

**LİF KABAĞI SÜNGERİNE TUTUKLANMIŞ
Pseudomonas putida HÜCRELERİ İLE BAKIR (II)
İYONLARININ BİYOSORPSİYONU**

Arzuhan ŞİHOĞLU-TEPE

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
2003**

T.C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**LİF KABAĞI SÜNGERİNE TUTUKLANMIŞ *Pseudomonas putida*
HÜCRELERİ İLE BAKIR (II) İYONLARININ BİYOSORPSİYONU**

Arzuhan ŞİHOĞLU-TEPE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

SİVAS-2003

Danışman
Yrd. Doç. Dr. Rana TAŞKIN

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Bu çalışma, jürimiz tarafından, Biyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Y.Dr. Dr. H. Nursevin ÖZTOP 

Üye

Y.Doç. Dr. Rana TAŞKIN 

Üye

Uz.Drs. Dr. Meltem Sarlı 

Üye

.....

Üye

.....

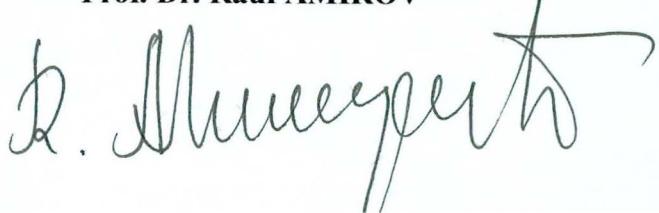
ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen Öğretim Üyeleri'ne ait olduğunu onaylarım.

05.09.2003

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Prof. Dr. Rauf AMIROV



Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 05 / 01 / 1984 tarihli toplantısında kabul edilen ve daha sonra 30 / 12 / 1993 tarihinde C. Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'nce hazırlanan ve yayınlanan "Yüksek Lisans ve Doktora Tez Yazım Kılavuzu" adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

ŞİHOĞLU ailesine sevgi ve saygılarla ...

Arzuhan ŞİHOĞLU-TEPE

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iii
SUMMARY	iv
TEŞEKKÜR	v
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ	1
1.1. Ağır Metaller ve Çevre Kirliliği	1
1.2. Ağır Metallerin Canlı Organizmalar Üzerine Etkisi	2
1.3. Ağır Metallerin Biyosorpsiyon Mekanizmaları	3
1.4. Çalışmanın Amacı	6
2. MATERİYAL ve METOT	7
2.1. Materyal	7
2.1.1. Kullanılan Mikroorganizma	7
2.1.2. Kimyasal Maddeler	7
2.2. Metot	7
2.2.1. Mikroorganizmaların Üretilmesi	7
2.2.2. Mikroorganizmanın Lif Kabağına Tutuklanması	7
2.2.3. Deney Sistemi	8
2.2.4. Çalışma Koşulları	8
2.2.5. Analiz Yöntemleri	8
2.2.6. Adsorplanan Bakır (II) İyonu Miktarının Hesaplanması ve Adsorpsiyon Kinetikleri	9
3. BULGULAR	10
3.1. Farklı Partikül Büyüklüklerine Sahip Lif Kabaklarının Bakteri Tutuklama Kapasiteleri	10
3.2. Bakır (II) İyonlarının Adsorpsiyonu Üzerine Lif Kabağı Büyüklüğünün Etkisi	11
3.3. Bakır (II) İyonlarının Adsorpsiyonu Üzerine Farklı Başlangıç pH'larının Etkisi	13
3.4. Bakır (II) İyonlarının Adsorpsiyonu Üzerine Sıcaklığın Etkisi	14

3.5. Başlangıç Bakır (II) İyonu Derişiminin Adsorpsiyon Üzerine Etkisi	16
3.6. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Çalkalama Hızının Etkisi	17
3.7. Bakır (II) İyonu İçin Adsorpsiyon Kinetikleri	19
4. TARTIŞMA ve SONUÇ	21
4.1. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Lif Kabağı Büyüklüğünün Etkisi	21
4.2. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Farklı Başlangıç pH'larının Etkisi	22
4.3. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Sıcaklığın Etkisi	23
4.4. Başlangıç Bakır (II) İyonu Derişiminin Adsorpsiyon Üzerine Etkisi	24
4.5. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Çalkalama Hızının Etkisi	25
4.6. Bakır (II) İyonu İçin Adsorpsiyon Kinetikleri	25
5. KAYNAKLAR	26
6. ÖZGEÇMİŞ	32

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

LİF KABAĞI SÜNGERİNE TUTUKLANMIŞ *Pseudomonas putida* HÜCRELERİ İLE BAKIR (II) İYONLARININ BIYOSORPSİYONU

Arzuhan ŞİHOĞLU-TEPE

**Cumhuriyet Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı**

Danışman

Yrd. Doç. Dr. Rana TAŞKIN

Bu çalışmada lif kabağı süngerine tutuklanmış *Pseudomonas putida* hücreleri ile bakır (II) iyonlarının biyosorpsiyonu araştırıldı. Bu amaçla, farklı lif kabağı partikül büyülüklüğü, başlangıç pH, sıcaklık, başlangıç bakır (II) iyonu derişimi (C_0) ve çalkalama hızının bakır (II) iyonu adsorpsiyonu üzerine etkisi incelendi. Yapılan çalışmalar sonucunda optimum koşullar olarak, lif kabağı büyülüklüğü 0.42-0.85 mm; başlangıç pH 5.0; sıcaklık 30 °C; başlangıç bakır (II) iyonu derişimi 25 mg L⁻¹ ve çalkalama hızı 130 devir dk⁻¹ olarak saptandı. Kinetik hesaplamalar sonucunda, *P. putida* tutuklanmış lif kabağı süngerinde adsorbsiyon hızı (r_0) 0.077 mg g⁻¹ dk⁻¹ ve denge halinde adsorblanan bakır (II) iyonu miktarı (Q_{max}) 0.39 mg g⁻¹ olarak bulunurken, *P. putida* içermeyen lif kabağı süngerinde adsorbsiyon hızı (r_0) 0.052 mg g⁻¹ dk⁻¹ ve denge halinde adsorblanan bakır (II) iyonu miktarı (Q_{max}) 0.096 mg g⁻¹ şeklinde kaydedildi.

Anahtar Kelimeler: Biyosorpsiyon, *Pseudomonas putida*, bakır (II) adsorpsiyonu.

SUMMARY
M. Sc.

**THE BIOSORPTION OF COPPER (II) IONS BY *Pseudomonas putida* CELLS
IMMOBILIZED TO THE VEGETABLE SPONGE OF *Luffa cylindrica***

Arzuhan ŞİHOĞLU-TEPE

**Cumhuriyet University
Graduate School of Natural and
Applied Sciences
Department of Biology**

Supervisor

Assist. Prof. Dr. Rana TAŞKIN

In this study, the biosorption of copper (II) ions by *Pseudomonas putida* cells immobilized to the vegetable sponge of *Luffa cylindrica* was investigated. For this purpose, effects of vegetable sponge particle size differences, initial pH, temperature, initial copper (II) ion concentration (C_0) and the shaking rate on adsorption of copper (II) ions were examined. As a result of the study, optimum conditions were determined as follows: vegetable sponge particle size 0.42-0.85 mm; initial pH 5.0; temperature 30 °C; initial copper (II) ion concentration 25 mg L⁻¹ and shaking rate 130 cycle minute⁻¹. According to the kinetic calculations; in the case of *P. putida* cells immobilized to the vegetable sponge, adsorption rate (r_0) and the amount of Cu (II) ions in equilibrium (Q_{max}) were found as 0.077 mg g⁻¹ dk⁻¹ and 0.39 mg g⁻¹, respectively; while these values were 0.052 mg g⁻¹ dk⁻¹ and 0.096 mg g⁻¹ for vegetable sponge without *P. putida* cells.

Key Words: Biosorption, *Pseudomonas putida*, copper (II) adsorption.

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardımını esirgemeyen danışmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Rana TAŞKIN'a, laboratuvar çalışmaları ve sonrasında yardımlarını gördüğüm hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine KAÇMAZOĞLU'na, Sayın Yrd. Doç. Dr. Nursevin ÖZTOP'a, ve Sayın Doç. Dr. Münevver SÖKMEN'e, çalışmalarım boyunca hep yanımda olan eşim Arş. Gör. Bektaş TEPE'ye, maddi ve manevi anlamda yardımlarını esirgemeyen annem Nilüfer ŞİHOĞLU, babam Alaattin ŞİHOĞLU ve kardeşim Aslıhan ŞİHOĞLU'na teşekkürlerimi sunarım.

Arzuhan ŞİHOĞLU-TEPE

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1 Metal iyonlarının biyosorpsiyon mekanizması	5
Şekil 3.1 Farklı partikül büyülüğüne göre lif kabaklarının tutuklama kapasiteleri (w/w)	10
Şekil 3.2 Bakır (II) iyonlarının adsorpsiyonu üzerine lif kabağı büyülüğünün etkisi	11
Şekil 3.3 Denge durumunda farklı partikül büyülüğüne sahip lif kabaklarının bakır (II) iyonu adsorpsiyonu üzerine etkisi	12
Şekil 3.4 Bakır (II) iyonlarının adsorpsiyonu üzerine farklı başlangıç pH'larının zamana bağlı değişimi	13
Şekil 3.5 Denge konumunda farklı başlangıç pH'larının bakır (II) iyonu adsorpsiyonu üzerine etkisi	14
Şekil 3.6 Bakır (II) iyonlarının adsorpsiyonu üzerine sıcaklığın zamana bağlı değişimi	15
Şekil 3.7 Denge konumunda bakır (II) iyonlarının adsorpsiyonu üzerine sıcaklığın etkisi	15
Şekil 3.8 Bakır (II) iyonlarının adsorpsiyonu üzerine başlangıç bakır (II) iyonu derişiminin zamana bağlı değişimi	16
Şekil 3.9 Denge konumunda farklı başlangıç bakır (II) iyonu derişiminin adsorpsiyon üzerine etkisi	17
Şekil 3.10 Bakır (II) iyonu adsorpsiyonu üzerine çalkalama hızının etkisi	18
Şekil 3.11 Farklı çalkalama hızlarının bakır (II) iyonu adsorpsiyonu üzerine etkisi	18
Şekil 3.12 <i>P. putida</i> hücreleri tutuklanmış lif kabağı ve <i>P. putida</i> tutuklanmamış lif kabağı için bakır (II) iyonu adsorpsiyon eğrileri	19
Şekil 3.13 <i>P. putida</i> hücreleri tutuklanmış lif kabağı ve <i>P. putida</i> tutuklanmamış lif kabağı için bakır (II) iyonu adsorpsiyonunda kinetik eğriler	20

1. GİRİŞ

1.1. Ağır Metaller ve Çevre Kirliliği

İnsanoğlu yüzyıllar boyunca doğa ile iç içe yaşamış ve yaşamsal faaliyetlerini yerine getirebilmek için gereksinim duyduğu ihtiyaçlarının pek çoğunu, aynı zamanda yaşama ortamı olarak kullandığı doğal çevreden edinme yoluna gitmiştir. Bu gereksinimlerin başında beslenme gelmektedir. İnsanoğlunun beslenme gereksinimlerini karşılayışının tarihçesine göz atılacak olursa, ilk dönemlerde basit bir avlanma ihtiyacına ve çevreyi nispeten doğal haliyle kabullenme içgüdüsüne sahip olduğu görülecektir. Ancak ilerleyen dönemlerde nüfustaki hızlı artış ve kentleşme, yetersiz bir alt yapının oluşmasına yol açmıştır. Buna paralel olarak sanayileşmede de büyük bir ivme kaydedilmiştir. Artan ihtiyacı cevap verebilmek için, sayıları gün geçikçe artan sanayi kuruluşları günümüzde artık çevreyi tehdit edici konuma ulaşmıştır. Bugün sanayi kuruluşlarının pek çoğunda arıtım tesislerinin bulunması çevreyi olumsuz yönde etkileyen başlıca faktörler arasındadır. Amerika Birleşik Devletleri’nde her yıl 275 milyon tondan fazla zararlı atığın çevreye bırakıldığı tahmin edilmektedir (Crusberg, 1994).

