktadır. Ancak bu arıtım prosesleri maliyetli ve zaman alıcı olduğu için bu teknolojik proseslere alternatif olarak uygulanan biyosorpsiyon prosesleri bu teknolojiler üzerine sağladığı avantajlar sayesinde son yıllarda önem kazanmıştır. Biyosorpsiyonda; biyomateryalin yeniden kullanılabilir olması, düşük işletim maliyeti, işlemin kısa sürede bitmesi ve toksik olan ikincil kirleticilerin üretilmemesi bu prosesi avantajlı kılmaktadır.

Canlıların tümü kendilerini çevresel biyotik ve abiyotik stres faktörlerine karşı koruyabilecek sistemlere sahiptirler. Bu sistemlerin aktifliğini yitirmesi, zamanla sistemde bazı maddelere karşı bağışıklık reaksiyonlarının oluşması ekosistemlerin zarar görmesine neden olan temel problemlerdendir. Birçok mikroorganizma hareketli genetik elementler olan transpozon, plazmid ve integronlar üzerinde yerleşmiş olan ağır metal direnç genleri içermektedir. Günümüzde özellikle endüstriyel bölgelerde ağır metal ile kontamine olmuş bölgelerden izole edilen, ağır metale dirençlilik özelliğini yapısında barındıran bakterilerin ortaya çıkarılması, ağır metal gideriminde mikroorganizmaların kullanılması, bakterilerde nasıl bir adaptasyon ve genetik madde aktarım mekanizmasının gerçekleştiği konusunda açıklayıcı olacaktır. Ayrıca bu bölgede bulunan bakterilerden izole edilen direnç genlerinin yapısında direnç genlerini taşımayan bakterilere transformasyonu ile bu bakterilerde ağır metale dirençli hale getirilebilir. Böylece ağır metal gideriminde doğal olan izolatların kullanılması metal biyosorpsiyonunda etkili ve alternatif bir yöntem olacaktır.

Bu araştırma konusunun sonuçları bölgemiz açısından ayrı bir önem arz etmektedir. Çünkü önümüzdeki yıllarda Biga Yarımadası üzerinde şu an var olan Termik santrallerin dört beş katı kadar santral yapılması planlanmaktadır. Bunun sonucunda Biga Yarımadası üzerinde oluşabilecek kül bulutları, asit yağmurlarına bağlı olarak tarım alanlarında ciddi boyutlarda ve geri dönüşü mümkün olmayan hasarlar meydana gelecektir. Bu tarım alanlarında araştırma sonuçlarında elde ettiğimiz özellikteki yani ağır metale karşı dirençlilik genlerini taşıyan bakterilerden oluşan ürünler yolu ile bioremediasyon çalışmaları gerçekleştirilebilir.

## KAYNAKLAR

- Adriano D.C., Page A.L., Elseewi A.A., Chang A.C. ve Straugham I., 1980. Utilization and Disposal of Fly Ash and Other Coal Residues in Terrestrial Ecosystems. *A Review. J. Environ. Qual.*, 9: 333-444.
- Akoğlu A., 2006. Çiđ Sütte *Pseudomonas aeruginosa* Sayılması İçin Yöntem Modifikasyonları Üzerine alışmalar. Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi, Ankara, Türkiye.
- Akınbowale O.L., Peng H., Grant P. ve Barton, M.D., 2007. Antibiotic and Heavy Metal Resistance in Motile Aeromonads and Pseudomonads from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Farms in Australia. *Int J Antimicrob Ag.*, 30: 177–182.
- Akman M., 1983. *Bakteri Genetiđi*. Cumhuriyet Üniv. Tıp. Fak. Yayını, No:8. Sivas, 560.
- Aksu, Z., 1998. Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Yeşil Alglerden *Chlorella vulgaris*'e Adsorbsiyonunun Kesikli Düzende Karıştırmalı ve Akışkan Yatak Tepkime Kaplarında İncelenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Aksu Z., alık A., Dursun A. Y.ve Demircan Z., 1999. Biosorption of Iron(III)-Cyanide Complex Anions to *Rhizopus arrhizus*: Application of Adsorption Isotherms. *Process Biochem.*, 34: 483-491.
- Al Duri B., 1996. *Adsorption Modelling and Mass Transfer*. In: McKay G (Ed.), Use of Adsorbents for the Removal of Pollutants from Wastewaters. CRC Press, Boca Raton, FL, 133-174.
- Algan F. T. ve Bilen S., 2005. Toprak Kirlenmesi ve Biyolojik Çevre. *Atatürk Üniv. Zir. Fak. Derg.*, 36(1): 83-88.
- Al-Qodah Z., 2006. Biosorption of Heavy Metal Ions from Aqueous Solutions by Activated Sludge. *Desalination*, 196: 164-176.
- Alexander R., 2002. Entwicklung und Charakterisierung wasserlöslicher Benzoylthioharnstoff-funktionalisierter Polymere zur selektiven Abtrennung von Schwermetallionen aus Abwässern und Prozesslösungen. Doktora Tezi, Münih Teknik Üniversitesi, Münih, Almanya.
- Altalhi D. A., 2009. Plasmid Profile, Antibiotic and Heavy Metal Resistance Incidence of Endophytic Bacteria Isolated from Grapevine (*Vitis vinifera* L.). *African Journal of Biotechnology*, 8(21): 5873-5882.

