

GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI

**GELENEKSEL TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN
LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ÇEŞİTLİ AĞIR
METALLERİ BAĞLAMA KAPASİTESİNİN
BELİRLENMESİ**

Ali GÜMÜŞ

**Yüksek Lisans Tezi
Gıda Mühendisliği
Ana Bilim Dalı
Doç. Dr. Hüseyin SERENCAM
2019
(Her Hakkı Saklıdır)**

T.C.
BAYBURT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
GIDA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

**GELENEKSEL TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT
BAKTERİLERİNİN ÇEŞİTLİ AĞIR METALLERİ BAĞLAMA
KAPASİTESİNİN BELİRLENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ali GÜMÜŞ

2019
BAYBURT

TEZ ONAY SAYFASI

GELENEKSEL TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ÇEŞİTLİ AĞIR METALLERİ BAĞLAMA KAPASİTESİNİN BELİRLENMESİ

Doç. Dr. Hüseyin SERENCAM danışmanlığında, Ali GÜMÜŞ tarafından hazırlanan bu tez çalışması 22/05/2019 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Prof. Dr. Ali GÜNDOĞDU

İmza:

Üye: Doç. Dr. Enes DERTLİ

İmza:

Üye: Doç. Dr. Hüseyin SERENCAM

İmza:

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Prof. Dr. Metin UÇURUM
Enstitü Müdür V.

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

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tez içindeki bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bu çalışmada şahsıma ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Ali GÜMÜŞ

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

GELENEKSEL TURŞULARDAN İZOLE EDİLEN LAKTİK ASİT BAKTERİLERİNİN ÇEŞİTLİ AĞIR METALLERİ BAĞLAMA KAPASİTESİNİN BELİRLENMESİ

Ali GÜMÜŞ

Bayburt Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Hüseyin SERENCAM

Laktik asit bakterileri (LAB) probiyotik türlerin birçoğunu da içeren fermente ürünlerin oluşmasında temel olarak rol oynayan ticari mikroorganizma grubudur. Son yıllarda birçok LAB türü probiyotik ve fermente ürünleri üretmenin dışında çeşitli nitelikler açısından dikkat çekmektedir. Bu niteliklerin başında da ağır metalleri tutma kabiliyetleri gelmektedir. Ağır metaller hem çevresel açıdan oluşturdukları kirlilik hem de gıda zehirlenmelerine neden olmalarından dolayı son derece önemli sorunlar çıkarmaktadırlar. LAB türleri farklı yüzeysel özellikleri ile ağır metalleri tutup gıdalardan ve diğer ortamlardan uzaklaştırabilirler. Bu kapsamda yapılan bu çalışmada ilk olarak geleneksel turşu örneklerinden LAB türleri izole edilerek tanımlanmış, ikinci aşamada ise tanımlanan bu türlerin Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} ve Zn^{2+} ağır metal iyonlarını bağlama yetenekleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, tüm LAB türleri özellikle Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarına karşı yüksek biyosorpsiyon ilgisi göstermiş, bunlara ilaveten bazı suşlar ise Pb^{2+} iyonlarına da yüksek ilgi göstermiştir. Ancak bazı türler ise Pb^{2+} iyonlarına karşı daha düşük ilgi göstermiştir. Sonuç olarak, turşu kaynaklı bazı LAB türlerinin gıdalarda mevcut olabilecek bazı ağır metalleri yüksek performansla bağlayabileceği ortaya konmuştur. İlerleyen dönemlerde bu türlerin in vivo koşullarda denenip ağır metallerin vücuttan uzaklaştırılması çalışmalarında kullanılacak türler olabileceği öngörülmektedir.

2019, 68 sayfa

Anahtar kelimeler: Laktik asit bakterileri (LAB), Ağır metal, Biyosorpsiyon

ABSTRACT

MS Thesis

DETERMINATION OF THE ADHESION CAPACITY OF LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM TRADITIONAL PICKLED VEGETABLES

Ali GÜMÜŞ

Bayburt University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Food Engineering

Supervisor: Assoc. Dr. Hüseyin SERENCAM

Lactic acid bacteria (LAB) is a commercial microorganism group that plays a major role in the formation of fermented products, including many probiotic species. In recent years, many types of LABs have attracted attention in terms of various qualities besides producing probiotic and fermented products. One of these qualities is the ability to biosorb heavy metals. Heavy metals are very important because they cause environmental pollution and food poisoning. LAB types can retain heavy metals away from food and other media due to their different surface properties. For this reason, 2 main stages were carried out in this project: In the first stage, LAB species from pickle samples produced under natural conditions were isolated and these species were identified. In the second stage, the ability of these species to biosorb Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} , Pb^{2+} and Zn^{2+} heavy metal ions was investigated. According to the results, all LAB species showed high biosorption interest against Cd^{2+} , Co^{2+} , Ni^{2+} and Zn^{2+} ions, in addition some strains showed high interest in Pb^{2+} ions. However, some species showed low affinity for Pb^{2+} ions. As a result, it was concluded that LAB species isolated from pickle samples can remove heavy metals present in foods with high performance.

2019, 68 pages

Keywords: Lactic acid bacteria (LAB), heavy metal, Biosorption

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmam boyunca her zaman yakın ilgi ve desteğini hiç esirgmeden bilgi ve birikimi ile bana yol gösteren ve araştırmalarımnda yönlendiren değerli hocam Sayın Doç. Dr. Hüseyin SERENCAM'a sonsuz şükranlarımı sunarım.

Çalışmamın laboratuvar aşamasında, yaptığım çalışmalarda vermiş olduğu destek ve yardımlarından dolayı Sayın Doç. Dr. Enes DERTLİ'ye çok teşekkür ederim. Analiz sürecinde yardımlarını benden esirgemeyen Sayın Melike VURMAZ'a ve Sayın Yasemin KAYA'ya çok teşekkür ederim. Yüksek Lisans çalışmam boyunca her konuda yardım ve desteğini esirgmeden paylaşıp çalışmalarına vermiş olduğu desteğinden dolayı Araş. Gör. Kübra ÇINAR'a çok teşekkür ederim.

Emek ve desteklerini hayatımın her anında maddi ve manevi hissettiren değerli aileme sonsuz teşekkür ederim. Eğitim hayatım boyunca desteğini benden asla esirgemeyen sevgili abim Sayın İsmail GÜMÜŞ'e sonsuz teşekkür ederim.

Ali GÜMÜŞ

Mayıs /2019

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 Ağır Metaller	1
1.2 Biyosorpsiyon.....	8
1.3 Turşu Üretimi ve LAB Türleri	10
2. KAYNAK ÖZETLERİ	16
3. MATERYAL ve METOD	21
3.1 Materyal.....	21
3.1.1 Turşu örneklerinin toplanması	21
3.1.2 Besiyerleri	21
3.1.3 Primerler	21
3.1.4 Ağır metal biyosorplama kabiliyetine bakılan LAB'lar, analizde kullanılan ağır metaller ve biyosorpsiyon işlemi	22
3.2 Metod.....	24
3.2.1 Turşu örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler	24
3.2.1.1 Laktokokların sayımı	24
3.2.1.2 Laktobasillerin sayımı	24
3.2.2 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu.....	24
3.2.2.1 Kültür ortamı	24
3.2.2.2 Bakteriyel Suşlar ve Büyüme Koşulları	25
3.2.3 Kültür Stoklarının Oluşturulması ve İzolatların Depolanması	25
3.2.3.1 Genomik DNA İzolasyonu.....	25