Hava kirliliği, toprak kirliliği, su kirliliği, gürültü kirliliği gibi birçok faktör çevre kirliliğinin öğeleri arasındadır. Kuşkusuz her biri diğerine nazaran oldukça önemli olan bu kirlilik kavramlarının içerisinde su kirliliğinin önemi çok büyütür. Yaşamın sularda başladığı düşünülecek olursa, sucul sistemlerin organizmalara sunduğu avantajlar daha anlamlı olacaktır. Su, canlıların yaşamı için vazgeçilmezdir.

Su kirliliğine yol açan başlıca etkenler arasında sucul sistemlerin organik kirleticilerin etkilerine maruz kalmaları ve bunun yanısıra büyük çoğunuğu ağır metallerin oluşturduğu inorganik maddelerin eşik derişimlerin üzerinde bulunmaları gelmektedir (Lee ve Low, 1980). Günümüzde metal kaplama ve cilalama işlemleri, madencilik ve maden cevheri işleme uygulamaları, pil ve akü imalatı, özellikle kömür yakıtlı termal enerji santrali gibi endüstriler su kaynaklarını ağır metaller yönünden kirletmektedir. Ağır metaller canlı

bünyesinde birikebilen, besin zinciri ile insana kadar ulaşabilen ve canlılar için tahriş edici ve toksik etkileri olan maddelerdir (Kesenci ve *Ark.*, 1997).

Sanayi gelişikçe, endüstriyel kuruluşlar da ağır metal kullanımını yaygınlaştırılmışlardır. Gelişmekte olan ülkelerde küçük ya da orta dereceli birçok kuruluş, önemli miktarda ağır metal içeren atık maddeleri herhangi bir arıtma işleminden geçirmeden çevreye bırakmaktadır. Bunun en çarpıcı örneğini Malezya'da görmek mümkündür. Burada; bakır, nikel, kurşun, krom ve çinko gibi ağır metalleri içeren atıkların su kaynaklarına yakın yerlerde çevreye boşaltıldıkları bildirilmiştir (Lee ve Low, 1980; Anon, 1995). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir araştırmada, endüstriyel kuruluşlar tarafından çevreye bırakılan atıkların % 90'ından fazlasının doğrudan sucul sistemleri etkilediği belirtilmektedir (Querk ve *Ark.*, 1998).

Metal iyonlarının su kirliliği üzerindeki etkileri, onların sudaki çözünürlüklerinden kaynaklanıyor olabileceği gibi, çözünmeden suyun dibinde toplanmaları sonucunda da gerçekleşebilir. Endüstri kuruluşları tarafından doğrudan sucul sistemlere verilmeseler dahi atmosfere bırakılan ağır metaller, yağışların etkisiyle tekrar yere inerler ve akarsular vasıtasiyla su yataklarına ulaşarak dolaylı yoldan sucul sistemlere karışmış olurlar (Gündüz, 1994).

1.2. Ağır Metallerin Canlı Organizmalar Üzerine Etkisi

Ağır metallerin büyük bir kısmı besin zincirine girmektedir. Metaller, tüm aerob ve birçok anaerob organizma için zorunlu minerallerdir. Bunun yanısıra bakır, kurşun, kadmiyum ve civa gibi birçok ağır metalin yüksek dozlarının insan sağlığını ciddi şekilde etkilediği kanıtlanmıştır. İnsan vücutu ağır metalleri işleyemez, bu nedenle metaller çeşitli iç organlarda depo edilirler (Kirk ve *Ark.*, 1979). Yüksek miktarda depolama, vücutta ciddi zararlara ve yan etkilere yol açar. Ağır metallerin aşırı miktarı; kanser, kalp ve karaciğer hastalıkları, sinir sistemi bozuklukları ve hipertansiyon gibi hastalıklara neden olur. Ağır metaller, düşük miktarlarda bile, vücutta karsinojenik veya mutagenik olabilecek bileşikler oluştururlar. Böylelikle ağır metallerden yalnızca ilk nesil etkilenmekle kalmaz, bu etkiler aynı zamanda genetik bozukluklarla daha sonraki nesilleri de etkiler. Bu

nedenle, insanların besinlerle birlikte aşırı miktarda ağır metal almaması hem kendi sağlıklarını hem de gelecek nesillerin sağlığı açısından oldukça önemlidir (Ruiz-Manriques ve Ark., 1998).

Günümüzde ağır metallerin giderimi konusunda pek çok çalışma yapılmaktadır. Bir sistemin güvenilir olabilmesi için Çevre Koruma Örgütü (Environmental Protection Agency, EPA, 1995) tarafından belirlenen su kalite standartlarını karşılıyor olması gerekmektedir. Çevre Koruma Örgütü'nün günümüz standartlarına göre bakır iyonlarının tatlı sulardaki maksimum derişimi $17 \mu\text{g L}^{-1}$ iken tuzlu sularda bu değer $2.4 \mu\text{g L}^{-1}$ 'dir (EPA, 1995). Yapılan bazı araştırmalara göre metal temizleme ve kaplama, banyo ve çalkalama atık suları 120 ppm'e kadar bakır (II) iyonu içerebilir. Bakır işleme endüstrilerinde atık sulardaki bakır (II) iyonu 400 ppm'e kadar çıkmaktadır. Standartlara göre içme suyundaki maksimum bakır (II) iyonu 1.0-1.5 ppm'i, sulama sularında ise 0.2-5.0 ppm'i aşmamalıdır. Düşük mikardaki bakır(II) sağlığa zararlı değildir, ancak içme suyunda istenmeyen tat yapar. Vücutta aşırı biriken bakır (II) iyonu, karaciğer bozukluklarına neden olur (Zajic, 1971; Scholz-Baldes ve Lewin, 1967; Patterson, 1977).

1.3. Ağır Metallerin Biyosorpsiyon Mekanizmaları

Ağır metal içeren atık suların arıtım temeli, kimyasal olarak metal iyonunun çökebilen bir şecline dönüştürülmesi ilkesine dayanır. Daha ileri aritimlar için karbon adsorpsiyonu, iyon değişimi, ters ozmoz gibi farklı fizikokimyasal yöntemler kullanılır. Metal kirliliğinin giderilmesinde kullanılan bu klasik yöntemler gerek tesis, gerek ekipman ve gerekse malzeme açısından pratik ve ekonomik olmaktan uzak olup, ayrıca metal kirliliği yönünden de arıtmanın çok verimli olduğu söylenemez (Sağ ve Ark., 1995). Son yıllarda konu ile ilgili araştırmalar, daha az zaman alan, fazla yer ve ekipman gerektirmediği için ucuza mal olan, çok seyreltik çözeltilerden bile ağır metalleri giderebilen, oldukça verimli ve çevreye dost bir yöntem olan biyolojik materyallerle ağır metallerin giderimi üzerinde yoğunlaşmıştır. Bir çözeltiden biyokütle ile metal iyonlarının geri kazanımına **biyosorpsiyon** denir. Bu işlemde mikrobiyal biyokütlenin

karboksil, amino imidazol, fosfat, sülhidril, sülfat ve hidroksil gibi hücre yüzeyinde bulunan çeşitli reaktif grupları birer iyon değiştirici gibi davranmaktadır. Mikroorganizmalar metal iyonlarını, hücre dışına salgıladıkları polimerlerle veya hücre duvarındaki proteinlerin fonksiyonel grupları ya da peptid bağlarına bağlayarak da giderebilmektedirler (Gupta ve Ark., 2000). Mantarlar, bakteriler ve mayalar bu amaçla kullanılan mikroorganizma gruplarıdır (Özen ve Ark., 1996).

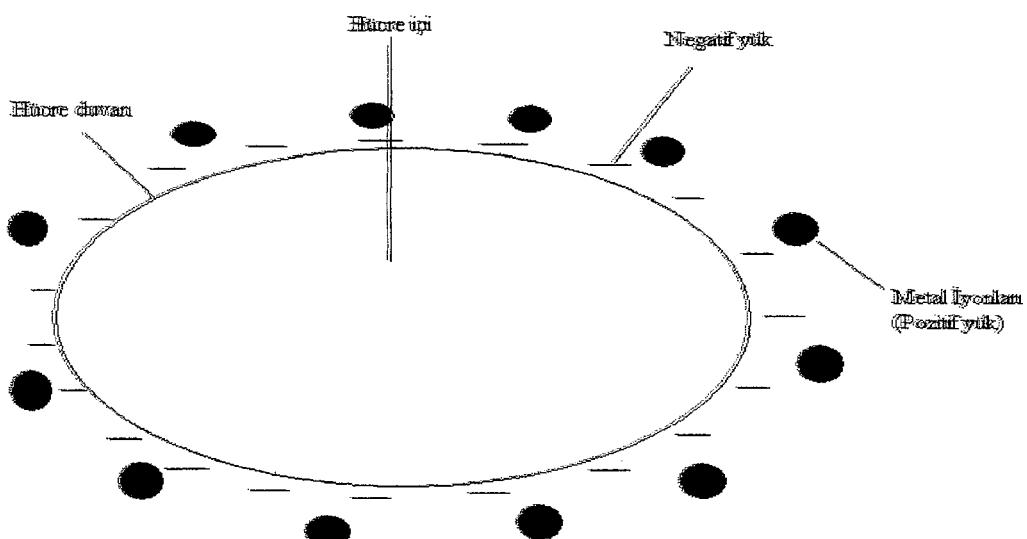
Biyosorpsiyon süreci metabolik enerji gerektirmektedir. Canlı mikroorganizma kullanımında enerji bizzat biyokütlenin kendisi tarafından sağlandığından, bu süreç kendiliğinden de olabilmektedir. Metallerin mikroorganizmalar tarafından adsorpsiyonu sırasında, aktif taşımanın enerji gerektiriyor olması araştırcılar açısından önemli bir engel oluşturmaktadır. Bu nedenle canlı hücrelerle çalışmak daha avantajlıdır (Tobin ve Ark., 1994). Eğer hücresel gelişimin önemli olmadığı bir deneysel sistem oluşturulmak isteniyorsa, bu durumda metal biyosorpsiyonu genellikle ölü mikroorganizmalar ile yapılmaktadır. Böylelikle metallerin canlı hücreler üzerindeki toksik etkisinden korunulmaktadır (Palmieri ve Ark., 2000).

Yapılan çalışmalar, kullanılan mikroorganizmaların hücre tipi ve içerdeği temel bileşenlerin metal adsorpsiyon mekanizmasını önemli ölçüde etkilediğini göstermektedir (Özen ve Ark., 1996). Bunun yanısıra mikroorganizmanın yüzey özellikleri, film difüzyonu, film kalınlığı ve çözeltinin pH, sıcaklık, başlangıç metal iyon derişimi, karıştırma hızı, mikroorganizma derişimi gibi parametreler de ağır metallerin mikroorganizmalara biyosorpsyonunu etkileyen diğer faktörler arasındadır. Biyosorpsiyon olayında pH oldukça önemli bir parametredir (İleri, 2000).