- Anonymous A., 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Eds. J. Holt *et al.* Williams & Wilkins Company, Maryland, 787.
- Artola A. ve Rigola M., 1992. Selection of Optimum Biological Sludge for Zinc Removal from Wastewater by a Biosorption Process. *Biotechnol Lett.*, 14(12): 1199-1204.
- Aşık G.,2011. *Acinetobacter baumannii* Virülansının Açıklanmasında Güncel Yaklaşımlar. *Mikrobiyol Bul.* 45(2): 371-380.
- Aydın F., 2001. Çeşitli Klinik Örneklerden İzole Edilen *Pseudomonas aeruginosa* Suşlarının Değişik Yöntemlerle Çeşitli Antimikrobiyallere Duyarlılıklarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi, A.Ü. Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji Ana Bilim Dalı, Ankara.
- Bilgehan H., 1992. *Özel Bakteriyoloji ve Bakteri Enfeksiyonları: Enterobacteriaceae*. 7th ed. İzmir. Barış yayınları.1-81.
- Bilgehan H., 1995. *Bacillus Genusu: Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Fakülteler Kitabevi, Barış Yayınları, İzmir. 529-532.
- Bilgehan H.,2002. *Klinik Mikrobiyolojik Tanı*. Fakülteler Kitap Evi Barış Yayınları, 777.
- Blais J.F., Tyagi R.O. ve Auclair J.C 1993. Bioleaching of Metals from Sewage Sludge: Effects of Temperature. *Water Res.*, 27(1): 111-120.
- Bonwart G.J.,1989. *Basic Food Microbiology*, Van Nostrand Reinhold, New York. 733.
- Brown N.L., Shih Y.C., Leang C., Glendinning K.J., Hobman J.L. ve Wilson J.R., 2002. Mercury Transport and Resistance. *Biochem. Soc.*, 30: 715-718.
- Bruins M.R., Kapil S. ve Oehme F.W., 2000. Microbial Resistance to Metals in the Environment. *Ecotox. Environ. Safe.*, 45: 198-207.
- Buchanan R.E. ve Gibbons N.E., 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8<sup>th</sup> edition. The Williams and Wilkins Company, Baltimore. 1246.
- Bunzl K., Rosner G. ve Schmindt W., 1983. Distribution of Lead, Cobalt and Nikel in the Soil Around a Coal Fired Power Plant. *Z. Pflanzenernaehr. Bodenk*, 146: 705-713.
- Burke W. F., McDonald K.O. ve Davidson E., 1983. Effects of UV Light on Spore Viability and Mosquito Larvicidal Activity of *Bacillus sphaericus* 1593. *Applied and Environmental Polymer Degredation*, 4(2): 91-102.