3.2.3.2 16S rRNA Geninin PCR ile Ampifikasyonu ve Sekanslanması..	26
3.2.3.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektroforezinde Kontrolü	27
3.2.3.4. BLAST Analizi	28
3.2.4. Ağır metallerin laktik asit bakterileri tarafından biyosorpsiyonu.....	29
3.2.4.1 Bakteriyel suşlar ve kültür koşulları	29
3.2.4.2 LAB türlerinin Cd ²⁺ , Ni ²⁺ , Co ²⁺ , Zn ²⁺ ve Pb ²⁺ iyonlarına karşı biyosorpsiyonu	29
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	30
4.1. Turşu Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu.....	30
4.2. LAB türlerinin 16S rRNA genlerinin tanımlanması	30
4.3. Turşudan İzole Edilen LAB	31
4.4. LAB'ların Ağır Metal Tutma Kapasitelerinin Karşılaştırılması	31
5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	42
KAYNAKLAR	43
ÖZGEÇMİŞ.....	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 3.1 Primer gen bölgesi	26
Şekil 3.2 Jele yüklenen 5 µl ladder'ın fragmentlerinin boyutları ve miktarları.....	28
Şekil 4.1 16S geninin ampilifikasyonunu gösteren Agaroz jel (%1) görüntüsü.....	30
Şekil 4.2 LAB'ların zamana bağlı olarak Ni ²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%)33	
Şekil 4.3 LAB'ların zamana bağlı olarak Co ²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%).....	34
Şekil 4.4 LAB'ların zamana bağlı olarak Pb ²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%).....	35
Şekil 4.5 LAB'ların zamana bağlı olarak Cd ²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%)	36
Şekil 4.6 LAB'ların zamana bağlı olarak Zn ²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%)	37
Şekil 4.7 LAB'ların ağır metal iyonları ile 5 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri.....	38
Şekil 4.8 LAB'ların ağır metal iyonları ile 30 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri.....	38
Şekil 4.9 LAB'ların ağır metal iyonları ile 60 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri.....	39
Şekil 4.10 LAB'ların ağır metal iyonları ile 240 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri	39

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 İçme sularındaki kabul edilebilir derişimler (mg L^{-1})	2
Çizelge 3.1 Araştırma sürecinde kullanılan primerler	21
Çizelge 3.2 MP-AES cihazının çalışma şartları ve analitik performansı.....	23
Çizelge 3.3 Ağır metal absorplama kabiliyetine bakılan LAB ve analizde kullanılan ağır metaller	23
Çizelge 3.4 16S rRNA geninin amplifikasyonu için oluşturulan PCR karışımı.....	27
Çizelge 3.5 16S rRNA geninin amplifikasyonu için oluşturulan PCR şartları.....	27
Çizelge 4.1 Turşudan elde edilen izolat sayıları	30
Çizelge 4.2 Turşu izolatlarının örneklerdeki dağılımı	31
Çizelge 4.3 LAB'ların zamana bağlı olarak Ni^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Ni^{2+} kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10^7 kob/mL)	32
Çizelge 4.4 LAB'ların zamana bağlı olarak Co^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Co^{2+} kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10^7 kob/mL)	33
Çizelge 4.5 LAB'ların zamana bağlı olarak Pb^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Pb^{2+} kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10^7 kob/mL)	34
Çizelge 4.6 LAB'ların zamana bağlı olarak Cd^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Cd^{2+} kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10^7 kob/mL)	35
Çizelge 4.7 LAB'ların zamana bağlı olarak Zn^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Zn^{2+} kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10^7 kob/mL).....	36
Çizelge 4.8 Bu çalışmadan elde edilen sonuçların literatürle karşılaştırılması	41

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

Pb	Kurşun
Zn	Çinko
Cd	Kadmiyum
Ni	Nikel
Co	Kobalt

Kısaltmalar

FTS	Fizyolojik Tuzlu Su
LAB	Laktik Asit Bakterileri

1. GİRİŞ

1.1 Ağır Metaller

Metaller gerek günlük hayatta kullandığımız gerekse de yaşam standartlarımızı artırmak için yararlandığımız ürünlere dönüştürdüğümüz ve çevremizde doğal olarak oluşmuş maddelerdir. Modern dünyada etrafımızdaki en basit ürünlerden en teknolojik ürünlere kadar hemen her alanda metal ürünlerine rastlamak mümkündür. Bu yoğun tüketim ve yüksek talep cevher madenciliği endüstrisi ile sürekli metal üretimi sonucunu ortaya çıkarmıştır. Özellikle 20. yüz yılda büyük oranlarda artan bu yaklaşım günümüzde insanlığa kazandırdığı kolaylık ve rahatlığın yanında ciddi çevre sorunlarına da yol açmaktadır. Global ölçekte en büyük sorunlardan biride, ağır metallerin çevreye bilinçsizce salınımı nedeniyle doğal biyojeokimyasal döngünün bozulması, gıda ürünlerinde ve sucul yaşamda birikimleri nedeniyle de insan ve hayvan sağlığını etkilemesidir (Yılmaz, 2015). Özellikle cevher çıkarma, metal işleme, otomotiv, boya, galvaniz, pil ve akü üretimi gibi endüstriyel sektörlerin atıklarından doğaya salınan metaller çevresel felaketlere ve geniş kitleleri etkileyen hastalıklara neden olabilmektedir.

“Ağır metaller” terimi literatürde yaygın olarak potansiyel toksisiteye sahip olan metaller olarak sınıflandırılmaktadır. Periyodik tablodaki metallerin yaklaşık 20 tanesi zehirli olarak değerlendirilir ve bunların birçoğu telafisi ve tedavisi zor olan sorunlara neden olur. Merkezi sinir sisteminde hasarlar, ruh sağlığının bozulması, hayati organların fonksiyonlarının etkilenmesi ve kanı oluşturan bileşenlerin normal oranlarının değişmesi gibi sonuçları doğurur (Sezer, 2015).

Wase ve Forster, çevreye ve insan sağlığına olumsuz etkileri bakımından ağır metalleri kara ve gri olarak iki grupta sınıflandırmıştır (Forster ve Wase, 1987). Kara listede yer alan civa ve kadmiyum çok zehirli olup atık sulardan öncelikli olarak uzaklaştırılması gerekirken, daha az zehirli olan gri gruptakiler ise kurşun, bakır, çinko, nikel ve kromdur (Amirnia, 2015). Çizelge 1.1’de Dünya Sağlık Örgütü

(WHO) ve Türk Standartları Enstitüsü'nce içme sularındaki kabul edilebilir arsenik, civa, çinko, kurşun, kadmiyum ve nikel seviyeleri verilmiştir (Poyraz, 2014).

Ağır metallerin çevre, insan ve diğer canlı organizmalar üzerindeki zararlı etkilerini önleyebilmek için bunların miktarlarının tespiti, ayrılması, zenginleştirilmesi, su ve gıda ürünlerinden uzaklaştırılması için farklı yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerden bazıları iyon değişimi, membran filtrasyonu, birlikte çöktürme, ekstraksiyon ve elektroanalitik yöntemlerdir (Rich ve Cherry, 1987).

Çizelge 1.1 İçme sularındaki kabul edilebilir derişimler (mg L⁻¹)

Ağır Metal	WHO	TS-266
Arsenik	0.01	0.01
Civa	0.001	0.001
Çinko	5	5
Kurşun	0.01	0.05
Kadmiyum	0.003	0.005
Nikel	0.02	0.05

İnsan etkisiyle bozulan doğal sistemler; atmosfer, biyosfer, hidrosfer ve yer kabuğundaki değişiklikler bu ortamlarda birikmiş olan ve özellikle endüstriyel atıklardan meydana gelen ağır metalleri uzaklaştırabilmek için çeşitli yöntemlerin geliştirilmesi ihtiyacını doğurmuştur. Enstrümantal gereksinimleri olan, uzmanlık isteyen ve maliyet gerektiren bu yöntemlerden bazıları adsorban kullanımı, sentetik çöktürücüler, aktif karbon, polimer reçineler, kimyasal yükseltgen ya da indirgeyiciler, elektrokimyasal arıtma, buharlaştırma, filtrasyon, ters ozmoz, iyon değişimi ve membran teknolojileridir (Keloğlu ve Öztürk, 2017). Çok etkili olmasına rağmen, özellikle sentetik ve kimyasal çöktürücülerin en büyük dezavantajları işlem sonucunda oluşan çamurdur. Birçok endüstri tarafından sıklıkla tercih edilmesine rağmen iyon değişimi prosesleri de oldukça maliyetlidir. Membran teknolojisinde ise düzenli temizlik, reçine değişimi gibi zaman alıcı işlemler söz konusudur. Bu gibi teknolojilerin avantaj ve dezavantajlarına bakıldığında ağır metalleri buldukları ortamdaki uzaklaştırabilmek için alternatif yöntemler araştırılmaya devam etmektedir. Bu yöntemlerden birisi de biyosorpsiyondur (Xia ve Liyuan, 2002).