Mikroorganizmanın, sulu ortamdan hücre yüzeyine metal adsorpsyonunu açıklayan çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Bunlardan birincisini şöyle açıklamak mümkündür: metal iyonları, hücre yüzeyindeki negatif yüklü tepkime alanları ile kompleks oluşturarak ve/veya pozitif yüklü tepkime alanları ile yer değiştirerek adsorplanır. Bu olaya iyonik (fiziksel) adsorpsiyon adı verilir (Aksu ve Ark., 1994). İkinci hipotez, bazı mikroorganizmaların hücre duvarından uzanan

polimerleri sentezleyebildikleri ve bu polimerlerin çözeltideki metal iyonlarını bağlayabilme yeteneğine sahip olduklarıdır (Sağ ve Ark., 1995). Üçüncü hipotez ise hücre duvarındaki proteinlerin metali bağlamak üzere aktif bölgeler oluşturmasıdır. Ağır metallerin proteinlere karşı kuvvetli bir ilgisi vardır. Metallerin hücre yapısına girmesindeki ilk işlem hücre duvarı veya zarı ile metal iyonu arasındaki etkileşimdir. Mikroorganizma zarlarının dış yüzeyleri metal iyonlarının adsorblanabileceği değişik karbohidrat ve proteinlerden oluşmuştur (Gündüz, 1994).

İleri (2000)'ye göre, hemen hemen bütün organizmalar, yüzeyleri negatif yüklü olduğundan pozitif yüklü metal iyonlarını (Cu^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{3+} / Cr^{6+} , Fe^{2+} / Fe^{3+} v.b.) adsorbe etme yeteneğine sahiptirler. Metal iyonlarının biyosorpsiyon mekanizması Şekil 1.1'de gösterilmektedir.



Şekil 1.1. Metal iyonlarının biyosorpsiyon mekanizması (İleri, 2000).

Günümüzde biyosorpsiyon çalışmaları için çok sayıda ve farklı çalışma sistemleri geliştirilmiştir. Bunun yanısıra kullanılabilecek mikroorganizmalar üzerinde de ayrıntılı araştırmalar yapılmıştır. Bu mikroorganizmalar arasında

Rhizopus arrhizus, *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae*, *Zoogloea ramigera*, *Escherichia coli*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Chorella vulgaris*, *Schizomeris leibleinii* v.b. sayılabilir. Kesikli sistem, biyokütle rejenerasyonsuz sürekli sistem, biyokütle rejenerasyonlu sürekli sistem, sabit yatak sistemi, akişkan yatak sistemi ve hareketli yatak sistemi ise biyosorpsiyon çalışmalarında kullanılmak üzere geliştirilmiş sistemlerdir (İleri, 2000).

1.4. Çalışmanın Amacı

Çözeltilerden metallerin giderilmesinde immobilize hücrelerin kullanıldığı araştırmalar, genellikle ölü hücreler üzerine yoğunlaşmıştır. Canlı hücrelerin tutuklandığı sistemlerin metal gideriminde kullanıldığı çalışmalar nispeten azdır. Canlı hücrelerin ağır metalleri bünyelerinde biriktirebildiği ve metabolik aktiviteye bağlı olarak aktif giderimin gerçekleştiği de bilinmektedir. Ancak ağır metallerin biyolojik gideriminde aktif giderim ile ilgili çok az literatür bulunmaktadır. Genellikle fenolik bileşiklerin biyolojik parçalanması çalışmalarında kullanılan *P. putida*, ağır metallerin biyosorpsiyonu çalışmalarında da kullanılmaktadır (Zilli ve Ark., 1993; Hannaford ve Kuek, 1999; Mordocco ve Ark., 1999; Gonzalez ve Ark., 2001).

Araştırmamızda matriks olarak lif kabağı süngeri kullanılmıştır. Lif kabağı süngerı, *Luffa cylindrica*'nın olgun meyvelerinden elde edilmektedir. Halk arasında banyo lifi olarak kullanılır ve genellikle lignin özellikle ağısı bir yapısı vardır. Doğal, biyofilm üzerine toksik etkisi olmayan, temini kolay ve ucuz olan, ortamdaki iyon ve/veya maddelerden etkilenmeyen ve ağısı yapısı nedeniyle uzun süre kararlılığını kaybetmeyen bir maddedir (Kuru-Kaçmazoğlu, 1999).

Çalışmamızda yukarıda belirtilen nedenlerden dolayı, atık suların biyolojik gideriminde sık kullanılan mikroorganizmalardan olan canlı *P. putida* hücreleri; lif kabağı süngerine tutuklanarak bakır (II) iyonlarının giderimi araştırılmıştır.

2. MATERİYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Kullanılan Mikroorganizma

Biyosorbent olarak kullanılan *P. putida*, Prof. Dr. Merih Kivanç'tan stok kültür olarak temin edilmiştir.

2.1.2. Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler, analitik saflıkta olup hepsi Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Mikroorganizmaların Üretilmesi

Mikroorganizmaların üretilmesinde Bülbül ve Aksu (1997) tarafından önerilen besiyeri kullanılmıştır.

2.2.2. Mikroorganizmanın Lif Kabağına Tutuklanması

Taşıyıcı matriks olarak *L. cylindrica*'nın olgunlaşmış kuru meyvelerinden elde edilen ağısı sünger kullanılmıştır (Iqbal ve Zafer, 1994). Öğütülen lif kabakları ölçülu elekten geçirilerek 0.42-0.85, 0.85-1.00, 1.00-1.40 ve 1.40-2.00 mm olmak üzere dört farklı partikül büyülübüyüğünne ayrılmıştır.

Bu büyülüklere sahip 1 g kütleli kuru lif kabaklarının önce mikroorganizmasız, daha sonra da mikroorganizma tutuklanmış olarak yaşı kütlerleri saptanmıştır. Bu kütlerler karşılaştırılarak en iyi mikroorganizma tutuklama kapasitesine sahip büyülübüyüğün 0.42-0.85 mm olduğu belirlenmiştir. Denemeler, 0.42-0.85 mm partikül büyülübüyüğündeki lif kabağı ile sürdürmüştür.

2.2.3. Deney Sistemi

P. putida hücreleri önce, içinde 1 g kuru lif kabağı bulunan 500 mL'lik erlenmayerlerde, çalkalayıcı etüvde, 30 °C'ta 48 saat inkübe edilmiştir. Daha sonra mikroorganizma tutuklanmış lif kabağı, Whatman No: 6 süzgeç kağıdından süzülerek 3.54 g alınmıştır. Adsorpsiyon çalışmaları, bakır (II) iyonu çözeltisi içeren 100 mL çalışma hacmindeki 250 mL'lik erlenmayerlerin kullanıldığı sabit sıcaklık ve karıştırma hızında çalışabilen çalkalayıcı etüvde gerçekleştirılmıştır.

2.2.4. Çalışma Koşulları

Denemeler: lif kabağı büyülüğu; 0.42-0.85 mm, başlangıç pH; 5.0, sıcaklık; 25 °C, başlangıç bakır (II) iyonu derişimi; 10 mg L⁻¹ ve çalkalama hızı; 100 devir dk⁻¹'daki çalışma koşullarında gerçekleştirılmıştır.

Bu parametreler;

1. Lif kabağı büyülüğünün adsorpsiyona etkisi incelenirken, lif kabağı büyülüğu: 0.42-0.85; 0.85-1.00; 1.00-1.40; 1.40-2.00 mm olarak,
2. Başlangıç pH'nın adsorpsiyona etkisi incelenirken, başlangıç pH: 2.5; 3.5; 4.5 ve 5.0 olarak;
3. Sıcaklığın adsorpsiyona etkisi incelenirken, sıcaklık: 20; 25; 30 ve 40 °C olarak,
4. Başlangıç bakır (II) iyonu derişiminin adsorpsiyona etkisi incelenirken, başlangıç bakır (II) iyonu derişimi 10; 25; 50 ve 100 mg L⁻¹ olarak,
5. Çalkalama hızının adsorpsiyona etkisi incelenirken, çalkalama hızı: 50; 100; 130 ve 150 devir dk⁻¹ olarak değiştirilmiş ve diğer parametreler bütün denemelerde sabit tutulmuştur.

2.2.5. Analiz Yöntemleri

Çalışılan deney düzeneğinde *P. putida* hücreleri tutuklanmış lif kabaklarının bakır (II) iyonu çözeltisine eklendiği an t = 0 olarak alınmıştır. Daha sonra 0, 1, 2, 3, 4, 5, 10, 25, 40, 100 ve 160. dakikalarda 5'er mL örnek alınarak süzgeç kağıdından süzülmüş ve çözeltide adsorplanmadan kalan bakır (II) iyonu derişimi

analiz edilmiştir. Analiz, alevli atomik absorbsiyon spektrofotometresi (FAAS, Unicam 929 Model) kullanılarak yapılmıştır.

2.2.6. Adsorplanan Bakır (II) İyonu Miktarının Hesaplanması ve Adsorpsiyon Kinetikleri

Adsorplanan bakır (II) iyonu miktarının hesaplanmasıında aşağıdaki bağıntılar kullanılmıştır:

$$Q = (C_o - C_{son}) \times V_t / M$$

Q = Birim gram biyosorbent başına adsorblanan bakır (II) iyonu miktarı (mg g^{-1})

C_o = Çözeltinin başlangıç bakır (II) iyonu derişimi (mg L^{-1})

C_{son} = Çözeltide kalan bakır (II) iyonu derişimi (mg L^{-1})

V_t = Çözeltinin toplam hacmi (mL)

M = Lif kabaklarına tutuklanmış bakterinin kütlesi (g)

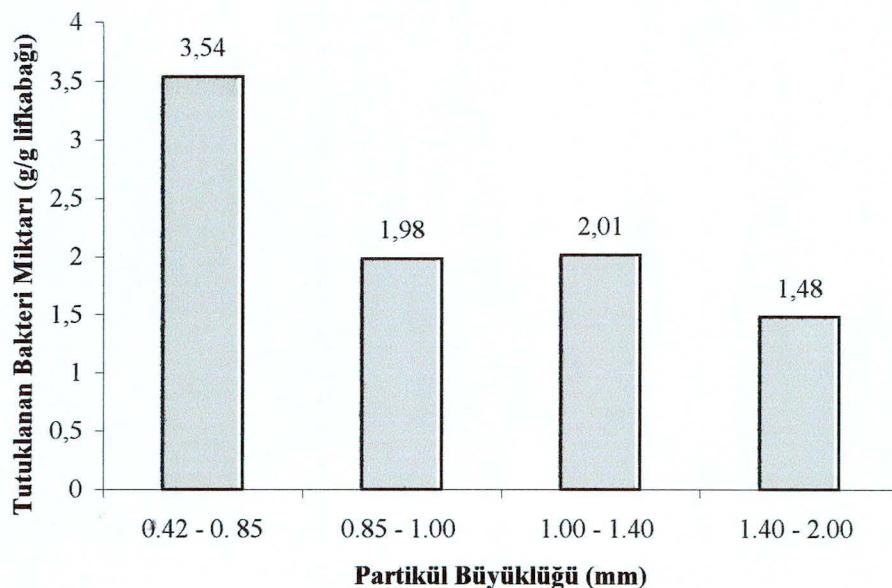
Adsorpsiyon kinetiğinin incelenmesi için optimum koşullarda mikroorganizma içeren ve içermeyen lif kabağıyla yapılan denemeler sonucu adsorplanan bakır (II) iyonu derişimi zamana karşı grafiğe geçirilerek hız ve maksimum adsorplanan miktar hesaplanmıştır.