- Chilcott C.N. ve Wigley P.J., 1993. Isolation and Toxicity of *Bacillus thuringiensis* from Soil and Insect Habitats in New Zealand. *Journal of Invertebrate Pathology*, 61: 244-247.
- Congeevaram S., Dhanorani S., Park J., Dexilin M. ve Thamaraiselvi K., 2007. Biosorption of Chromium and Nickel by Heavy Metal Resistant Fungal and Bacterial Isolated. *Journal of Hazardous Materials*, 146: 270-277.
- Coral M.N., Korkmaz H., Arıkan B.ve Coral G., 2005. Plasmid Mediated Heavy Metal Resistances in *Enterobacter* spp. Isolated from Sofulu Landfill, in Adana, Turkey. *Annals of Microbiology*, 55(3): 175-179.
- Costa A.C.A., ve Leite S.G.F., 1991. Metal Biosorption by Sodium Alginate Immobilized *Chlorella homosphaera*. *Biotechnol Lett.*, 13(8):559-562.
- Çancı B., 1998. Geochemical Assessment of Environmental Effects of Fly Ash from Seyitömer (Kütahya) Thermal Power Plant. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul.
- Daly S., 200. Characterization and Chromosomal Mapping of Antimicrobial Resistance Genes in *Salmonella enterica* serotype *typhimurium*. *Appl Environ Microbiol*, 66:4842-48.
- Davis D.B., Dulbecco R., Eisen H., Ginsberg H.S. ve Wood W. B., 1968. *Microbiology*. Hober Medical Division, New York.
- Deep B., 2009. Plasmid Mediated Tolerance and Removal of Heavy Metals by *Enterobacter* sp. *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 5(1):47-53.
- Dillon J.R., 1985. *Recombinant DNA Methodology*. Jonh Willey&Sons, Canada.81-83.
- Elmacı A., Yanar T., Özengin N. ve Türkoğlu N., 2005. Zn(II), Co(II) ve Remazol Turkish Blue-G Boyar Maddesinin Sulu Çözeltilerinde Kurutulmuş *Chara* sp., *Cladophora* sp., ve *Chlorella* sp., Türleri ile Biyosorpsiyonun Araştırılması. *Ekoloji*, 14(15): 24-31.
- Erdem B., 1999. *Enterobacteriaceae*. in: Ustaçelebi S. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. ed. Ankara: Güneş Kitabevi. 471-515.
- Favero N., Costa P. ve Massimino M.L., 1991. *in vitro* uptake of Cadmium by Basidiomycetes (*Pleurotus ostreatus*). *Biotechnol Lett.*, 13(10): 701-704.
- Frobisher M., 1968. *Fundamentals of Microbiology*. W. B. Saunders Company, USA.457.
- Gadd G.M., 1990. Heavy Metal Accumulation by Bacteria and Other Microorganisms. *Experimenta*, 46: 834-840.

- Guzzo J., Diorio D.C., Alexander D.C. ve DuBow M.S., 1999. Toward Understanding Metal Stres in Environment Microbial Flora. *Proceedings of the 8th International Symposium on Microbial Ecology*, Canada.
- Gülcan S., 2006. Çeşitli Kaynaklardan İzole Edilen *Pseudomonas* Cinsi Bakterilerin Ağır Metal ve Naftalin Toleransı. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi, Denizli, Türkiye.
- Gürbüz M.G., 2006. Bakır(II) ve Nikel(II) İyonlarının *Enteromorpha polifera*'ya Biyosorpsiyonunda Denge, Kinetik ve Termodinamik Parametrelerin Belirlenmesi Yüksek Lisans Tezi. Mersin Üniversitesi, Mersin, Türkiye.
- Gürkan S., 1992. Çayırhan Linyitlerinden Kostik Yıkama Yöntemiyle Mineral Maddenin Giderilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Ankara.
- Habi S. ve Daba H., 2009. Plasmid Incidence, Antibiotic and Metal Resistance Among *Enterobacteriaceae* isolated from Algerian Streams. *Pak. J. Biol. Sci.*, 15:(22): 158:165.
- Haktanır K., Karaca A., Ok S., Arcak S., Türkmen C., Topçuoğlu B. ve Türeli, F., 2006. Muğla Yatağan Termik Santral Emisyonlarının Etkisinde Kalan Tarım ve Orman Topraklarının Kirlilik Veri Tabanının Oluşturulması ve Vejetasyon Etkilerinin Araştırılması. A.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.
- Haq R., Raidi K.S. ve Shakonii A.R.R., 1999. Cadmium Resistant *Enterobacter cloaceae* and *Klebsiella* sp. Isolated from Industrial Effluents and Their Possible Role in Cadmium Detoxification. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 15:283-290.
- Helmuth R. ve Seidler A., 1986. Epidemiology and Chromosomal Location of Genes Encoding Multipresistance in *Salmonella dublin*. *J Antimicrobial Agents Chemother*, 179-181.
- Helmuth R., 2000. *Antibiotic Resistance in Salmonella*. In: Wray C, Wray A, eds. *Salmonella in Domestic Animals*. CABI Publishing, 89-106.
- Ho Y.S. ve McKay G., 1999. Pseudo-second Order Model for Sorption Processes. *Process Biochem.*, 34:451-465.
- Hu Q., Qi H., Bai Z., Dou M., Zeng J., Zhang F. ve Zhang H., 2007. Biosorption of Cadmium by A Cd<sup>+2</sup> Hyperresistant *Bacillus cereus* strain HQ-1 Newly Isolated from A Lead and Zinc Mine. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23(7):971-976.