Kurşun: Yeryüzünde çok geniş bir alanda doğal olarak bulunan ve sanayi endüstrisi gibi birçok alanda kullanımını yaygın bir ağır metaldir. Kurşun yapı itibariyle yumuşak ve kolay işlenebilen yoğun bir maddedir. Fakat diğer mineral maddeler ile birleşip dayanıklılık kazanabilmektedir (Ercal vd., 2001). Kurşun gibi ağır metallerin toprakta birikmesi sonucu ortaya çıkan toprak kirliliği ekolojik dengenin bozulmasına neden olmaktadır. Bitkilerde farklı düzeylerde bulunabilmektedir. Kabul edilebilir düzeyin üzerinde olduğu durumda bitkilerden hayvanlara ve insanlara aktarımı söz konusu olabilmektedir. Bu da birçok sağlık problemine yol açmaktadır.

Bilinçsiz sanayileşme ile artan çevre ve toprak kirliliği, verimliliği ve ürün kalitesini düşürmektedir (Keçeci, 2013). Kurşun gıdalarda düşük konsantrasyonlarda yer almaktadır. Haftalık vücuda alınıp tolere edilebilir miktar 0,05 mg olarak verilmiştir. Belirtilen miktarın üzerinde toksik etkileri söz konusudur. İnsan vücudunda kurşun başlıca deri, solunum ve sindirim yoluyla girmektedir. Eser miktarlarda zehirleyici etkiye sahip olan bu metalin kan ve sinir sistemi tahribatlarına, böbrek ve karaciğer sistemleri üzerine toksik etkileri bulunmaktadır (Kahvecioğlu vd., 2010).

Kurşun doğada insanoğlunun neden olduğu veya doğal kaynaklardan çevreye yayılan ve önemli ölçüde çevre kirliliğine sebep olmaktadır. WHO ve AB mevzuatına göre içme suyundaki sınır değeri 0,01 mg/L olarak belirtmiştir (Dündar ve Aslan, 2005). Tahmini olarak vücuttaki kurşun miktarı 125-200 mg civarındadır. Vücut fonksiyonları normal olan bir insanda kurşun emilimi olmadan 1-2 mg kadar vücuttan uzaklaştırılabilmektedir. Belirtilen miktarın üzerindeki kurşun kemik yapısına girmektedir (Schmitt vd., 2007).

Toprak kirliliğinin artması bitkinin verimini, suyun kalitesini etkilemektedir (Doğru, 2007). Dolayısıyla bu kirlilik besin zinciri ile hayvan ve insan sağlığını tehdit eden büyük bir unsur haline gelmektedir. Hızlı büyüyen sanayide üretim aşamaları kadar üretim sonrası da önemlidir. Üretim sonrası çevreye ve toprağa atık salınım miktarının düşürülmesi gerekmektedir. Çünkü doğanın dengesinin bozulması tüm canlıların yaşamsal faaliyetlerinin zorlaştırılması anlamına gelmektedir.

Çinko: Çinko atom numarası 30 olan diğer metallere göre düşük erime noktasına sahip mavimsi beyaz bir metaldir. Doğada kurşun, bakır ve demir gibi diğer

metallerle sülfid oluşturarak birleşik halde bulunmaktadır. Çinko bitkiler, hayvanlar ve mikro organizmalar için demirden sonra en önemli esansiyel metallere biridir. Canlı organizmanın büyümesinde etken bir maddedir. Özellikle beyin, kalp ve üreme sistemi çinkoya ihtiyaç duymaktadır. Biyokimyasal bakımdan öneme sahip nükleik asit ve protein sentezi için önemli bir elementtir (Vural, 1993).

Deniz ürünlerinden istiridye ve midye gibi ürünlerin yanı sıra içme suyunda, süt ve süt ürünlerinde bulunmaktadır. Genel itibariyle bakıldığında protein bakımından zengin olan ürünlerde miktarı fazla olup karbonhidrat bakımından zengin olan ürünlerde ise düşük miktarlarda bulunmaktadır. Çinko beslenmeyle birlikte günlük alınması gereken miktarı son olarak 1982'de FAO/WHO tarafından yayınlanan tolere edilebilir miktarı 0,03-1 mg/kg düzeyinde vücut ağırlığına göre belirtilmektedir (Belgemen ve Akar, 2004).

Vücut sıvısında ve dokularda yer alan, protein yapısına girerek dayanıklılık sağlayan ve vücutta 2 ila 4 g aralığında bulunabilen bir metaldir. Vücudun fonksiyonel yapısına katılarak yaraların hızlı iyileşmesine, immün ve nöropsikiyatrik fonksiyonlara da katkıda bulunmaktadır (Baş ve Demet, 1992). Çinko ilaç sanayisinde otomotiv, inşaat, kâğıt ve demir sanayi gibi birçok alanda geniş kullanıma sahip korozyona karşı koruyucu özelliğe sahip bir metaldir.

Çinko canlıda enzim sistemleri üzerinde 300'den fazla enzim yapısına girerek aynı zamanda metalloenzimlerin de dengelenmesine yardımcı olmaktadır. Bakteri ve virüslere karşı vücudun hücre sel direncini artırmaktadır. Eksikliğinde canlının cinsine, yaşına ve çinkonun eksik miktarına göre farklılık göstermektedir. Normal diyetdeki çinko eksikliği tolere edilebilirken bir aydan fazla görülen çinko eksikliğinde emilimde farklılıklarla ortaya çıkan belirgin hastalık olan Akrodermatitis Enteropatika'dır (Konuk ve Liman, 2009).

Element yapıdaki çinko zehirli olmayıp tuzlarının çözünmesi ile toksik özellik kazanır. Asit ve asitli maddelerin teması ile çözülmeye başlayan tuzlar özellikle galvanizli kaplarda uzun süre asidin bekletilmesi ile çözünür ve akut zehirlenmelere neden olur. 4-8 g'ın üzerinde vücuda alınan çinko neticesinde kusma, diyare, halsizlik ve ateşlenme gibi belirtiler gözlemlenmektedir (Kaya ve Akar, 1998).

Vücuda alınan çinko miktarının %20-40'ı ince bağırsaktan emilir, %70'i dışkı, kalanı ise idrar ve ter ile vücuttan atılır. Vücuttaki çinkonun %40'ı karaciğerde bulunmaktadır. Çinko diğer metallere istinaden daha düşük toksik etkiye sahiptir (Kahvecioğlu vd., 2004).

Nikel: Atom numarası 28 olan ve yapısal olarak diğer metallere nazaran daha sert bir metaldir. Nikel gümüş renginde ağır bir metal olup yer kabuğunda çok bulunmaz. Göktaşlarında saf halde, maden ocaklarından çıkarıldığında ise diğer metallere karışık halde bulunmaktadır. Doğada demirle birlikte sülfürler, arsenürler ve slikaatlar şeklinde bulunmaktadır (Özcan, 2006). Erime noktasının yüksek ve korozyona karşı dayanıklı olması nedeniyle dünyada üretilen nikelin %67'si paslanmaz çelik sanayinde kullanılmaktadır. Nikel madeni para üretiminde ve yüksek basınca sahip motorlu sistemlerde de kullanılmaktadır. Nikelin yüksek sıcaklığa dayanıklı olmasından yararlanılarak uçakların gaz türbinlerinde ve jet motorlarında nikel alaşımları kullanılmaktadır. Kimya sanayisinin gelişmesi alanında, top ve mermi üretimi gibi askeri savunma sistemleri üretimlerinde, gemilerde tuz korozyonuna neden olabilecek alanlarda da kullanılmaktadır.

Nikelin suda çözülebilen tuzları klorür, sülfat ve nitrattır. Yüksek dayanıklılığa sahip, paslanma ve oksitlenme gibi kimyasal olaylardan etkilenmeyen bu maddenin diğer alaşımlarda kullanım oranını giderek artırmaktadır. Diğer yandan gıda endüstrisinde sıvı ve katı yağlarda hidrojenasyonu sağlamaktadır (Nicol ve Zainol, 2003). Dünyada nikel rezervleri en fazla Kanada ve Rusya'da bulunmakta olup Türkiye'de ise var olan oluşumlar düşük tenörlü olduğundan ekonomik değillerdir. Bu nedenle Türkiye'de nikel ihtiyacı ithalat yoluyla karşılanmaktadır (Aslaner, 1979).