3. BULGULAR

Bu çalışmada, *P. putida* hücreleri kullanılarak değişik parametreler eşliğinde bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu araştırılmıştır. Araştırmada öncelikle farklı partikül büyüklüklerine sahip lif kabaklarının bakteri tutuklama kapasiteleri saptanmıştır. Daha sonra çeşitli parametrelerin (lif kabağı büyülüğu, pH, sıcaklık, başlangıç bakır (II) iyonu derişimi ve çalkalama hızı) bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

3.1. Farklı Partikül Büyüklüklerine Sahip Lif Kabaklarının Bakteri Tutuklama Kapasiteleri

Farklı partikül büyüklüklerine sahip lif kabaklarının *P. putida* hücrelerini tutuklama kapasiteleri Şekil 3.1'de gösterilmiştir.



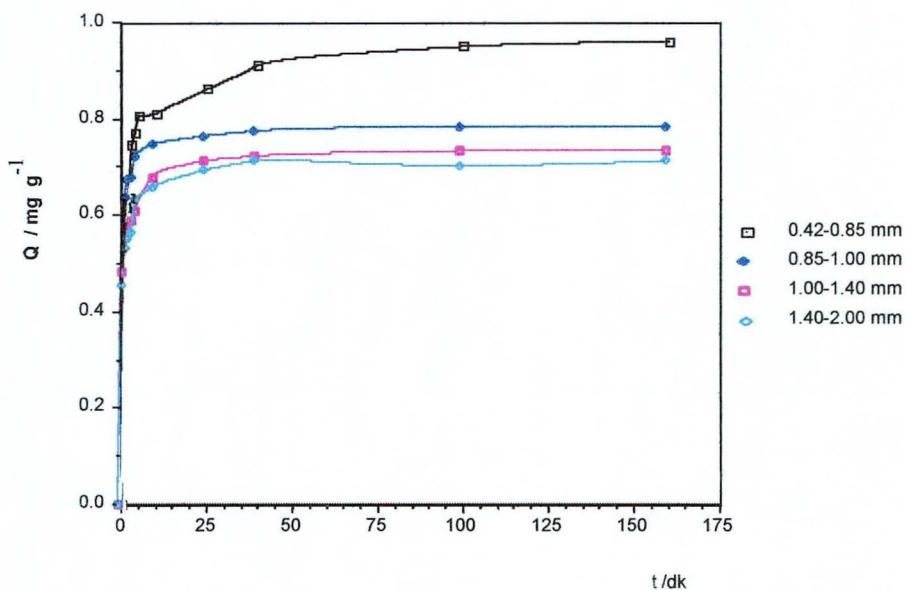
Şekil 3.1. Farklı partikül büyüklüğüne göre lif kabaklarının tutuklama kapasiteleri (Verilen değerler, 1 g kuru lif kabağı esas alınarak hesaplanmıştır)

Şekil 3.1'de görüldüğü gibi partikül büyüklüğü arttıkça bakteri tutuklama kapasitesi azalmaktadır. En küçük partikül büyüklüğüne (0.42-0.85 mm) sahip lif kabaklarında, 3.54 g bakteri tutuklanmışken, en yüksek partikül büyüklüğüne (1.40-2.00 mm) sahip lif kabaklarında 1.48 g bakteri tutuklanmıştır. Bu nedenle

çalışmalarımızda 0.42-0.85 mm partikül büyülüğüne sahip lif kabakları kullanılmıştır.

3.2. Bakır (II) İyonlarının Adsopsiyonu Üzerine Lif Kabağı Büyüklüğünün Etkisi

Bakır (II) iyonu adsopsiyonunun lif kabağı büyülüğüyle zamana bağlı değişimi araştırılmıştır. Elde edilen Q (birim gram biyosorbent başına adsorplanan mg metal miktarı) değerlerinin zamana bağlı değişimi Şekil 3.2'de gösterilmiştir.

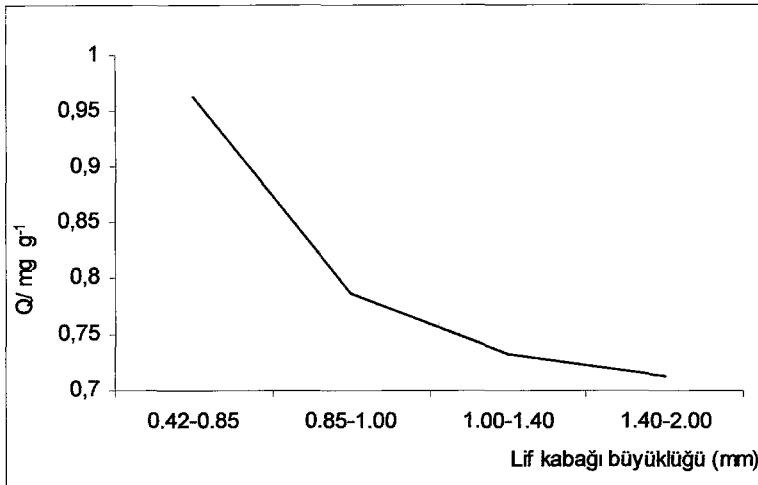


Şekil 3.2. Bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerine lif kabağı büyülüğünün etkisi (Bakır (II) iyonu derişimi: 50 mg L^{-1} , sıcaklık: 25°C , pH: 5.0, çalkalama hızı: $100 \text{ devir } \text{dk}^{-1}$)

Şekil 3.2'de görüldüğü gibi bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu, 25-40 dakikalar arasında denge haline ulaşmıştır. 1.00-1.40 ve 1.40-2.00 mm arasında partikül büyülüğüne sahip lif kabağı için denge konumunda sırasıyla 0.73 ve 0.71 mg g^{-1} adsopsiyon gözlenirken, bu değer $0.85-1.00 \text{ mm}$ arasında partikül büyülüğüne sahip lif kabağı için 0.78 mg g^{-1} olarak belirlenmiştir.

0.42-0.85 mm arasında partikül büyülüğüne sahip lif kabağı ile yapılan adsopsiyon çalışmaları sonucunda, birim gram biyosorbent başına adsorplanan

bakır (II) iyonu miktarının 25. dakikaya kadar hızlı bir artış gösterdiği belirlenmiştir. 40. dakikadan sonra denge haline ulaşılmıştır. Bu büyüklükteki lif kabağı için denge halinde adsorplanan bakır (II) iyonu miktarı 0.96 mg g^{-1} dir.

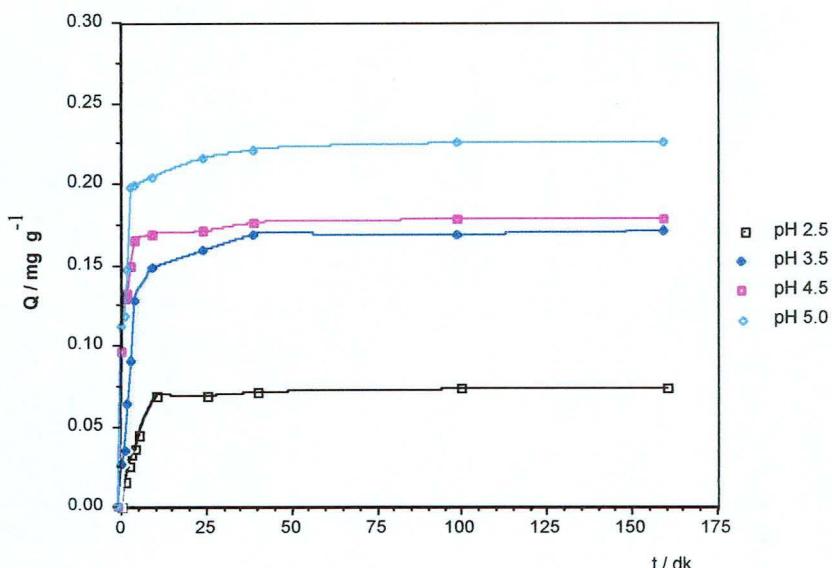


Şekil 3.3. Denge durumunda farklı partikül büyüklüğüne sahip lif kabaklarının bakır (II) iyonu adsopsiyonu üzerine etkisi (Bakır (II) iyonu derisi: 50 mg L^{-1} , sıcaklık: 25°C , pH: 5.0, çalkalama hızı: $100 \text{ devir dk}^{-1}$)

Şekil 3.3'te de görüldüğü gibi, denge halinde 0.42-0.85 mm arasında partikül büyüklüğüne sahip lif kabağının diğer büyüklüklerle nazaran en yüksek miktarda bakır (II) iyonu adsorpladığı saptanmıştır. Bunu sırasıyla 0.85-1.00 ve 1.00-1.40 mm arasında partikül büyüklüğüne sahip lif kabakları izlemiştir. En düşük adsopsiyon, 1.40-2.00 mm arasında partikül büyüklüğüne sahip lif kabağı tarafından gerçekleştirilmiştir.

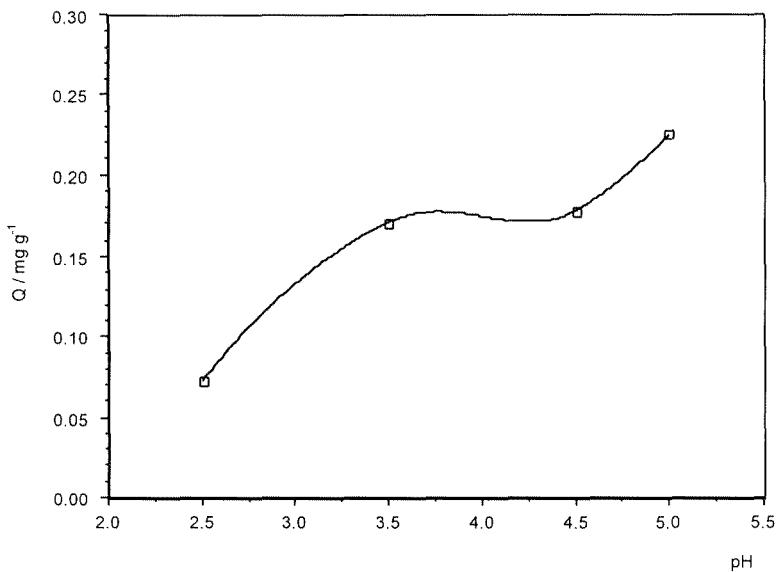
3.3. Bakır (II) İyonlarının Adsopsiyonu Üzerine Farklı Başlangıç pH'larının Etkisi

Farklı başlangıç pH'larının bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerindeki etkisini belirleyebilmek amacıyla başlangıç pH: 2.5; 3.5; 4.5 ve 5.0 olarak alınmıştır. Birim gram biyosorbent başına adsorplanan bakır (II) iyonu miktarı (mg g^{-1})'nın zamana bağlı değişimi Şekil 3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4. Bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerine farklı başlangıç pH'larının zamana bağlı değişimi (Bakır (II) iyonu derişimi: 10 mg L^{-1} , sıcaklık: 25°C , çalkalama hızı: 100 devir dk^{-1} , lif kabağı büyülüklüğü: 0.42-0.85 mm)

Şekil 3.4'de görüldüğü gibi, pH 2.5'ta bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu 10. dakikada dengeye ulaşırken, denenen diğer pH'larda 25-40. dakikalar arasında dengeye ulaşılmıştır. pH 2.5'ta denge halinde adsopsiyon, 0.07 mg g^{-1} olarak gerçekleşmiştir. pH 3.5 ve 4.5 için elde edilen denge adsopsiyon değerleri nispeten birbirlerine yakındır (sırasıyla 0.17 ve 0.18 mg g^{-1}). pH 5.0'te denge konumundaki adsopsiyon değeri 0.22 mg g^{-1} 'dır (Şekil 3.5). Kısaca başlangıç pH arttıkça dengeye ulaşma süresi ve adsorplanan bakır (II) iyonu miktarı artmaktadır. Bakır (II) iyonlarının, pH'nın 5.0'ten büyük olduğu değerlerde bakır hidroksit şeklinde çökelmesinden dolayı daha yüksek pH'lar denenmemiştir (Aksu ve Sağ, 1995).