- Huang C.P., ve Mürehart A.L., 1990. The Removal of Cu (IT) from Dilute Aqueous Solutions by *Saccharomyces cerevisiae*. *Water Res.*, 24:433-439.
- Ihan S., Çabuk A., Filik C. ve Çalışkan F., 2004. Effect of Pretreatment on Biosorption of Heavy Metals by Fungal Biomass. *Trakya University Journal of Science*, 5(1):11-17.
- İleri R. ve Çakır G., 2006. Bakır İyonlarının ( $Cu^{+2}$ ) Sıvı Ortamdan Biyosorpsiyonla Gideriminin İzoterm Sabitlerinin Matlab Programı ile Belirlenmesi. *Ekoloji*, 15(59): 8-17.
- Jahansson C., 1999. *Bakterilerin Sınıflandırılması*. In: Ustaçelebi S. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. 1. ed. Ankara: Güneş Kitabevi.23-33.
- Jain SK, Vasudevan P. ve Jha N.K., 1990. *Azolla pinnata* RBr. and *Lemna minor* L. for Removal of Lead and Zinc from Polluted Water. *Water Res.*, 24(2): 177-182.
- Ji G., ve Silver S.,1995. Bacterial Resistance Mechanism for Heavy Metals of Environmental Concern. *J. Ind. Microbiol.*, 14: 61-168.
- Kabasakal E., 2001. Herbisitlerden 2,4-Diklorofenoksiasetik Asit (2,4-D)' in Adsorpsiyonunun İncelenmesi.Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Kahvecioğlu Ö., Kartal G., Güven A ve Timur S., 2004. Metallerin Çevresel Etkileri-I. *Metalurji Dergisi*, 136: 47-53.
- Kalaylı E., Beyatlı Y., 2003. *Bacillus* Cinsi Bakterilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri, PHB Üretimleri ve Plazmid DNA'ları. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 1(12): 24-25.
- Karaca A., 1997. Afsin-Elbistan Termik Santrali Emisyonlarının Çevre Topraklarının Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Özellikleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi Ankara Üniv. Fen Bil. Ens., Ankara.
- Karaca A., Turgay O.C., Karaca S., Sağlam M., Türkmen F., Deviren S. ve Türkmen N., 2007. Seyitömer Termik Santrali Emisyonlarının Çevre Toprakları Üzerine Etkileri. A.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri, Ankara.
- Karaca A, Türkmen C, Arcak S, Haktanır , Topçuoğlu B ve Yıldız H.,2009. Çayırhan Termik Santrali Emisyonlarının Yöre Topraklarının Bazı Ağır Metal ve Kükürt Konsantrasyonlarına Etkilerinin Belirlenmesi. *Ankara Üniversitesi Çevre Bilimleri Dergisi*, 1(1): 25-41.
- Karin M., 1985. Metallothioneins: Proteins in Search of Function. *Cell*, 41: 9-10.

- Khleifat K.M., Nawayseh K., Adjeround N.R., Khlaifat A. M., Aljundi I. H ve Taraw K. A.,2009. Cadmium Resistance Plasmid Affected  $Cd^{+2}$  Uptake More Than  $Cd^{+2}$  Adsorption in *Klebsiella oxytoca*. *Bioremediation Journal*, 13(4): 159-170.
- Kim H. S., Lee D. W., Woo S. D., Yu M. Y. ve Kang, K. S., 1998. Distribution, Serological Identification, and PCR Analysis *Bacillus thuringiensis* Isolated from Soils of Korea. *Current Microbiology*, 37: 195-200.
- Kratochvil D. ve Volesky B., 1998. Advances in the Biosorption of Heavy Metals-Reviews. *Trends Biotechnol*, 16,:291-300.
- Li X.Z., Nikaido H. ve Williams K.E., 1997: Silver-Resistance Mutants of *Escherichia. coli* Display Active Efflux of  $Ag^+$  and are Deficient in Porins. *J. Bacteriol.*, 179(19): 6127-6132.
- Lowe L.W. ve Gaudy A.F., 1989. Modified Extended Aeration Process for Removal and Recovery of Cadmium from Wastewaters. *Biotechnol. Bioeng.*, 34: 600- 608.
- Lu W., Shi J., Wong C. ve Chang J., 2006. Biosorption of Lead, Copper and Cadmium by on indigenus Isolate *Enterobacter* sp. JI Possesing High Heavy Metal Resistance. *Journal of Hazardous Materials*, 134:1(3): 80-86.
- Madigan M.T., Martinko J.M. ve Parker J. 2010. *Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi* (Çeviren: Cumhur Çökmüş). Palme Yayıncılık, Ankara.
- Maniatis T., Fritsch E.F. ve Sambrook J. 1982. *Moleculer Cloning A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor, New York, 545.
- Martinez M.R. ve Spears D.A., 1996. The Fate of Trace Elements and Bulk Minerals in Pulverized Coal Combustion in a Power Station. *Fuel Processing Technology*, 47:79-92.
- Massle J., Roberts G. ve White, O. J., 1985. Selective isolation of *Bacillus sphaericus* from soil by use of acetate as major source of carbon, *Applied and Enviromental Microbiology*, 1478-1481.
- Mathema V.B., Thakuri B.K.C., Sillanpoa M. ve Shrestha R.A., 2011. Study of Mercury (II) Chloride Tolerant Bacterial Isolated from Baghmati River with Estimation of Plasmid size and Growth Variation for The High Mercury (II) Resistance *Enterobacter* spp. *Journal of Biotech Research*, 3: 72-77.