Nikel bitkilerde düşük miktarlarda büyüme ve gelişmeyi sağlarken artan organik gübreler, mineral ve kimyasal ilaçlar ile miktarın artması sonucunda bitkilerde fotosentez ve solunumu engeller ve hücre zarı geçirgenliğinin azalmasına neden olur. Nikel miktarının bitkilerde artmasıyla bitki büyümesinde gerileme, meyve verimliliğinin de düşme meydana gelir (Duarte vd., 2007).

Nikel kullanmış olduğumuz tencere, kahve makinesi ve ısıtıcılar gibi ev aletlerinden ısıtılması ile açığa çıkıp yemek ve gıdalara bulaşarak vücudumuza girebilmektedir. Vücuda değişik yollardan alınarak doku ve organlarda biriken nikel zehirlenmelere

neden olmaktadır. Lenf, akciğer ve pankreasta birikmesi ile çeşitli sağlık problemleri oluşturmaktadır. Nikel bulaşması ile ortaya çıkan bu hastalıkların ilk belirtileri ise yorgunluk, baş ağrısı ve bedensel zayıflıktır.

Nikel doğal olarak gıdalarda az miktarda bulunmasına rağmen çikolata ve yağlarda daha fazla bulunmaktadır. Nikel yoğunluğunun fazla olduğu topraklarda yetiştirilen bitkilerin tüketilmesi ile derişim oranı vücutta değişiklik göstermektedir. Sigara kullanımı da ciddi anlamda nikel miktarını artırmaktadır. Vücuda alına yüksek miktardaki nikel akciğer yetmezliği, solunum ve nefes darlığının yanı sıra akciğer burun ve gırtlak kanseri gibi hastalıklara da sebep olmaktadır (Molla, 2007).

Kadmiyum: Kadmiyumun zehirleyici etkisi yüksek olup doğada eser miktarda bulunan bir ağır metaldir. Önemli çevre kirliliğine sebep olur ve doğada genellikle çinko ile birlikte mineral filizlerinde bulunur. Kendine has tadı ve kokusu olan kadmiyumun içme suyundaki kabul edilebilir miktarı 0,006 mg/L'dir (Laskey vd, 1984). Sigara kullanan insanlarda kadmiyum miktarı kullanmayanlara oranla 2 kat fazladır (Laskey ve Phelps, 1991).

Önemli çevre kirliliğine sebep olan kadmiyumun bazı bileşikleri suda çözünür fakat doğada yok olmaz. Zehirli atıkların biriktirildiği alanlarda toprağa salınımı ile hem suya hem de bitkiye zarar verir. Kadmiyum havadan solunum, yiyeceklere bulaşma ve sigara kullanımı ile vücuda girmektedir.

Vücutta uzun süre birikerek çeşitli hastalıklara sebep olmaktadır. Düşük oranda vücutta birikmesi böbrek rahatsızlıklarına neden olurken, havadan solunum ile vücuda alınan kadmiyum akciğer hastalığına sebep olmaktadır (Hew vd. 1993). Vücutta biriken kadmiyumun %50'si böbrek ve karaciğerde birikir, hedef organ ise böbrektir. Kadmiyumun vücuttan çıkışı yavaş olup genellikle idrar ve az miktarda dışkı ve terle dışarıya atılmaktadır. Aynı zamanda vücudun kalsiyum dengesini bozarak yararlı proteinlerin atılmasına da neden olmaktadır (Güler ve Çobanoğlu 1997).

Kadmiyum endüstride oksidasyona karşı direnci ve kolay kaplanabilir özelliğinden yararlanılarak çelik ve demirin kaplanması ile dayanıklılık kazanmasını sağlamaktadır. Diğer yandan pillerde, akülerde ve plastiklerde, petrol bileşenlerinde

ve televizyonlarda kullanılmaktadır. Metaller arasında suda çözünme özelliği diğerlerine göre yüksek olması nedeniyle doğada hızlı yayınıma sahip bir metaldir. Bu nedenle toprak ve sudan bitkilere, dolayısıyla hayvanlara ve besin maddeleri ile de insanlara geçmektedir (Landrigan, 1982).

Vücutta farklı nedenlerle alınan kadmiyum, kemik yapısında kalsiyumun iyon yarıçapına çok yakın olması nedeniyle onun yerine depolanır. Biriken kadmiyum kemik yapısı için önemli D vitamininin sentez proteinlerinden birini inhibe ederek kemik dokularında yenilenmeyi geciktirir. Bu nedenle bu metale maruz kalan insanlar mekanik baskılara karşı hassaslaşır ve insan oturduğunda rahat edemeyerek sürekli acı hissetmeye başlar. Kadmiyum miktarının artması ile kemiklerde ufalanmalar ve kırılmalar baş göstererek ölümler meydana gelebilir. Kadmiyum zehirlenmesi neticesinde nefes darlığı, göğüs ağrısı ve yüksek tansiyon meydana gelir (Baş ve Demet, 1992).

Kadmiyum önemli çevre kirliliğine sebep olan maddeler arasında yer alması nedeniyle pil ve akülerde, metal, bakır ve çinko gibi ürünlerde kaplama, plastik sanayisinde ve petrol bileşenlerinde kullanımı ile oluşan artık maddelerin toprağa ve bitki dokusuna zarar vermemesi için doğaya salınımın miktarının kontrol altına alınması gerekmektedir (Agarwal vd., 2011).

Kobalt: Kobalt doğal ortamda daha çok bakır, nikel, arsenik ve mangan ile birlikte bulunan bir metaldir. Yüksek erime noktasına sahip, mavimsi parlak gri renkte, sert ve suda çözünmeyen bir yapıya sahiptir. Toprakta fazla miktarda rastlanmayan fakat hemen hemen her toprakta bulunan bir metaldir. İnsan sağlığı yönünden önemli bir yere sahip olan B12 oluşumunda kobaltın etkisi büyüktür. Vitaminin olduğu her yerde bulunabilen ve hayvan beslenmesinde önemli bir yer tutmaktadır (Aksoy, 2000). İnsanlar kobaltı vücutlarına B12 vitaminiyle beraber doğal olarak almaktadır.

Endüstride boya sanayinde renk verici ve gıda sanayinde köpüklenmeyi dengeleyici özelliklerinden yararlanılmaktadır. Kobalt diş protezlerinde, süs eşyalarında, cep telefonlarında, sert alanlarda ve aşındırıcı aletlerin üretiminde kullanılmaktadır. İnsan vücudunda kobalt bazı yerlerde vitamin yapısında bulunmaktadır. Mineral yapıda her yerde bulunan kobalt insan vücuduna hayvansal ürünlerin tüketimi ile, yani B12 ile beraber alınmaktadır. B12 vücutta alyuvar üretiminde ve merkezi sinir sisteminin

korunmasında faydalıdır. B12 vitamini eksikliğinde kansızlık, bacak ve kollarda uyuşma ve karıncalanma gibi sağlık problemleri meydana gelir. Vücutta 1,1 mg civarında bulunmaktadır (Bingöl, 1983).

Vücuda fazla miktarda kobalt alınması durumunda solunumda problemler, kalpte yetmezlik, karaciğer ve böbrekte sorunlara neden olmaktadır. İleri düzeyde kobalta maruz kalan bünyede bağışıklık sistemi zarar görürken astım gibi hastalıklar da meydana gelir. Yüksek miktardaki kobalttan zehirlenilmesi sonucunda körlük, sağırılık ve lenf bezlerinde genişlemeler gibi birçok sağlık sorunları oluşur (Lauwerys ve Lison, 1994).

Kobalt doğada az bulunan cevherler arasında yer almaktadır. Dünyada üretimin %55'i nikel cevherinden temin edilmekte olup derin deniz kabuklarında ve nodüllerinde yüksek miktarda kobalt bulunmaktadır. Telefon bataryaları ve elektrikli otomobil sanayinde geniş kullanımı nedeniyle yıllık tüketimi %70 oranlarına kadar çıkmaktadır (Doğan, 2002).