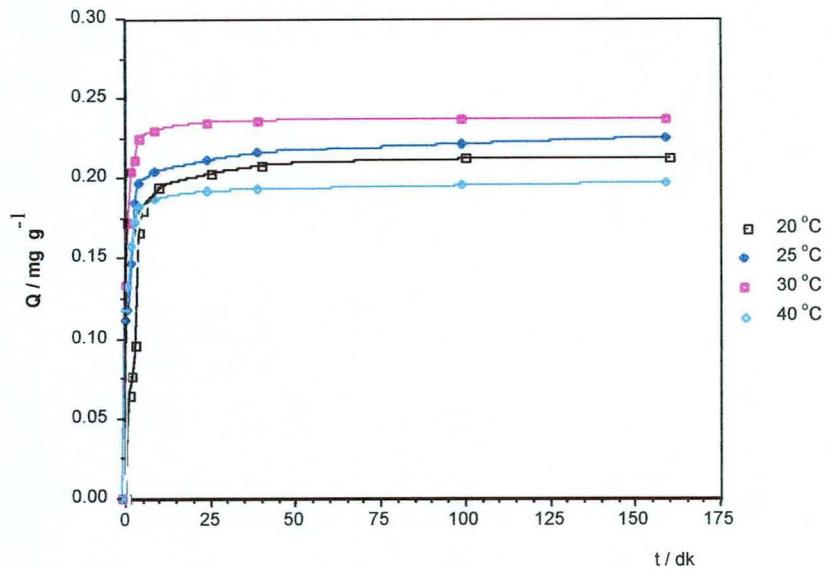


Şekil 3.5. Denge konumunda farklı başlangıç pH'larının bakır (II) iyonu adsopsiyonu üzerine etkisi (Bakır (II) iyonu derişimi: 10 mg L^{-1} , sıcaklık: 25°C , çalkalama hızı: $100 \text{ devir dk}^{-1}$, lif kabağı büyüklüğü: $0.42\text{-}0.85 \text{ mm}$)

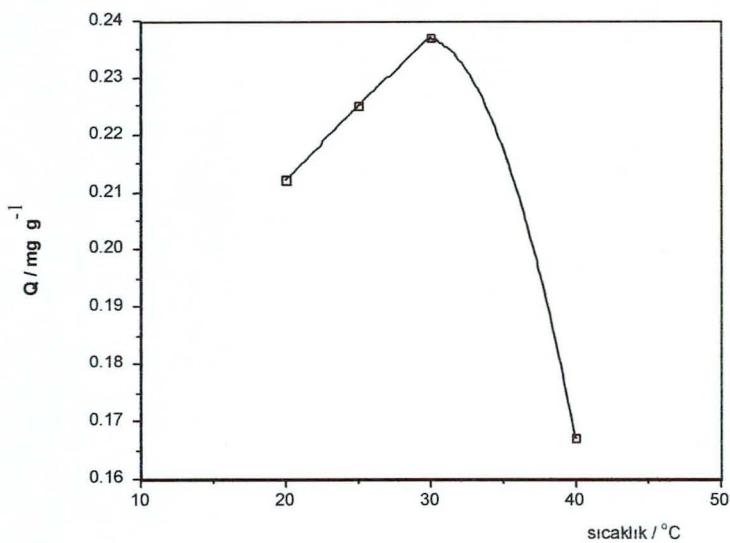
3.4. Bakır (II) İyonlarının Adsopsiyonu Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerine sıcaklığın etkisini belirlemek amacıyla $20, 25, 30$ ve 40°C 'de adsopsiyon değerleri araştırılmıştır. Birim gram biyosorbent başına adsorplanan bakır (II) iyonu miktarının zamana bağlı değişimi Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

Çalışılan tüm sıcaklıklarda ilk 5 dakika içerisinde çok hızlı bir adsopsiyon gerçekleşirken, 25-40. dakikalar arasında dengeye ulaşılmıştır (Şekil 3.6). Çalışılan en yüksek sıcaklık olan 40°C 'de, denge halinde 0.16 mg g^{-1} bakır (II) iyonu adsorbe edilmiştir. 20 ve 25°C için bakır (II) adsopsiyon değerleri sırasıyla 0.21 ve 0.22 mg g^{-1} 'dır. Denge halinde en yüksek bakır (II) adsopsiyonu 0.23 mg g^{-1} ile 30°C 'de elde edilmiştir (Şekil 3.7).



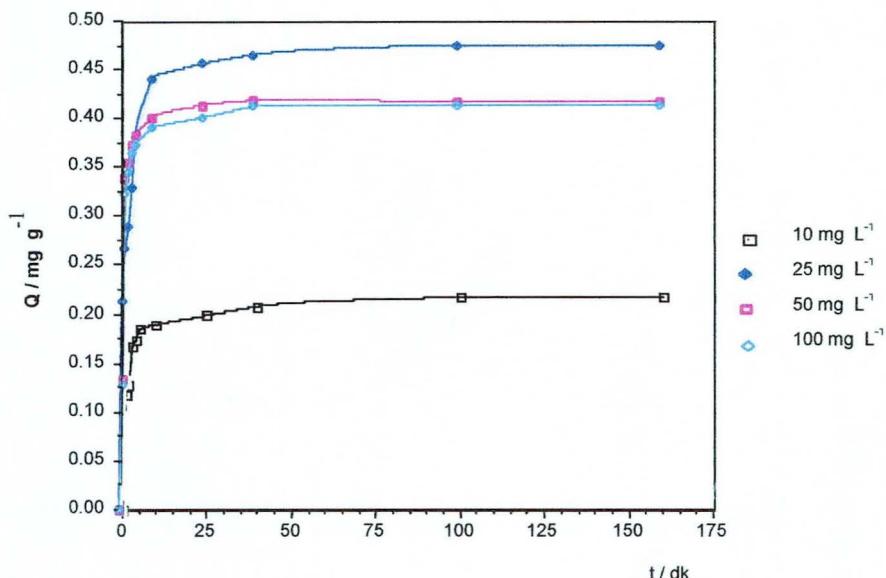
Şekil 3.6. Bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerine sıcaklığın zamana bağlı değişimi (Bakır (II) iyonu derişimi: 10 mg L^{-1} , pH: 5.0, çalkalama hızı: $100 \text{ devir dakika}^{-1}$, lif kabağı büyüklüğü: 0.42-0.85 mm)



Şekil 3.7. Denge konumunda bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerine sıcaklığın etkisi (Bakır (II) iyonu derişimi: 10 mg L^{-1} , pH: 5.0, çalkalama hızı: $100 \text{ devir dk}^{-1}$, lif kabağı büyüklüğü: 0.42-0.85 mm)

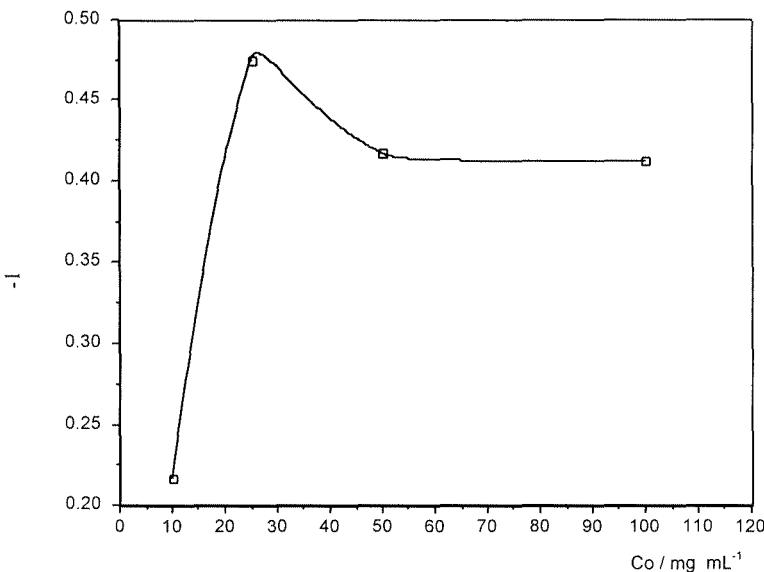
3.5. Başlangıç Bakır (II) İyonu Derişiminin Adsopsiyon Üzerine Etkisi

Başlangıç bakır (II) iyonu derişimleri : 10; 25; 50 ve 100 mg L⁻¹ olmak üzere beş farklı değerde çalışılmıştır. Birim gram biyosorbent başına adsorplanan bakır (II) iyonu miktarının zamana bağlı değişimi Şekil 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. Bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu üzerine başlangıç bakır(II) iyonu derişiminin zamana bağlı değişimi (Sıcaklık: 25 °C, pH: 5.0, çalkalama hızı: 100 devir dk⁻¹, lif kabağı büyülüğu: 0.42-0.85 mm)

Şekil 3.8'de görüldüğü gibi, yapılan tüm bakır (II) iyonu derişimlerinde adsopsiyon 25-40. dakikalar arasında dengeye ulaşmıştır. Denge halinde en düşük bakır (II) iyonu adsopsiyonu, 10 mg L⁻¹'lik derişim ile yapılan denemeler sonucunda elde edilmiştir (0.22 mg g⁻¹). 50 ve 100 mg L⁻¹'lik bakır (II) iyonu derişimlerinde elde edilen adsopsiyon değerleri nispeten birbirine yakındır (sırasıyla 0.42 ve 0.41 mg g⁻¹). En yüksek bakır (II) iyonu adsopsiyonu (0.48 mg g⁻¹), 25 mg L⁻¹'lik derişim ile yapılan çalışmalar sonucunda elde edilmiştir (Şekil 3.9).