- Matyar F., Akkan T., Uçak Y. ve Eraslan B., 2009. *Aeromonas* and *Pseudomonas*: Antibiotic and Heavy Metal Resistance Species from Iskenderun Bay, Turkey (northeast Mediterranean Sea). *Environ Monit Assess*, 167, 1(4): 309-320.
- McEntee J. D., Woodrow J. R. ve Quirk A.V.,1986. Investigation of Cadmium Resistance in *Alcaligenes* sp. *App. Environ. Microbiol.*, 51: 515-520.
- Mejsrik V. ve Suacha J., 1988. Concentration of Co, Cr, Cd, Ni and Zn in Crop Plants Cultivated in the Vicinity of Coal Firewd Power Plant. *The Science of the Environment*, 72: 57-67.
- Mergeay M., 1991. Towards an Understanding of The Genetics of Bacterial Resistance. *Trends Biotechnol.*, 9:17-24.
- Mullen M.D., Wolf D.C., Ferris F.G., Beveridge T.J. , Flemming, C.A. ve Bailey G.W., 1989. Bacterial Sorption of Heavy Metals. *Applied And Environmental Microbiology*, 55: 3143-3149.
- Nies D.H. ve Silver S., 1995. Ion Efflux Systems Involved in Bacterial Metal Resistance. *J. Ind. Microbiol.*, 14(2): 186-199.
- Nies D.H., 1999. Microbial Heavy-Metal Resistance. *Appl. Microbiol Biotechnol.*, 51: 730-750.
- Nuhoğlu Y., 1993. Muğla Kemerköy Termik Santralinin Oluşturacağı Çevre Kirliliğinin Ormanlar Üzerindeki Etkileri. Doktora tezi. İstanbul Üniv., Fen Bil. Enstitüsü, İstanbul.
- Olgun A., ve Topal A.,1999. *DNA' nın Analizi. Moleküler Biyolojide Kullanılan Teknikler.* Nobel Kitap Evi, 236.
- Onacak T., 1999. Türkiye'deki Termik Santrallara Beslenen Kömürlerin ve Yanma Sonucu Oluşan Katı Atıkların Çevresel Etkileri. Doktora tezi, Hacettepe Üniv., Fen Bil. Enstitüsü, Ankara.
- Özcan M., 1996. Ankara Garnizonundaki Askeri Birliklerin İçme Sularında Membran Filtrasyon Tekniği ile *Pseudomonas aeruginosa* 'nın İzolasyonu ve İdentifikasyonu Üzerine Araştırmalar. Yüksek Lisans Tezi, A.Ü. Sağlık Bil. Ens., Ankara.
- Öztürk F., 2007. Ankara'daki Topraklardan İzole Edilen *Bacillus* Türlerinin Tanımlanması, Moleküler Düzeyde Tiplendirilmesi ve Biyolojik Aktivitelerinin Belirlenmesi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi, Ankara.