1.2 Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon, metabolik veya fiziksel-kimyasal yollarla özellikle atık sulardaki ağır metallerin biyolojik materyallere tutunma ve birikme özellikleri olarak tanımlanır. Kısaca sulu çözeltilerdeki ağır metallerin inaktif, ölü, mikrobiyal biyokütlelere bağlanmasıdır. Biyosorpsiyonun, metal kaplama ve metal kaplama işlemleri, madencilik ve cevher işleme işlemleri, metal işleme (atık geri kazanımı), batarya ve akümülatör üretim işlemleri, termal güç üretimi (özellikle kömürle çalışan tesisler) ve nükleer enerji üretimi gibi çeşitli uygulama alanları da vardır. Biyosorpsiyon, sulu çözeltilerden metal iyonlarının uzaklaştırılmasında kullanılan indirgeme veya oksidasyon, iyon değişimi, filtrasyon, elektrokimyasal arıtma, membran teknolojisi, buharlaşma geri kazanımı, kimyasal çöktürme ve çözücü ekstraksiyonu gibi geleneksel yöntemlere nazaran daha yeni bir teknolojidir. Özellikle doğal olarak oluşmuş ve ölü biyolojik materyallerin kullanımı dolayısıyla çok cazip bir yöntemdir (Kratochvil ve Volesky, 1998). Biyosorpsiyon mekanizması ağır metal iyonu türü, bulunduğu ortamdaki konsantrasyonu, biyolojik materyalin türü ve miktarı, çözeltinin sıcaklığı ve çözeltideki aktif hidrojen konsantrasyonu gibi koşullardan

etkilenmektedir. Biyosorpsiyon süreci katı faza sahip bir biyomateryal (sorbenet veya biyosorbenet) ve metal iyonlarının uzaklaştırılacağı bir sıvı çözelti ile gerçekleştirilir. Diğer tüm adsorpsiyon yöntemlerinde olduğu gibi biyosorpsiyonda da biyosorbenet ve uzaklaştırılacak metal iyonu arasında sıcaklık, pH gibi fiziksel ve kimyasal koşulların optimize edilmesi gereklidir. Yapısında birçok moleküler grup içeren biyosorbenetler, sulu çözülden uzaklaştırılacakları metal iyonlarına bu gruplarla bağlanarak onları yapılarına dahil ederler. Dolayısıyla farklı biyosorbenetlerle hemen hemen tüm metal iyonlarını buldukları ortamlardan uzaklaştırabilmek için araştırmalar devam etmektedir (Hashim, 2008).

Halen gelişmeye devam eden biyosorpsiyon yöntemleriyle endüstriyel süreçlere sağlanan avantajların bazıları; biyosorbenetlerin ucuz maliyetleri, düşük konsantrasyonlardaki metalleri uzaklaştırabilmek için seçicilik ve verimlilik, yüksek hızda sorpsiyon/desorpsiyon ve çevre dostu materyal kullanımınıdır. Farklı miktarlarda metal adsorpsiyonu yapabilen biyosorbenetlerin, seçicilik ve bulunabilirlik özelliklerinin artırılması için ümit veren yeni araştırmalar yapılmaktadır (Paul vd., 2018)

Ölü ve metabolik olarak aktif olmayan biyolojik materyaller ağır metallerin, nükleer yakıtların ve radyoaktif elementlerin buldukları ortamdan uzaklaştırılmalarında kullanılabilirler. Geleneksel yöntemlerde kullanılan aktif karbon gibi sorbenetlere nazaran daha seçici, ucuz ve etkin biyosorbenetler bulunmaktadır. Güncel biyosorpsiyon işlemleri özellikle endüstriyel atıklar üzerine odaklanmıştır (Pagnanelli vd., 2003).

Bunlara ilaveten, canlı mikroorganizmaların özellikle çevre kirliliğini gidermede kullanımını ile ilgili çalışmalar da literatürde mevcuttur. Bu işlemlere daha çok "biyoremediasyon" denmektedir. Gün geçtikçe, özellikle sağlık, gıda, otomotiv sanayinde hızla meydana gelen gelişmeler neticesinde ortaya çıkan çeşitli atıkların kontrolü artık büyük önem taşımaktadır (Ceyhan ve Esmeray, 2012). Bu atıklar suları, havayı ve toprağı, kısacası tüm yaşam alanlarını tehdit etmektedir. Biyoremediasyon prosesleri ile büyük tanker kazalarıyla kirlenen okyanuslar bile etkin bir şekilde temizlenebilmektedir. Biyoteknolojik bir yaklaşım olan Biyoremediasyon, canlı sağlığını tehdit eden çok çeşitli karakterdeki kirleticileri bir

besin kaynağı olarak kullanmak maksadıyla zararsız küçük metabolitlere parçalayan canlı mikroorganizmaların kullanımını gerektirir. Aslında doğanın kendi kendini temizleme proseslerinin kaynağında biyoremediasyon temelli ayrıştırma yatmaktadır. Ancak laboratuvar ortamında spesifik olarak geliştirilen ya da herhangi bir kaynaktan izole edilen ve çoğaltılabilen mikroorganizmalar (mesela bakteriler) kirliliğin bulunduğu torak veya su ortamına bırakılarak doğal yollarla çevre temizliği sağlanabilmektedir. Bu işlemlerin hepsine bir den Biyoremediasyon denilmektedir (Kocaer ve Başkaya, 2013; Seven vd., 2018; Yavuz ve Sarıgül, 2016). Bu tez çalışması da Biyoremediasyon işlemlerinin bir ön safhası olarak kabul edilebilir. Zira bu tez, turşulardan izole edilen LAB'ların ağır metal tutma kapasitelerinin belirlenmesi üzerine tasarlanmıştır.

Biyoremediasyonun en bariz uygulamalarından biri, 1989'da Alaska'da *Exxon Valdez* petrol sızıntısından sonra denizde gerçekleştirilen temizliktir. Alaska topraklarında bulunan ve izole edilip petrol indirgeyici özelliğe sahip oldukları tespit edilen bakterilerin bölgede çoğalması teşvik edildi. Bu sayede, diğer alternatif tekniklere göre 3 kat daha hızlı bir şekilde biyoremediasyon prosesi ile bölgenin temizlenmesi sağlanmıştır. *Pseudomonas aeruginosa* bakterisi suşları, *Exxon Valdez* petrol sızıntısı sonrasında Alaska sahillerinin temizlenmesine yardımcı olması için kullanıldı. Sahilde uzun zaman çalışan bilim adamları, biyoremediasyonu hızlandırmak için ortama *Pseudomonas* bakterilerinin büyümelerini uyaracak besin maddeleri verdiler. Böylece ortamda çoğalan bu bakteri popülasyonu, petrol ve türevlerinin bulunduğu ortamda rahatlıkla yaşayıp çoğalabildi (URL-1).

1.3 Turşu Üretimi ve LAB Türleri

Turşu, insanlık tarihi boyunca bilinen en eski ve en başarılı gıda muhafaza yöntemlerinden birisidir. Sebze ve meyvelerin belli oranlarda tuz ile karıştırılarak salamura edilmesi, yapılarındaki suyu saldıkları bir ortamda laktik asit bakterileri tarafından fermentasyona uğramaları, hatta bazı durumlarda haricen laktik asit ilavesi ve tuzun koruyucu etkisiyle yapısının bozulmadan uzun süre tüketilebilir hale gelmesi sonucu oluşan fermente türdür (Çon ve Gökalp, 2000). Endüstriyel olarak üretilen turşularda antioksidan ve antimikrobiyel maddeler, aromatik özellikleri olan bitki tohumları ve renk stabilizatörleri de kullanılmaktadır. Fermentasyon işlemi

sırasında, sebze ve meyveden gelen laktik asit bakterileri, asit oluşumu için şekerleri dönüştürür ve başlangıçtaki sebze ve meyvenin yapısal özelliklerini değiştirerek yeni bir gıda ürününe dönüştürür. Bu fermentasyon işlemi ile sebze veya meyvenin normal şartlarda kısa sürede bozulacak olan yapısı ve neticesinde zehirleyici etkiye sahip mikroorganizma oluşumu uzun süre engellenmiş, besleyici özellikleri muhafaza edilmiş olur (Steinkraus, 1983). Salamuralı fermentasyon ile turşu üretimi gerçekleştirilebileceği gibi, salamura evresinde asit eklenerek ya da kuru tuzlama ile hiç fermentasyon yapılmadan da turşu üretilebilir (Aktan vd., 1998).