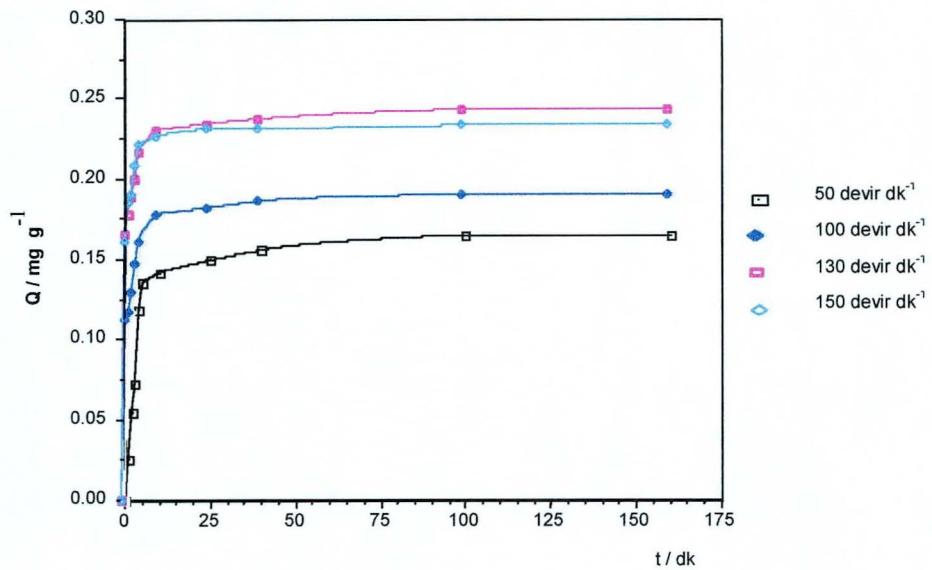


Şekil 3.9. Denge konumunda farklı başlangıç bakır (II) iyonu derisiinin adsopsiyon üzerine etkisi (Sıcaklık: 25 °C, pH: 5.0, çalkalama hızı: 100 devir dakika⁻¹, lif kabağı büyülüğu: 0.42-0.85 mm)

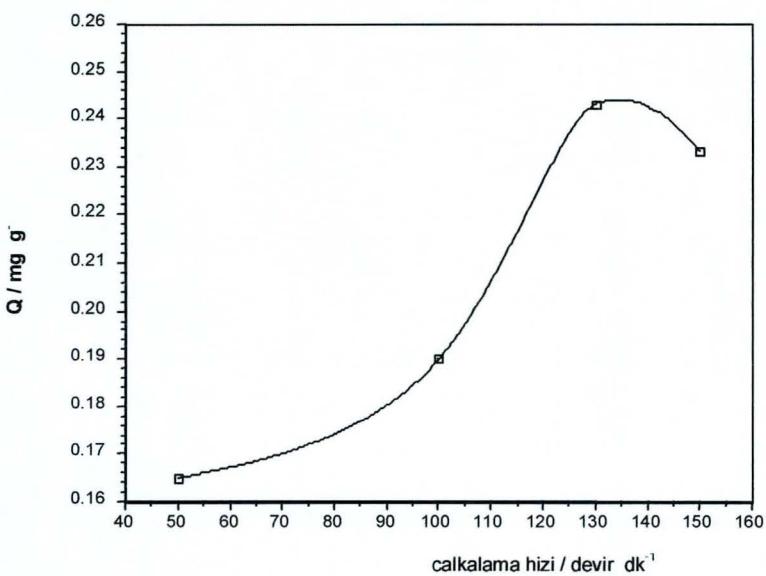
3.6. Bakır (II) İyonu Adsopsiyonu Üzerine Çalkalama Hızının Etkisi

Çalkalama hızının bakır (II) iyonu adsopsiyonu üzerine etkisini belirlmek amacıyla 50, 100, 130 ve 150 devir dk⁻¹ çalkalama hızları esas alınmıştır. Birim gram biyosorbent başına adsorplanan bakır (II) iyonu miktarının zamana bağlı değişimi Şekil 3.10'da gösterilmiştir.

Şekil 3.10'da görüldüğü gibi, çalışılan tüm çalkalama hızı değerleri için 25-40. dakikalar arasında denge konumuna ulaşılmıştır. Adsopsiyon ilk 5 dakika içerisinde oldukça hızlı gerçekleşmiştir. Denge durumunda 50 devir dk⁻¹ çalkalama hızında bakır (II) iyonu adsopsiyonu 0.16 mg g⁻¹'dır. Bu değer, 100 devir/dakika için 0.19 mg g⁻¹ olarak tespit edilmiştir. Denge durumunda 130 ve 150 devir dk⁻¹ çalkalama hızları için elde edilen adsopsiyon değerleri nispeten birbirine yakındır (sırasıyla 0.24 ve 0.23 mg g⁻¹). Bu verilerden de anlaşıldığı üzere en etkin bakır (II) iyonu adsopsiyonu 130 devir dk⁻¹ çalkalama hızında gerçekleşmiştir (Şekil 3.11).



Şekil 3.10. Bakır (II) iyonu adsopsiyonu üzerine çalkalama hızının etkisi (Bakır (II) iyonu derişimi: 10 mg L^{-1} , sıcaklık: 25°C , pH: 5.0, lif kabağı büyülüklüğü: 0.42-0.85 mm)



Şekil 3.11. Farklı çalkalama hızlarının bakır (II) iyonu adsopsiyonu üzerine etkisi (Bakır (II) iyonu derişimi: 10 mg L^{-1} , sıcaklık: 25°C , pH: 5.0, lif kabağı büyülüklüğü: 0.42-0.85 mm)

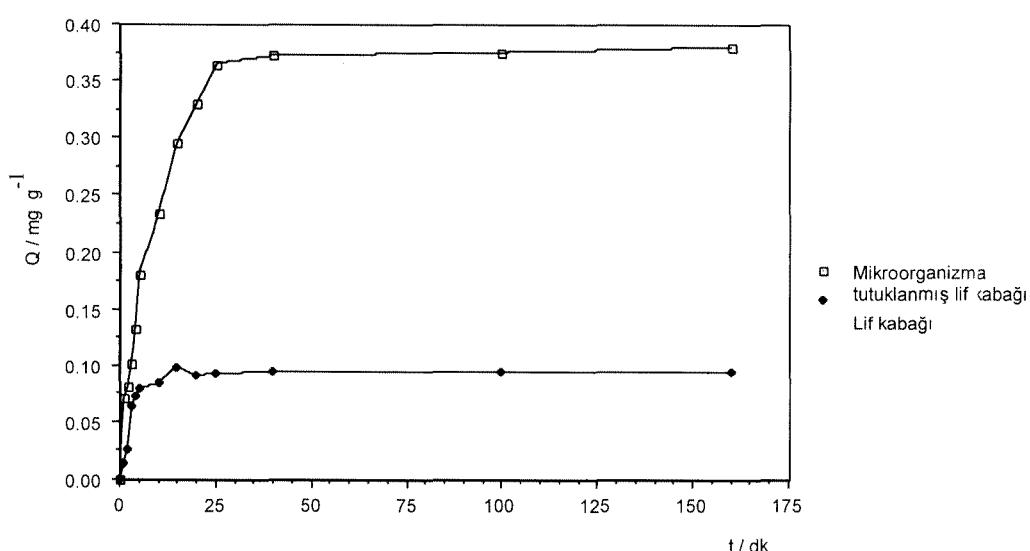
3.7. Bakır (II) İyonu İçin Adsopsiyon Kinetikleri

Yapılan çalışmalar sonucunda *P. putida* hücreleri tutuklanmış lif kabağı ile bakır (II) iyonlarının adsopsiyonu ile ilgili optimum koşullar; başlangıç pH 5.0, başlangıç bakır (II) iyonu derişimi 25 mg L^{-1} , sıcaklık 30°C ve çalkalama hızı $130 \text{ devir dk}^{-1}$ olarak belirlenmiştir. Bu optimum koşullarda adsopsiyon kinetiklerini saptamak için mikroorganizma içeren ve içermeyen lif kabağı ile denemeler yapılmıştır.

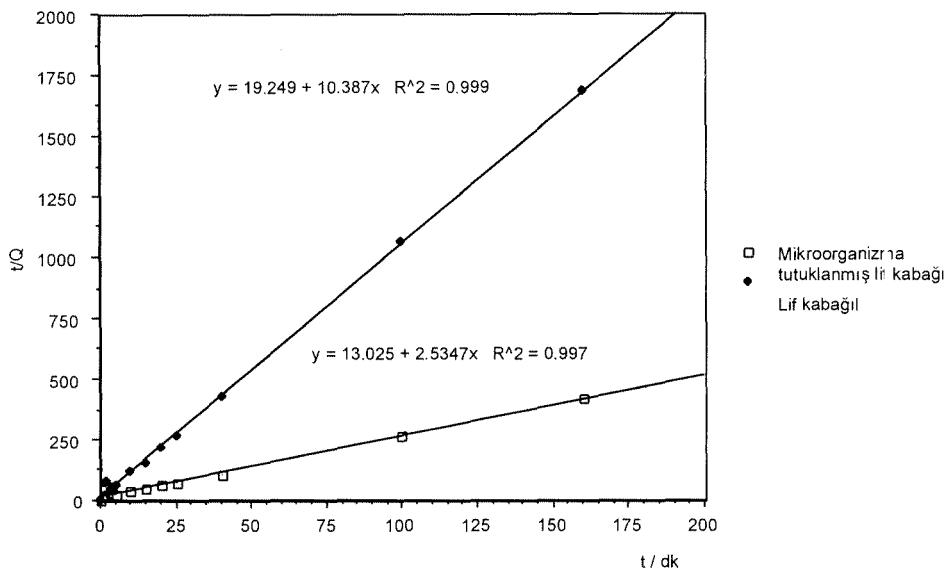
Adsorplanan bakır (II) iyonu derişimi zamana karşı grafiğe geçirilmiş ve şekil 3.12'de gösterilmiştir. Adsorpsiyon zamanla artmaktadır ve bir süre sonra dengeye ulaşmaktadır. Şekilde de görüldüğü gibi mikroorganizma tutuklanmış lif kabağında adsorpsiyon daha fazladır. t/Q ya karşı t grafiği çizilmiş ve şekil 3.13'te gösterilmiştir. Bu grafik adsorpsiyonun ikinci dereceden kiretiğe uyduğunu göstermektedir. Bunun için aşağıdaki eşitlik yazılabilir:

$$t/Q = a + bt$$

Burada Q ; t anında adsorplanan bakır (II) iyonu derişimi $b = 1 / Q_{\max}$; adsorplanan bakır (II) iyonunun maksimum veya denge derişiminin tersi, $a = 1 / (d_c / d_t)$; başlangıç hızının (r_0) tersidir.



Şekil 3.12. *P. putida* hücreleri tutuklanmış lif kabağı ve *P. putida* tutuklanmamış lif kabağı için bakır (II) iyonu adsorpsiyon eğrileri (Bakır (II) iyonu derişimi: 25 mg L^{-1} , sıcaklık: 30°C , pH: 5.0, lif kabağı büyülüklüğü: 0.42-0.85 mm, çalkalama hızı: $130 \text{ devir dk}^{-1}$)



Şekil 3.13. *P. putida* hücreleri tutuklanmış lif kabağı ve *P. putida* tutuklanmamış lif kabağı için bakır (II) iyonu adsorpsiyonunda kinetik eğriler (Bakır (II) iyonu derişimi: 25 mg L⁻¹, sıcaklık: 30 °C, pH: 5.0, lif kabağı büyülüğu: 0.42-0.85 mm, çalkalama hızı: 130 devir dk⁻¹)

Şekil 3.13' teki grafikten Q_{\max} ve r_0 değerleri bulunmuştur. Mikroorganizma içeren lif kabağı için $Q_{\max} = 0.394 \text{ mg g}^{-1}$ ve $r_0 = 0.077 \text{ mg g}^{-1} \text{ dk}^{-1}$ iken Mikroorganizma içermeyen lif kabağı ile yapılan testler sonucunda $r_0 = 0.052 \text{ mg g}^{-1} \text{ dk}^{-1}$ ve $Q_{\max} = 0.096 \text{ mg g}^{-1}$ olarak bulunmuştur. Bu bulgular, mikroorganizma tutuklanmış lif kabağının bakır (II) iyonlarını daha fazla adsorpladığını ve adsorpsiyonun daha hızlı gerçekleştiğini göstermektedir.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Atık sulardan ağır metallerin giderimi genellikle kimyasal çöktürme, iyon değişimi veya asidifikasyon yöntemleri ile gerçekleştirilmektedir. Bu yöntemlerde pahalı biyokimyasallar ve reçine kullanılmaktadır. Son yillardaki gelişmeler, ağır metallerin mikrobiyal biyokütleye adsorpsiyonunu içeren biyosorpsiyon metodu üzerine yoğunlaşmıştır (Lister ve Line, 2001). Diğer metodlara göre biyosorpsiyon, daha iyi bir performansa sahiptir ve maliyeti daha ucuzdur (Lo ve Ark., 1998). Biyosorpsiyonda, adsorpsiyon tersinir bir olay olduğundan, biyosorbent desorbe edilerek metal, düşük hacimli rejenerasyon ortamlarında yüksek derişimlerde geri kazanılabilir (Sağ ve Ark., 1995).