- Pacyna J.M., 1987. *Atmospheric Emissions of As, Cd, Pd, and Hg from High Temperature Processes in Power Generation and Industry*. Ed. T.C. Hutchinson and K.M. Meema. John Wiley&Sons Ltd. 221.
- Park D., Yun Y.S, Kim J.Y. ve Park J.M., 2008. Use of Fermentation Waste for Detoxifying Cr(VI) in Aqueous Solution. *Chem. Eng. J.*, 136: 173–179.
- Paterson E.M., Pezzlo M.T. ve Shigei J.T., 2004. *Color Atlas of Medical Bacteriology: Introduction to Enterobacteriaceae*. Washington DC. AMS. 83-110.
- Robinson R.K., 1985. *Dairy Microbiology*, vol. 2. Chapman and Hall, London.
- Rosenshtein J.S., 1970. Sanitary Toxicological Assesment of Low Concentrations of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> in the Athmosphere. *G.G. Sanit.*, 35(1): 15-20.
- Rosovitz M.J., Voskuil M.I. ve Chambliss G.H., 1998. *Bacillus*, Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, Systematic Bacteriology, 9nd Edition, Volume 2, by edited Collier L., Balows, A. and Susman, M., Oxford University Pres, New York. 709-730.
- Ren Y., Zhou Z., Guo X., Li Y., Feng L. ve Wang L., 2010. Complete Genom Sequence of Enterobacter cloaceae subsp. cloaceae Type Strain ATCC 13047. *Journal of Bacteriology*, 2463 -2464.
- Sağ Y., 1993. Atıksulardaki Ağır Metal İyonlarının Giderilmesi ve Geri Kazanılması İçin En Uygun Biyosorbent Türünün Seçilmesi ve Değişik Reaktör Sistemlerinin Matematiksel İncelenmesi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Sağlam N., Cihangir, N., 1995. Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorpsiyonu. *Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 11: 157-161.
- Sar P., Kazy S.K., Asthana R.K. ve Singh S.P., 1999. Metal Adsorption and Desorption by Lyophilized *Pseudomonas aeruginosa*. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 44:101-110.
- Sevgi E., 2007. Ağır Metalle Kontamine Olmuş Topraklardan Metal İyonlarına Dirençli Bakteri İzolasyonu ve Bu Dirençliliğin Plazmidlerle Olan İlişkisinin Araştırılması. Yüksek Lisan Tezi. Mersin Üniversitesi, Mersin, Türkiye.
- Shravan K.C.H., Sivarama S.Y. ve Moran M.P., 1992. Use of Wild Type and Nickel Resistant *Neurospora crassa* for Removal of Ni<sup>2+</sup> from Aqueous Medium. *Biotechnology Letters*, 14(11):1099-1202.

- Silver S., 1998. Genes for all Metals – A bacterial View of the Periodictable the 1996 Thom Award Lecture. *J. Ind. Microbiol. Biotech.*, 20:1-12.
- Silver S., 1992. Plasmid-Determined Metal Resistance Mechanisms: Range and Overview. *Plasmid.*, 27: 1-3.
- Sneath P. H. A.,1986. *Endospore-forming Gram-Positive Rods and Cocci, Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Volume 2, edited by PHA Sneath, N.S., Mair, M.E., Sharpe, J.G., Williams and Wilkins, Holt. 1104- 1139.
- Singh K.L and Ashok K.,1998. Incidence of Multiple Heavy Metal Resistance in A *Bacillus* species. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 8(5):497-500.
- Strohl W.A., Rouse H. ve Fisher B.D., 2006. *Lippincott's Illustrated Reviews : Microbiology*. New Jersey, 115-125.
- Taghavi S., Lelie D., Haffman A., Zhang J., Walla M., Vangransveld J., Newman L. ve Marchy S., 2010. Genome sequence of the Plant Growth Promoting Endophytic Bacterium *Enterobacter* sp. pLOS Genetics. 638.
- Taubman S., 1992. Genus *Bacillus*, Contemporary. *Oral Microbiology and Immunology*, 355-356.
- Ting Y.P., Lawson F. ve Prince L.G., 1991. Uptake of Cadmium and Zinc by the Alga *Chlorella vulgaris*: II Multi-ion stiation. *Biotechnol. Bioeng.*, 37:445 -455.
- Tobin J.M., Coper D.G.ve Neufeld R., 1984. Uptake of Metal Ions by *Rhizopus arrhizus* Biomass. *Appl.Environ.Microbiol.*, 47: 821-824.
- Turnbell P.C.B. ve Kramer J.M., 1991. *Bacillus*: Manual of clinical Microbiology, Fifth Edition, Balows, A., Hauster, J. R., Herman, K. L., Isenberg, H. D. and Shadomy, H. J., American Society of Microbiology, Washington D. C. 296-303.
- Ülgen M., 2011. *Temel Veteriner Mikrobiyoloji ve İmmünoloji*. T.C. Anadolu Üniversitesi Yayın No: 2338. 50.
- Wong P.K. ve Kwok S.C., (1992): Accumulation of Nickel Ion (Ni<sup>+2</sup>) by Immobilized Cells of *Enterobacter* species. *Biotechnol Lett.*, 14(7): 629-634.
- Yazgan A., Özcengiz G., ve Alaeddinoğlu G.,1993. Studies on Metal Resistance System in *Kluyveromyces marxianus*. *Biological Trace Element Research*, 38: 117-127.
- Yüce A., 2001. Antimikrobik ilaçlara direnç kazanma mekanizmaları. *Klin.Mik. Derg.*, 14:41-46.