Turşu kalitesinin optimizasyonu uygun asitlik, tuz konsantrasyonu, sıcaklık ve sanitasyon koşullarıyla doğrudan alakalıdır. Fermentasyona yön vermesi bakımından tuz konsantrasyonu oranı en önemli parametrelerden birisidir, zira %5–8 oranında fermentasyon işlemi hızlı olmakta iken bu oran %10'lara çıktığında fermentasyon yavaşlar ve gerçekleşmeyebilir (Luckow ve Delahunty, 2004).

Turşu yalnız başına yenilebildiği gibi, turşudan çeşitli yemekler yapılabilir ve garnitür olarak da kullanılabilir. Ayrıca fermente turşularda özellikle bağırsaklardaki zararlı mikropları kontrol edebilen yararlı bakteriler bulunmaktadır.

Türk mutfağında önemli bir yere sahip olan turşunun festivalleri düzenlenmekte ve hemen her coğrafi bölgenin sofralarında yerini almaktadır. Özellikle turşu ile servis edilen yemek türleri vardır. Erzurum yemek kültüründe de turşu önemli bir yere sahip olup, ticari olarak üretilen konservelik turşunun yanı sıra ev yapımı havuç, bamya, beyaz lahana, karnabahar, biber, salatalık, patlıcan, sarımsak, taze fasulye, kırmızı pancar gibi sebze türlerinin turşuları sofralarda yerini almaktadır.

Sağlıklı yaşam ilkesinin yaygınlaşması ile bitkisel kaynaklı gıda ürünlerinin beslenmede önemli bir yer tutması, bunların tüketimini çeşitlendirmektedir. Tarladan doğrudan tabağa yaklaşımının yanında pastörizasyon işlemi uygulanmış, haşlanmış ve başta mikrodalgada olmak üzere çeşitli yöntemlerle pişirilmiş gıda ürünleri sofralarda yer almaktadır. Meyve ve sebzelere uygulanan endüstriyel işlemler yapısal ve besinler özelliklerini bozabilmektedir. Basit ve düşük maliyetli bir biyoteknolojik yöntem olan laktik asit fermentasyonu bitkisel kaynaklı gıdalara uygulanması ile gıda güvenliklerini sağlamakta, uzun süre tüketilebilir hale getirmekte, sürdürülebilir duyuşal özellikler kazanmalarını sağlamaktadır (Muñoz vd., 2009).

Birkaç aşamada gerçekleşen turşu fermentasyonunda rol alan mayalar ve küflerin yanı sıra başlangıçta ortamda bulunan ve yüksek tuz ve asit konsantrasyonuna dayanıklı laktik asit bakteri türleri *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus* ve *Lactobacillus plantarum*'dur. *Enterococcus faecalis* ve *Leuconostoc mesenteroides* laktik asit bakterileri ise yine ortamda bulunurlar fakat diğer üçü kadar yüksek konsantrasyonlara dayanıklı değildirler (Fleming vd., 1992).

Laktik asit bakterileri (LAB): Laktik asit bakterileri geleneksel olarak gıda ve yem fermentasyonları ile ilişkilidir ve genellikle yararlı mikroorganizmalardır. Özellikle bazı suşlar sağlığa yararlı (probiyotik) bakteriler olarak kabul edilirler. LAB besin zincirinde önemli yer teşkil eden et, sebze, süt ve bunlardan üretilen gıdalarda bulunurlarken, evlerde kullanılan ve ticari amaçlı üretilen gıdalarda biyolojik olarak koruyucu mikroorganizmalar olarak da faydalanılmakta, hatta insan ve hayvan sağlık direncini artırıcı olarak da kullanılmaktadırlar (Balcázar vd., 2006).

20. yüzyılın başlarında “laktik asit bakterileri” (LAB) terimi “sütü fermente eden organizmalar” olarak tanımlanmıştır. Süt ekşiten organizmalar ve diğer laktik asit üreten bakteriler arasındaki benzerlikler Orla-Jensen tarafından yapılan bilimsel araştırmalar ile tespit edilerek, günümüzdeki bilgilerin temeli oluşturuldu. Laktik asit bakterilerinin sınıflandırılmasında modern taksonomik araçlar, özellikle moleküler biyolojik yöntemler, kullanılmadan önce Orla-Jensen; hücresel morfoloji, glikoz fermentasyonu modu, büyüme sıcaklık aralıkları ve şeker kullanım modellerini kullanarak LAB'ları *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* ve *Streptococcus* olarak sınıflandırdı. Gelişen teknolojik yöntemler ile bu sınıflandırmaya *Aerococcus*, *Alloiococcus*, *Dolosigranulum*, *Globicatella*, *Lactosphaera*, *Mlissococcus*, *Oenococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* ve *Weisella* cinsleri de eklenmiştir. Bununla birlikte, insan veya hayvan patojenleri olarak bilinen *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus* ve *Carnobacterium* cins veya suşları da sınıflandırmada yer almaktadır (Orla-Jensen, 1919). Potansiyel risklerden kaçınabilmek, besinsel ve sağlığı geliştirici yönlerini aydınlatabilmek adına LAB'ların taksonomisi, metabolizması ve moleküler biyolojisi tam olarak tespit edildikten sonra kullanılmalıdırlar. Bir grup gram (+) bakteri oluşturan LAB türleri yapısal olarak değişiklik göstermesine rağmen fizyolojik olarak benzerliklerinin oluşu taksonomik

olarak morfolojik, metabolik ve fizyolojik karakterleriyle sınıflandırılırlar (Yörük ve Güner, 2011).

Bir dizi farklılıklardan oluşan LAB cinsleri fermentasyon son ürünleri bazında homofermentatif (homolaktik) veya heterofermentatif (heterolaktik) olarak gruplandırılırlar. Homofermentasyon ve heterofermentasyon, glikoliz için anahtar enzim olan aldolazın üretimiyle birbirlerinden ayrılırlar. Homofermentatif LAB'leri, Embden Meyerhoff Parnas yolunu kullanarak glikozu parçalayıp laktik asit oluşturur. Heterofermentatif LAB'ları heksoz monofosfat yoluyla glikozu laktik aside dönüştürürler (Bulut, 2003). Potansiyel risklerden kaçınabilmek, besinsel ve sağlığı geliştirici yönlerini aydınlatabilmek adına LAB'ların taksonomisi, metabolizması ve moleküler biyolojisi tam olarak tespit edildikten sonra kullanılmalıdır.

Bir grup gram (+) bakteri oluşturan LAB türleri yapısal olarak değişiklik göstermesine rağmen fizyolojik olarak benzerliklerinin oluşu taksonomik olarak morfolojik, metabolik ve fizyolojik karakterleriyle sınıflandırılırlar (Hansen, 2002).

Genellikle laktik asit bakterileri katalaz enzimi negatif bakterilerdir. Özellikle çubuk ya da kok olabilen hareketsiz bakterilerdir. Sporsuzlar grubunda yer alan laktik asit bakterilerinin glikoz kullanımları birbirlerinden farklıdır ve bu farklılıklara göre gruplandırılabilirler. Özellikle Heksoz şekerlerin fermentasyon ürünü olarak; laktik asit üretenler homofermentatif laktik asit bakterileri, laktik asidin yanı sıra CO₂ ile etanol üretenler ise heterofermentatif laktik asit bakterileri olarak gruplandırılırlar (Holzapfel ve Wood, 1995).

Laktik asit bakterilerinin tanımlanmasında genotipik ve fenotipik bazı yöntemler kullanılmaktadır. Özellikle katalaz testi, gram boyama, karbonhidrat fermentasyonu, glikozdan gaz üretimi, argininden amonyak üretimi, üreme sıcaklığı ve pH değerleri, tuz konsantrasyonlarına tolerans gibi bazı testler sonucunda fenotipik tanımlama yapılmaktadır. Bütün bunlara ek olarak son yıllarda daha sık kullanılan moleküler karakterizasyon yöntemleri ile de genotipik tanımlama yapılmaktadır (Sharpe, 1966; Drosinos, 2007).