Araştırmamızda bakır (II) iyonu giderimi için kesikli kültürde lif kabağına tutuklanmış *P. putida* hücreleri kullanılmıştır. Bu amaçla önce en iyi tutuklama kapasitesine sahip lif kabağı büyülüüğü belirlenmiştir (Şekil 3.1). Tüm çalışma 0.42-0.85 mm partikül büyülüüğündeki lif kabağı ile sürdürülmüştür.

Bakır (II) iyonu için adsorpsiyon kinetiklerini belirlemek amacı ile sadece lif kabağı ve *P. putida* hücreleri tutuklanmış lif kabağı ile optimum koşullarda çalışmalar yapılmıştır. Sadece lif kabağı ile yapılan çalışmada oldukça düşük adsorpsiyon gözlenmişken, diğerinde oldukça yüksek adsorpsiyon verimi elde edilmiştir.

Çalışmamızda lif kabağı süngerine tutuklanmış *P. putida* hücreleri ile bakır (II) iyonunun giderimi üzerine etkili olan parametreler araştırılmıştır.

4.1. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Lif Kabağı Büyüklüğünün Etkisi

Lif kabağı süngerine tutuklanmış *P. putida* hücreleri ile metal giderimi üzerine lif kabağı büyülüüğünün etkisi araştırılırken dört farklı partikül büyülüüğünde (0.42-0.85; 0.85-1.00; 1.00-1.40; 1.40-2.00 mm) çalışılmıştır. Partikül büyülüüğü arttıkça bakteri tutuklama kapasitesi (Şekil 3.1) ve metal giderim kapasitesi azalmıştır (Şekil 3.2 ve Şekil 3.3). Şekil 3.2'de görüldüğü gibi ilk beş dakika içerisinde bakır (II) iyonu giderimi oldukça hızlıdır.

Mikroorganizma, bakır (II) iyonu ile temas ettikten kısa bir süre sonra denge oluşmuştur.

Biyosorpsiyonda kullanılan organizmanın hücre yapısına bağlı olarak çeşitli mekanizmalar etkilidir. Açıklanan en genel mekanizmaya göre metal giderimi iki aşamada gerçekleşmektedir. Birincisi, metal iyonlarının hücre yüzeyindeki negatif yüklü tepkime alanları ile kompleks oluşturarak ve/veya pozitif yüklü tepkime alanları ile yer değiştirerek adsorblandığı fiziksel adsorpsiyon veya iyon değişim basamağıdır. Bu basamak pasif giderim olarak adlandırılır ve başlangıçta oldukça hızlıdır. Mikroorganizma, metal iyonu ile temas ettikten kısa bir süre sonra denge oluşur ve bu denge oluşumu adsorpsiyon izotermleri ile gösterilebilir. İkinci basamakta ise aktif giderim söz konusudur. Metabolik aktiviteye bağlı olduğundan daha yavaş ilerler. Bu basamakta kimyasal adsorpsiyon gözlenir (Butter ve Ark., 1998; Nelson ve Ark., 1981; Sağ ve Ark., 1995; Sağ ve Ark., 1998). Elektronegativitesi daha yüksek olan iyonlar biyosorbent tarafından daha kuvvetli adsorbe edilmektedir (Allen ve Brown, 1995). Lo ve Ark. (1998)'a göre bakır (II) iyonunun adsorpsiyon kinetikleri oldukça hızlıdır. Bakır (II) iyonları ile biyosorbentin temasının ilk 3 dakikasında ortamdaki bakırın % 75'i adsorblanmaktadır.

Adsorpsiyonda dengeye ulaşmak için gerekli zaman, metal iyonlarının difüzyon katsayısına ve partikül büyüğünə bağlıdır (Butter ve Ark., 1998). Partikül büyüğü azaldıkça yüzey alanı artmakta ve bu durum daha fazla mikroorganizma ve dolayısıyla daha fazla ağır metal adsorblanmasına neden olmaktadır. Bu nedenle çalıştığımız en küçük partikül büyüğü olan 0.42-0.85 mm boyutlarındaki lif kabaklarına hem tutuklanan mikroorganizma, hem de ağır metal adsorpsiyon miktarı fazladır.

4.2. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Farklı Başlangıç pH'larının Etkisi

Araştırmamızda lif kabağı süngerine tutuklanmış *P. putida*'nın bakır (II) iyonlarının biyosorpsiyon kapasitesi üzerine başlangıç pH'sının etkisi, 25 °C ve 10 mg L⁻¹ başlangıç bakır (II) iyonu derişiminde çalışılmıştır. 2.5; 3.5; 4.5 ve 5.0

olmak üzere dört farklı başlangıç pH'nın etkisi denenmiştir. Şekil 3.4 ve 3.5'te görüldüğü gibi, başlangıç pH'nın artması ile bakır (II) iyonlarının biyosorpsiyonunda da artış olmaktadır. Birim gram biyosorbent başına adsorblanan en yüksek bakır (II) iyonu miktarı, pH 5.0'te elde edilmiştir.

Hücre yüzeyinde metal iyonlarının bağlanmasıyı sağlayan bazı kimyasal gruplar (karboksil, fosfat, amino, sülfat ve metal iyonları için yüksek afinite gösteren hidroksil grupları) bulunmaktadır (Ahuja ve Ark., 1999). Ortamın pH hem bakteri hücre duvarının fonksiyonel gruplarını hem de metallerin çözünürlüğünü etkilemektedir (Say ve Ark., 2001). Düşük pH'larda (pH 2.0) ortamda H^+ ve H_3O^+ iyonlarının miktarı artmakta ve bu durum bakteri hücre duvarına metal iyonlarının bağlanmasıyı sınırlamaktadır (Gadd, 1988). pH artması ile metal bağlama bölgeleri açıkta kalmakta ve pozitif yüklü metal iyonlarının hücre yüzeyine ilgisi artmaktadır (Aksu, 2001). Ayrıca yüksek pH'larda metal iyonlarının çözünürlüğünün azalması bu metallerin biyokütle tarafından adsorbe edilmesini artırmaktadır (Guibal ve Ark., 1992).

Yapılan çalışmalarında bakır (II) iyonlarının biyosorpsiyonu için optimum pH 4.5- 5.5 arasında bulunmaktadır (Aksu, 2001; Sanchez ve Ark., 1999; Sağ ve Ark., 1995). Bakır (II) iyonlarının pH'nın 5.0'ten büyük olduğu değerlerde bakır hidroksit (CuOH)⁻ şeklinde çökeldiği bildirilmiştir (Aksu ve Ark., 1995). Bu nedenle pH 5.0'ten büyük değerler çalışmamıştır.

Şekil 3.4'te görüldüğü gibi, çalışılan tüm pH değerlerinde 25-40. dakikalar arasında sistem dengeye ulaşmıştır. Bu durum bakır (II) iyonu biyosorpsiyonu ile ilgili birçok çalışma ile benzerlik göstermektedir (Çeçen ve Gürsoy, 2001; Nelson ve Ark., 1981; Sağ ve Ark., 2000; Say ve Ark., 2001; Nakajima ve Ark., 2001). Ancak dengeye ulaşma süresi kullanılan organizmaya ve çalışma koşullarına göre değişmektedir.

4.3. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklık, adsorpsiyonu etkileyen önemli parametrelerden biridir. Bakır (II) iyonlarının adsorpsiyonu üzerine sıcaklığın etkisi incelenirken 20; 25; 30 ve 40 °C' lerde çalışılmıştır. Şekil 3.6 ve 3.7'de görüldüğü gibi 30 °C' ye kadar birim

gram biyosorbent başına adsorblanan bakır (II) iyonu miktarı ve adsorpsiyon hızı artmakta, daha sonra ise hızla azalma olmaktadır.

Düşük sıcaklıklarda adsorpsiyon hızının yüksek olması, bakır (II) iyonlarının mikroorganizmaya adsorpsiyonunun fiziksel adsorpsiyon özellikleri göstermesindendir. Fiziksel adsorpsiyonda ağır metal iyonları hücre yüzeyindeki bileşene zayıf bağlarla bağlanır. Yüksek sıcaklıklarda bu bağlar kopar ve desorbsiyon gözlenir (Özer ve Özer, 1998; Aksu ve Ark., 1995).

Çalışmamızda en iyi bakır (II) iyonu giderimi 0.23 mg g^{-1} ile 30°C 'de elde edilmiştir (Şekil 3.7).

4.4. Başlangıç Bakır (II) İyonu Derişiminin Adsorpsiyon Üzerine Etkisi

Başlangıç metal iyonu derişimi, metal iyonlarının mikroorganizmalara adsorpsiyonunda oldukça etkili olan bir parametredir. Araştırmamızda başlangıç bakır (II) iyonu derişimleri; $10, 25, 50$ ve 100 mg L^{-1} olarak alınmıştır. Şekil 3.8 ve 3.9'da görüldüğü gibi, 25 mg L^{-1} 'ye kadar olan bakır (II) iyonu derişimlerinde adsorpsiyon hızı ve birim gram biyosorbent başına adsorblanan metal miktarı artarken, bu değerin üzerindeki başlangıç metal iyonu derişimlerinde her iki değer de azalmıştır. Birim gram biyosorbent başına en yüksek bakır (II) iyonu adsorpsiyonu 0.48 mg g^{-1} olarak 25 mg L^{-1} 'lik başlangıç derişiminde elde edilmiştir.

Artan başlangıç metal derişimi ile adsorblanan toplam metal miktarındaki artışa rağmen, metal derişimi arttıkça, giderilen metal yüzdesinde azalış meydana gelmektedir (Lister ve Line, 2001).

Yüksek derişimlerde biyosorbent metalle daha hızlı sürede doygun hale gelmekte, böylece daha kısa sürede dengeye ulaşmaktadır (Sağ ve Ark., 1995; Zulfadhyl ve Ark., 2001).

4.5. Bakır (II) İyonu Adsorpsiyonu Üzerine Çalkalama Hızının Etkisi

Araştırmamızda çalkalama hızının bakır (II) iyonu adsorpsiyonu üzerine etkisini saptamak amacıyla 50; 100; 130 ve 150 devir dk^{-1} çalkalama hızları çalışılmıştır. Şekil 3.10 ve 3.11'de görüldüğü gibi, 130 devir dk^{-1} 'ya kadar olan çalkalama hızlarında adsorpsiyon hızı ve birim gram biyosorbent başına adsorblanan metal miktarı artarken (0.24 mg g^{-1}), daha yüksek çalkalama hızlarında yavaşlamıştır.