Zengin F.K. ve Munzuroğlu O., 2005. Fasulye Fidelerinin (*Phaseolus vulgaris* L.strike) Klorofil ve Karotenoid Miktarı Üzerine Bazı Ağır Metallerin ( $Ni^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Cr^{+2}$ ,  $Zn^{+2}$ ) Etkileri. *F. U. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17: 164-172.

Zhou J.L.ve Kiff R.J., 1991. The Uptake of Copper from Aqueous Solution by Immobilized Fungal Biomass. *J. Chem.Tech.Biotechnol.*, 52: 317-330.

<https://www.anadolu.edu.tr/aos/kitap/EHSM/1213/unite04.pdf> (11/02/2012)

<http://www.bio.sci.osaka-u.ac.jp/initiative2006/pdf/TsaiLectSum.pdf> (01/12/2011)

<http://www.scribd.com/doc/46508111/Mikrobiyal-Biyosorpsiyon> (01/12/2011)

<b>ÇİZELGELER</b>	<b>Sayfa No</b>
Çizelge 1.1. Topraktaki Ağır Metal Sınır Değerleri .....	2
Çizelge 1.2. Uçucu Kül içindeki Ağır Metal Konsantrasyonu Sınır Değerleri .....	3
Çizelge 2.1. Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri .....	6
Çizelge 2.2. Plazmidlerin Prokaryotlara Kazandırdığı Fenotiplerden Bazıları .....	29
Çizelge 4.1. Toprak Örneklerinin mg/kg Türünden Sonuçları .....	46
Çizelge 4.2. Toprak Örneklerinin ppm Türünden Sonuçları .....	46
Çizelge 4.3. A İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler .....	48
Çizelge 4.4. B İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler .....	48
Çizelge 4.5. C İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler .....	49
Çizelge 4.6. D İstasyonundan İzole Edilen ve Direnç Gösteren Bakteriler .....	49
Çizelge 4.7. Ağır Metallerin Adsorpsiyon Hızları (ppm/saat) .....	50
Çizelge 4.8. A istasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri .....	50
Çizelge 4.9. B istasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri .....	54
Çizelge 4.10. C istasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri .....	59
Çizelge 4.11. D istasyonundan izole edilen bakterilerin test edilen ağır metallere karşı oluşturduğu MIC değerleri .....	63
Çizelge 4.12. Ağır metallerin adsorpsiyon hızları (ppm/saat) .....	75

<b>ŞEKİLLER</b>	<b>Sayfa No</b>
Şekil 2.1. Şematik Olarak Ağır Metallerin Doğaya Yayınimleri .....	10
Şekil 2.2. Langmuir Eşitliği Doğrusal Formu .....	19
Şekil 2.3. Freundlich Eşitliği Doğrusal Formu .....	20
Şekil 3.1. Çalışmada Kullanılan Toprak Örneklerinin Alındığı İstasyonlar .....	42
Şekil 4.1. A İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci .....	51
Şekil 4.2. A İstasyonu İzolatlarının Demir Direnci .....	51
Şekil 4.3. A İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci .....	52
Şekil 4.4. A İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci .....	53
Şekil 4.5. B İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci .....	55
Şekil 4.6. B İstasyonu İzolatlarının Demir Direnci .....	56
Şekil 4.7. B İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci .....	57
Şekil 4.8. B İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci .....	58
Şekil 4.9. C İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci .....	60
Şekil 4.10. C İstasyonu İzolatlarının Demir Direnci .....	61
Şekil 4.11. C İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci .....	61
Şekil 4.12. C İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci .....	62
Şekil 4.13. D İstasyonu İzolatlarının Kurşun Direnci .....	63
Şekil 4.14. D İstasyonu İzolatlarının Demir Direnci .....	64
Şekil 4.15. D İstasyonu İzolatlarının Çinko Direnci .....	65
Şekil 4.16. D İstasyonu İzolatlarının Bakır Direnci .....	65
Şekil 4.17. Direnç Gösteren Suşların Plazmid İçerikleri .....	66
Şekil 4.18. Direnç Gösteren Suşların Plazmid İçerikleri .....	67
Şekil 4.19. Direnç Gösteren Suşların Plazmid İçerikleri .....	68
Şekil 4.20. Direnç Gösteren Suşların Plazmid İçerikleri .....	69