Fermente bazı süt ürünlerinde farklı laktik asit bakterileri bulunmaktadır. Günlük olarak tüketilen bazı gıda maddelerinde bulunan laktik asit bakterileri; bazı sert

peynirlerde *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, gözenekli peynirlerde *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*, yoğurt ve tereyağında *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus diacetylactis* olarak adlandırılmaktadır (Leroy ve De Vuyst, 2004; Tamime ve Marshall, 1997). Kefir son zamanlarda tüketimi artan süt ürünleri arasındadır ve laktik asit bakterilerinden *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, *Streptococcus faecalis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis* izole edilmektedir (Guzel-Seydim vd., 2011).

Birçok süt ürünü üretimi laktik asit bakterileri ile gerçekleşmektedir. Üretimde kullanılan bu bakteriler bazı patojenlerin ve zararlı mikroorganizmaların (*Salmonella*, *Stafylokokus aureus*, *Pseudomonas* ve *E.coli* gibi) çoğalmasını ve yaşamasını engellemektedir. Bu durum insan sağlığı açısından oldukça önemlidir (Frank ve Marth, 1977).

Fermente edilmiş et ve et ürünlerinde de LAB bulunmaktadır. Özellikle işlenmiş et ürünlerinden sosis ve sucuktan farklı laktik asit bakterileri izole edilmektedir. En fazla izole edilen laktik asit bakterileri *Lactobacillus sake*, *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus farciminis* olarak sıralanmaktadır (Kılıç, 1990).

Ülkemizde fermente sebzelerden zeytin, lahana, üzüm şırası ve patlıcan gıda alanında sıklıkla tüketilmektedir. Diğer fermente gıda ürünlerinde olduğu gibi sebzelerde de birçok LAB bulunmaktadır. Bunlar; *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus hilgardii*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Lactobacillus brevis*, *Leuconostoc citreum* ve *Lactobacillus paraplantarum* olarak adlandırılmaktadır (Gürakan vd., 1995; Panagou vd., 2003).

Laktik asit bakterileri tarafından üretilen laktik asit ile düşük konsantrasyonlardaki formik asit, asetik asit ve propiyonik asit gibi bazı organik asitler patojen mikroorganizmalar üzerinde antibakteriyel etki sağlamaktadır (Seseña ve Palop, 2007).

Ayrıca fermente gıda ürünlerinin raf ömrünü laktik asit bakterilerinin uzattığı da bilinmektedir. Bütün bunlar laktik asit bakterilerinin önemini ortaya koymaktadır.

Tezin amacı: Son dönemde ağır metallerin LAB türlerini de içerecek şekilde farklı mikroorganizmalar tarafından tutulması ve uzaklaştırılması çalışmaları önem kazanmıştır. Özellikle gezegenimizde son yüzyılda meydana gelen ağır metal kirliliği ve önümüzdeki dönemlerde bu hususun artabileceği ihtimali de göz önüne alındığında bu metallerin uzaklaştırılması çalışmaları önemini daha da arttırmaktadır. Bu çalışmada da insanların günlük olarak tükettikleri geleneksel turşu örneklerinden LAB türlerinin izolasyonu ve bu türlerin çeşitli ağır metalleri bağlama kabiliyetleri test edilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar izole edilen bu türlerin akut ve kronik ağır metal sorunlarına karşı ilerleyen dönemlerde kullanılabileceği fikrini uyandırmıştır.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

Halttunen ve ark. 2007 yılında yapmış oldukları bir çalışmada, spesifik LAB'ları, kadmiyumun giderilmesi ve sudan geçme yetenekleri açısından değerlendirmiştir. En etkili metal gidericiler olarak *Bifidobacterium longum* 46, *Lactobacillus fermentum* ME3 ve *Bifidobacterium lactis* Bb12 tespit edilmiştir (Halttunen vd., 2007).

Kinoshita ve ark. 2013 yılında yaptıkları çalışmada LAB'ların 103 suşunu kullanarak ağır metallere Cd(II), Pb(II), As(III) ve Hg(II) biyosorpsiyonunu test ettiler. Her bir ağır metalde biyosorpsiyon yeteneği farklı oranlarda tespit edilmiş ve 103 suşun tamamı da Cd(II)'ye karşı biyosorpsiyon ilgisi gösterdiği tespit edilmiştir (Kinoshita vd., 2013).

Halttunen ve ark. 2007'deki çalışmalarında, üç tane *Lactobacillus* suşunun doğal ve kimyasal olarak değiştirilmiş formları ile arsenik uzaklaştırma kapasiteleri incelenmiştir. Her üç suşun doğal ve metillenmiş formlarının arsenik gideriminde etkili olmadığı belirlenmiştir. Aminatize edilmiş *Lactobacillus casei* DSM20011'in sudaki As(V)'i değil As(III)'ü uzaklaştırdığı tespit edilmiştir (Halttunen vd., 2007).

Yılmaz ve ark., 2010'da yaptıkları çalışmada, bir LAB olan *Enterococcus faecium*'u sudan Cu(II) iyonlarını uzaklaştırma yeteneği açısından incelenmiştir. pH, temas süresi, Cu(II) iyon başlangıç konsantrasyonu ve sıcaklığın biyosorpsiyon oranı ve kapasitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Çalışmada maksimum biyosorpsiyon kapasiteleri pH 5.0 ve 6.0'da elde edilmiş, 20 °C ve 40 °C arasındaki sıcaklık değişimi bakteri biyokütlesinin biyosorpsiyon kapasitesini etkilemediği tespit edilirken, en yüksek Cu(II) iyon giderme kapasitesi 106.4 mg/g kuru biyokütle olarak tespit edilmiştir (Yılmaz vd., 2010).

Sofu ve ark., 2015'teki çalışmada, *Lactobacillus delbrueckii*ssp *bulgaricus* (Lb-12), *Streptococcus thermophilus* gibi üç farklı biyokütle içinde sütlü atıksu ile sulu çözümlerden demir ve çinkonun uzaklaştırılması incelenmiştir. *Streptococcus thermophilus* (STM-7) ve bu bakteri kültürünün (YC-380) bir kombinasyonu ve

MINITAB programı kullanılarak optimum çıkarılma verimliliği belirlenmiştir. Fe(II) ve Zn(II)'nin sulu çözeltiden uzaklaştırılmasının optimum koşullarını belirlemek için 2 faktörlü bir deney tasarımı uygulanmıştır. Test edilen üç faktör biyokütle konsantrasyonu, sıcaklık ve pH idi. Optimum biyokütle, sıcaklık ve pH sırasıyla 15 g/L, 20 °C ve 9 olarak bulunmuştur (Sofu vd., 2015).

Mrváč ve ark., tarafından 2009'da yapılan bir çalışmada, LAB ile çinko biyosorpsiyonu araştırılmış, çinkonun bir su çözeltisinden bağlanma yeteneği değerlendirilmiştir. En etkili metal bağlayıcı LAB türleri *Leuconostoc mesenteroides* olduğu bildirilmiştir. Optimum şartlar da; pH=5, 32 °C ve 24 gram kuru kütle başına 27.10 mg Zn olarak tespit edilmiştir (Mrvać vd., 2009).

Young-Joo ve ark., 2017 yaptıkları çalışmada, Kore kökenli fermente gıda ürünü olan kimchi'den LAB izole edilerek kurşun (Pb) toksitesinin giderilmesi araştırılmıştır. Çalışmada toplamda 96 farklı LAB suşu izole edilmiş, 52 suşun kurşun direnci gösterdiği tespit edilmiş ve bunların arasında *Leuconostoc mesenteroides* olarak tanımlanan bir LAB suşu (L-96), en belirgin Pb direncine ve uzaklaştırma kapasitesine sahip olduğu tespit edilmiştir (Yi vd., 2017).

Zhai ve ark., 2015'te yaptıkları çalışmada, bir laktik asit bakterisi olan *Lactobacillus plantarum* CCFM8610'un bir suşunun Cd'yi bağlayabilme özelliği ve meyve ve sebzeden Cd'nin uzaklaştırılması incelenmiştir. Elektron mikroskobu gözlemleri ve enerji dağılımlı X-ışını analizi ile Cd'nin çoğunluğunun bakteri hücresinin yüzeyine bağlandığı tespit edilmiştir (Zhai vd., 2016).