Canlı organizmalarla çalışırken çözeltideki maddelerle mikroorganizmaların temasını artırmak için çalkalama hızı önemli bir faktördür. Ancak, biyosorpsiyonda genellikle mikroorganizmanın aktif yüzeyleri ile ağır metal iyonları arasında zayıf bağlar oluştugundan yüksek çalkalama hızlarında mekanik etki artar ve bu bağlar kolayca kopabilir. Bu nedenle yüksek çalkalama hızlarında adsorpsiyon verimi düşmektedir.

4.6. Bakır (II) İyonu İçin Adsorpsiyon Kinetikleri

Bölüm 3.7'de verildiği gibi, mikroorganizma içeren ve içermeyen lif kabakları için regresyon değerleri sırasıyla 0.997 ve 0.999 olarak bulunması tepkimenin ikinci dereceden olduğunu gösterir. Hesaplanan Q_{\max} ve r_0 değerleri mikroorganizma tutuklanmış lif kabağının bakır (II) iyonlarını daha fazla adsorpladığını ve adsorpsiyonun daha hızlı olduğunu göstermektedir ($r_0 = 0.077 \text{ mg g}^{-1}\text{dk}^{-1}$, $Q_{\max} = 0.394 \text{ mg g}^{-1}$). Bu durum, lif kabağına tutuklanmış *P. putida* hücrelerinin ağır metallerin bağlanacakları yüzey alanını artırdığının belirtisidir.

Lif kabağı süngerinde tutuklanmış *P. putida* hücreleri ile bakır (II) iyonlarının biyosorpsiyonu ile ilgili yaptığımız çalışmalar sonucunda, optimum koşullar olarak lif kabağı büyütüğü 0.42 – 0.85mm; başlangıç pH 5.0; sıcaklık 30°C; başlangıç bakır (II) iyonu derişimi 25 mg L^{-1} ve çalkalama hızı 130 devir dk^{-1} olarak saptanmıştır. Ayrıca sadece lif kabağının da iyi bir biyosorbent olduğu gözlenmiştir. Ancak, *P. putida* hücreleri tutuklanmış lif kabağı ile birim gram biyosorbent başına daha fazla bakır (II) iyonu giderimi elde edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Ahuja, P., Gupta, R., Saxena, R.K. (1999) Zn²⁺ biosorption by *Oscillatoria angustissima*. Process Biochemistry, 34: 77-85.
- Aksu, Z. (2001) Equilibrium and kinetic modelling of cadmium (II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature. Separation and Purification Technology, 21(3): 285-294.
- Aksu, Z., Sağ, Y., Nourbakhsh, M., Kutsal, T. (1994) Atık sulardaki bakır (II), krom (VI), kurşun (II) iyonlarının çeşitli mikroorganizmalara adsorblanarak giderilmesinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Doğa-Türk Mühendislik ve Çevre Bilimleri Dergisi, Yayın No: 20.
- Aksu, Z., Sağ, Y., Nourbakhsh, M., Kutsal, T. (1995) Atık sulardaki bakır (II), krom (VI) ve kurşun (II) iyonlarının çeşitli mikroorganizmalara adsorblanarak giderilmesinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Turkish Journal of Engineering and Environmental Sciences, 19: 285-293.
- Allen, J.A., Brown, P.A. (1995) Isotherm analyses for single component and multi-component metal sorption onto lignite. J. Chem. Tech. Biotechnol., 62: 17-24.
- Anon. (1995) Environmental Quality Report (Department of the Environment, Ministry of Science, Technology and Environment of Malaysia).
- Butter, T.J., Evison, L.M., Hancock, I.C., Holland, F.S. (1998) The kinetics of metal uptake by microbial biomass. Implications for the design of a biosorption reactor. Water Sci. Technol., 38 (6), 279-286.

Bülbül, G., Aksu, Z. (1997) Atıksulardaki fenol kirliliğinin serbest ve Ca-alginata tutuklanmış *Pseudomonas putida* ile giderilmesinin kesikli karıştırmalı tepkime kabında karşılaştırmalı olarak incelenmesi. Tr. J. Engineer. Environ. Sci., 21(3), 175-181.

Crusberg, T.C. (1994) Expectations for commercial adoption of new heavy metal bioremediation technologies, WiseD. (ed.) Global Environmental Biotechnology, 347-354, Kluwer Acad. Publ., The Netherlands.

Çeçen, F., Gürsoy, G. (2001) Biosorption of heavy metals from landfill leachate onto activated sludge. J. Environ. Sci. Health, A36(6), 987-998.

Environmental Protection Agency (EPA), (1995). Water Quality Standards; Establishment of Numeric Criteria for Priority Toxic Pollutants; States'Compliance-Revision of Metals Criteria, Federal Register 40 CFR Part 131; [WII-FRL-5196-1], May 4 th.

Gadd, G.M. (1988) Accumulation of metals by microorganisms and algae. In: Rehm, H.J. (Eds.), Biotechnology, VCII, Weinheim, Germany, pp. 401-433.

Gonzalez, G., Herrera, G., Garcia, Ma.T., Pena M. (2001) Biodegradation of phenolic industrial wastewater in a fluidized bed bioreactor with immobilized cells of *Pseudomonas putida*. Biosource Technology, 80: 137-142.

Gupta, R., Ahuja, P., Khan, S., Saxena, R.K., Mohapatra, H. (2000) Microbial biosorbnts ; Meeting challans of heavy metal pollution in aqueous solutions. Current Sci., 78 : 967-973.

Guibal, E., Roulph, C., Le Cloirec, P. (1992) Uranium biosorption by a filamentous fungus *Mucor meihei* pH effect on mechanisms and performances of uptake. Water Research, 26: 1139-1145.

Gündüz, T. (1994) Çevre sorunları. A.Ü. Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Ankara Üniversitesi Yayımları, Ankara.

Hannaford, A.M., Kuek, C. (1999) Aerobic batch degradation of phenol using immobilized *Pseudomonas putida*. J. Indust. Microbiol. Biotechnol. 22: 121-126.

Iqbal, M., Zafar, S.I. (1994) Vegetable sponge as a matrix immobilize micro-organisms: a trial study for hyphal fungi, yeast and bacteria. Letters Appl. Microbiol., 18: 241-217.

İleri, R. (2000) Çevre Biyoteknolojisi. Değişim Yayımları, Adapazarı.

Kuru-Kaçmazoğlu, E. (1999) Sabit yataklı reaktörlerde mikrobiyal nitrat giderimi ve kinetiği. (Doktora Tezi), Atatürk Univ., Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum. Sayfa, 14. (Yayınlanmamış).

Kesenci, K., Denizli, A., Pişkin, E. (1997) Adsorption of cadmium (II) ions from aqueous solutions by using dithiocarbamate containing monosize polystyrene microspheres. Tr. Journal of Engineer. Environ. Sci., 21: 343-350

Kirk, R.E., Othmer, D.F. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, John Wiley & Sons, Inc., USA, 1979.

Lee, C.K., Low, K.S. (1980) A study of wastewater discharge from electroplating factories, Pertanika, 3: 159-161.

Lister, S.K., Line, M.A. (2001) Potential utilisation of sewage sludge and paper mill waste for biosorption of metals from polluted waterways. Bioresource Technology, 79: 35-39.

Lo, W., Wong, M.F., Chua, H. (1998) Removal and recovery of copper (II) ions by bacterial biosorption. *Appl. Biochem. Biotech.*, 91 (3): 447-457.

Mordocco, A., Kuek, C., Jenkins, R. (1999) Continuous degradation of phenol at low concentration using immobilized *Pseudomonas putida*. *Enzyme Microbial Technol.*, 25 : 530-536.

Nakajima, A., Yasuda, M., Yokoyama, H., Ohya-Nishiguchi, H., Kamada, H. (2001) Copper biosorption by chemically treated *Micrococcus luteus* cells. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 17: 343-347.

Nelson, P.O., Chung, A.K., Hudson, M.C. (1981) Factors affecting the fate of heavy metals in the activated sludge process. *J. WPFC*, 53(8): 1323-1333.

Özen, C., Özçayan, G., Sağ, Y., Kutsal, T., Çağlar, A. (1996) *Saccharomyces cerevisiae* ile atık sulardaki bakır (II) ve krom (VI) iyonlarının gideriminin incelenmesi. UKMK-2, Bildiri Kitabı, İTÜ, İstanbul.

Özer, A., Özer, D. (1998) Nikel (II) iyonlarının iki kademeli kesikli kaptı *Cladophora crispata* ile giderilmesi. Tr. *Journal of Engineering and Environmetal Sciences*, 22: 305-313.

Palmieri, M.C., Garcia, O., Melnikov, P. (2000) Neodymium biosorption from acidic solutions in batch system. *Process Biochemistry*, 36: 441-444.

Patterson, J.W. (1977) *Waste Water Treatment*, Science Publishers Inc., USA.

Querk, S.Y., Al-Duri, B., Wase, D.A.J., Forster, C.F. (1998) Coir as a biosorbent of copper and lead. *Trans IchemE*, 76; 50-54.

Ruiz-Manriquez, A., Magana, P.I., Lopez, R., Guzman R. (1998) Biosorption of Cu by *Thiobacillus ferrooxidans*, Bioprocess Engineering, 18: 113-118.

Sağ, Y., Nourbakhsh, M., Aksu, Z., Kutsal T. (1995) Dolgulu kolon reaktörde Ca-aljinat ve tutuklanmış mikroorganizma sistemleriyle karşılaştırmalı ağır metal adsorbsiyonu. Tr. J. Of Engineering and Environmental Sciences, 19: 145-157.

Sağ, Y., Açıkel, Ü., Aksu, Z., Kutsal T. (1998) İkili metal karışıntılarından krom (VI), demir (III) ve bakır (II) iyonlarının *R. arrhizus* ve *C. vulgaris*'e yarışmalı biyosorpsiyonu. Tr. J. of Engineering and Environmental Sciences, 22: 145-154.

Sağ, Y., Yalçuk, A., Kutsal T., (2000) Mono and multi-component biosorption of heavy metal ions on Rhizopus arrhizus in a CFST. Process Biochemistry, 35: 787-799.

Sanchez, A., Ballester, A., Blazquez, M.L., Gonzalez, F., Munoz, J., Hammami, A. (1999) Biosorption of copper and zinc by *Cymodocea nodosa*. FEMS Microbiology Reviews, 23: 527-536.

Say, R., Denizli, A., Arica, M.Y. (2001) Biosorption of cadmium (II), lead (II) and copper (II) with the filamentous fungus *Phanerochaete chrysosporium*. Bioresource technology, 76: 67-70.

Scholz-Baldes, M., Lewin, R.A. (1967) Lead uptake in two marine phytoplankton organisms. Biol. Bull., 150: 180-187.

Tobin, J.M., White, C., Gadd, G.M. (1994) Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology. J. Ind Micobiol, 13: 126-130.

Zajic, J.E. (1971) Water Pollution, Marcel Dekker Inc., USA.

Zilli, M., Converti, A., Lodi, A., del Borghi, M., Ferraiolo, G. (1993) Phenol removal from waste gases with a biological filter by *Pseudomonas putida*. Biotechnol. Bioeng., 41: 693-699.

Zulfadhyl, Z., Mashitah, M.D., Bhotic, S. (2001) Heavy metals removal in fixed bed column by the macro fungus *Pycnoporus sanguineus*. Environ. Poll., 112: 463-470.

6. ÖZGEÇMİŞ

05.11.1977 Düzici-Osmaniye'de doğdu. İlk ve orta öğrenimini Düzici Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladı. 1996-2000 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü bitirdi. 2000 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisansa başladı.