Şekil 4.21. Enterobacter cloaceae complex (izolat 10) Suşunun Demir Biyosorpsiyonu Süresince Zamana Bağlı Adsorpsiyon Hız Değişimi .....	70
Şekil 4.22. Bacillus mycoides (izolat 26) Suşunun Demir Biyosorpsiyonu Süresince Zamana Bağlı Adsorpsiyon Hız Değişimi .....	71
Şekil 4.23. Enterobacter cloaceae complex (izolat 10) Suşunun Çinko Biyosorpsiyonu Süresince Zamana Bağlı Adsorpsiyon Hız Değişimi .....	71
Şekil 4.24. Bacillus mycoides (izolat 26) suşunun çinko biyosorpsiyonu süresince zamana bağlı adsorpsiyon hız değişimi .....	72
Şekil 4.25. Enterobacter cloaceae complex (izolat 10) Suşunun Bakır Biyosorpsiyonu Süresince Zamana Bağlı Adsorpsiyon Hız Değişimi .....	72
Şekil 4.26. Bacillus mycoides (izolat 26) Suşunun Bakır Biyosorpsiyonu Süresince Zamana Bağlı Adsorpsiyon Hız Değişimi .....	73
Şekil 4.27. Enterobacter cloaceae complex (izolat 10) Suşunun Kurşun Biyosorpsiyonu Süresince Zamana Bağlı Adsorpsiyon Hız Değişimi .....	73
Şekil 4.28. Bacillus mycoides (izolat 26) Suşunun Kurşun Biyosorpsiyonu Süresince Zamana Bağlı Adsorpsiyon Hız Değişimi .....	74

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: Görkem DÜLGER

Doğum Yeri: MERSİN

Doğum Tarihi: 28.10.1983

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen – Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Moleküler Biyoloji ve Mikrobiyoloji Seksiyonu.

Yüksek Lisans Öğrenimi: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Fen – Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

1)Yayımlar – SCI – Diğer

**Dulger G.**, Akı C. ve Dulger B.,2010. Antimicrobial Activity of Endemic *Ballota nigra* subsp. *anatolica* in Turkey. Asian Journal of Chemistry, 22(8): 6497-6502.

**Dulger G.**, Dulger B. ve Akı C., 2010. Antibacterial Activity of Two Endemic *Hypericum* (*H. kazdaghensis* and *H. havvae*) Against Methicilin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Asian Journal of Chemistry, 22(9): 7083-7086 (2010).

**Dulger G.**, Akı C., 2009. Antimicrobial Activity of Endemic *Stachys pseudopinardii* in Turkey. Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8(4):371-375.

Başaran D, Uğurlu E., Akı C., Bican Suerdem T., Çamdeviren A. ve **Tazeler G.**, 2005. Evaluation of Antimicrobial Activity of Some Endemic *Verbascum*, *Sideritis* and *Stachys* Species from Turkey. Pharmaceutical Biology, 43(3):270-274.

Dulger B., Hacıoğlu N., ve **Dulger G.**, 2008. Antimicrobial Activity of Endemic *Hypericum havvae* From Turkey”, Asian Journal of Chemistry, 20(5): 3889-3892 (2008)

Dülger B., **Dulger G.**, Hacıoğlu N. ve Gucin F., 2007. A new record for the Turkish mycota: *Xylaria filiformis*. Mycologica Balcanica, 4(1-2): 95-96.

Dülger B., **Dulger G.**, 2010. Türkiye Mikrobiotası İçin Yeni Bir Askomiset Kaydı: *Rosellinia mycophila* (Xylariaceae). Kafkas Üniv. Fen Bil. Derg., 3(1): 9-12.

## 2) Bildiriler – Uluslar arası – Ulusal

Dulger B, Akı C, Hacıoğlu N, **Dulger G**, Duman S. “Evaluation of Antibacterial Activity of *Verbascum sinuatum*”. International Symposium on Biotechnology: Developments and Trends (27-30 Sept. 2009), Middle East Technical University, Ankara (2009).

**Dülger G**, Akı C. “Antimicrobial Activity of *Salvia viridis*”. International Symposium on Biotechnology: Developments and Trends (27-30 Sept. 2009), Middle East Technical University, Ankara (2009).

Hacıoğlu, N., Dülger, B., **Dülger, G.**, Özşen, E., Gucin, F. “Türkiye Mikrobiyası İçin Yeni Bir Kayıt: *Lachnella alboviolascens*”. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi (23-27 Haziran 2008), Özetler Kitapçığı, 251, Trabzon (2008).

Dülger, B., Hacıoğlu, N., **Dülger, G.** “Bazı Makrofungus Türlerinin Antimikrobiyal Aktivitesinin Belirlenmesi”. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi (23-27 Haziran 2008), Özetler Kitapçığı, 239, Trabzon (2008).

## 3) Katıldığı Projeler

### **İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Biga Meslek Yüksek Okulu, Gıda İşleme Bölümü, Gıda Teknolojisi Programı, 2010.

### **İLETİŞİM**

E – Posta Adresi: gorkemtazeler@yahoo.com