Topcu ve Bulat, 2009'da yapmış oldukları çalışmada, besinlerde ve sulu ortamda sıklıkla bulunan kadmiyum alımının ortamdaki uzaklaştırılmasında 2 *Enterococcus faecium* suşu (*E. faecium* EF031 ve *E. faecium* M74) kullanılmıştır. Ayrıca bakteri canlılığı, inkübasyon (temas) süresi ve pH'ın bağlanma kapasiteleri ve bağlanma stabilitesi üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Her iki suşun da verimli bir şekilde kadmiyum ve kurşunu uzaklaştırdığı belirlenmiştir (Topcu ve Bulat, 2010).

Filote ve ark., 2019 yılında yapmış oldukları çalışmada başlangıç materyali olarak *Fucus spiralis* yosunu kullanılarak tam bir biyo-rafineri işleminin tasarımına katkıda bulunmaya ve sulu çözeltideki ağır metallerin biyo-koruyucusu olarak potansiyelini

belirlenmesi amaçlanmıştır. Pb(II) giderimi için *F. Spiralis* atığının kapasitesi bazı testlerle belirlenmiş olup başlangıç metal konsantrasyonu 20 mg/L, en iyi adsorban dozajı 0.50 g/L ve optimum pH da 4.5 olarak tespit edilmiştir (Filote vd., 2019).

Abd El-Hameed ve ark., 2018'deki çalışmalarında, iki tatlı su alg siyanobakterisinin (*Nostoc muscorum* ve *Anabaena variabilis*) 21 gün boyunca dört farklı başlangıç konsantrasyonun (0-50 mg/L) sulu solüsyonlarından ayrılma kabiliyeti incelenmiştir. 15 mg/L başlangıç metal konsantrasyonunda *N. muscorum* tarafından %97.8 ile maksimum Pb(II) adsorpsiyonu tespit edilmişken, aynı konsantrasyonda *A. variabilis* ile maksimum uzaklaştırma 16 gün sonra %71.4 olarak tespit edilmiştir (El-Hameed vd., 2018).

González ve ark., 2017'de Arjantin Buenos Aires'te gerçekleştirdikleri çalışmada, çinko, bakır ve Krom(VI) metallerine ile yüzey su akımlarına karşı bakteriyel direnci değerlendirmek üzere biyosorpsiyon çalışması gerçekleştirmiştir. Matanza-Riachuelo havzasında bakteriyel topluluklarının incelenen tüm metallerle karşı yüksek direnç gösterdiği tespit edilmiştir. *Microbacterium* sp'nin. krom dirençli suş olduğu belirlenmiş ve verim olarak 36 ve 66 saatte 50 ve 100 mg/L Cr(VI)'yı % 99'dan daha yüksek bir oranda uzaklaştırabildiği tespit edilmiştir. Sıvı atıklarla yapılan çalışmada, suşun 84 saat içinde 150 mg/L transformasyona ve %99'dan daha yüksek verime sahip olduğu bulunmuştur (González vd., 2018).

Kaparapu ve Prasad, 2018'de deniz mikro alg *Nannochloropsis oculata*'nın sulu çözültiden Cd(II) iyonlarının uzaklaştırılmasında biyosorpsiyon kapasiteleri araştırılmıştır. *Nannochloropsis oculata* biyokütlesinin Cd(II) iyonları için biyosorpsiyon potansiyeli 232.55 mg/g olarak bulunmuştur. Ayrıca hesaplanan termodinamik parametreler (ΔG° , ΔH° ve ΔS°), Cd(II) iyonlarının *Nannochloropsis oculata* biyosorpsiyonununun 298-323 K'da uygulanabilir, spontan ve ekzotermik olduğu belirlenmiştir (Kaparapu ve Prasad, 2018).

Aslan ve ark., 2018'de yapmış oldukları çalışmada, biyolojik atıksu arıtma tesisinden elde edilen atık toz haline getirilmiş aktif çamur biyokütlesi (PWB) üzerine Cu(II) ve Ni(II) iyonlarının adsorpsiyonu araştırılmış ve temas süresi, pH, sıcaklık, başlangıç sorbat ve sorbent konsantrasyonlarının adsorpsiyon üzerindeki etkileri belirlenmiştir.

BET yüzey alanı, gözenek hacmi ve PWB gözenek çapının sırasıyla yaklaşık 0.51 m²/g, 0.0053 cm³/g ve 41.4 nm olduğu bulunmuştur (Aslan vd., 2018).

Gillani ve ark., 2018'de yapmış oldukları çalışmada, endofitik bakteri *Agrobacterium tumefaciens* 12b3'ün Cd(II)'ye karşı hiper akümülatör bitkisi *Oxalis corniculata*'dan Fourier transform infrared (FT-IR) tekniği kullanılarak adsorpsiyon kapasitesi ve Cd(II) iyonlarının adsorpsiyonu için biyosorbentteki değişimi saptamak için taramalı elektron mikroskobu (SEM) uygulanmıştır. Cd(II) için pH 6'da optimum temas süresi olarak 30 dakika ile kantitatif adsorpsiyon verimi sağlanmış edildi ve konsantrasyon 10 ile 150 mg/L aralığında arttıkça adsorpsiyonun da arttığı belirlenmiştir. *A. Tumefaciens*'in kadmiyum adsorpsiyonunda oldukça etkili olduğu belirlenmiştir (Gillani vd., 2018).

Mokone ve ark., 2018'de yapmış oldukları çalışmada modifiye edilmiş alg biosorbentleri, *Cladophora* sp. Alginat boncukları ve silika jeldeki algler kullanılarak sulu çözeltilerden civa geri kazanımı değerlendirmiş, optimal metal giderimi pH 5'te, karıştırma süresi 60 dakika, başlangıç metal konsantrasyonu 100 mg/L ve sıcaklık da 16 °C olarak belirlenmiştir. Her iki biyosorbentin de Hg²⁺ için oldukça yüksek seçiciliğe sahip olduğu belirlenmiştir (Mokone vd., 2018).

Coelho ve ark., 2018'de yapmış oldukları çalışmada, yeni ve yenilebilir bir adsorban malzeme olarak H₂O₂, H₂SO₄ ve NaOH ile kimyasal modifikasyondan sonra Cd²⁺, Pb²⁺ ve Cr³⁺'ün sulu ortamdan uzaklaştırılması için kaju fıstığı kabuğu (*Anacardium occidentale*) (CNS) kullanılabilirliğini araştırdılar. Adsorbentler; taramalı elektron mikroskobu, sıfır yük noktasının belirlenmesi, termogravimetrik analiz, gözenek dağılımları, infrared analizleri gibi analizlerle karakterize edilmiştir. Optimum adsorpsiyon koşulları pH: 5, adsorban kütlesi/su hacmi ilişkisi: 4 g/L, temas süresi 40 dakika olarak bulunmuştur. Bulgularda Cd²⁺ ve Cr³⁺'ün adsorpsiyon mekanizmasında kemisorpsiyonun daha baskın olduğu belirlenmiştir (Gillani vd., 2018).

Burevska ve ark., 2017'deki çalışmalarında, doğal yer fıstığı kabuğu, bir tarım atığı ve bunların kimyasal olarak modifiye edilmiş formlarının, sulu ortamlardan Ni(II) iyonlarını uzaklaştırma potansiyelleri araştırılmıştır. SEM görüntüsü ile yer fıstığı

kabuklarının modifikasyonunun yüzey alanını arttırdığı ve dolayısıyla adsorpsiyon kapasitesini geliştirdiği tespit edilmiştir (Burevska vd., 2018).

Dhanwal ve ark., 2018'de yapmış oldukları çalışmada, elektrokaplama endüstriyel atıklarla kirlenmiş topraktan izole edilen bakterilerin ağır metallerin biyosorpsiyon potansiyelini araştırmıştır. Bakteriyel izolatların bakır, nikel, kurşun ve krom'a karşı çok metalli biyosorpsiyon potansiyeli araştırılarak elde edilen bulgularda bakteriyel izolat CU4A'nın, sulu çözeltide bakır, nikel, kurşun ve krom alımının sırasıyla maksimum %87.16, %79.62, %84.92 ve %68.12 biyosorpsiyon verimliliği gösterdiği tespit edilmiştir. Bakteriyel suşu CU4A, 16S rRNA gen dizisi analizini takiben *Bacillus cereus* olarak tanımlanmıştır (Dhanwal vd., 2018).

Bano ve ark., 2018'deki çalışmalarında, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus gracilis*, *Aspergillus penicillioides* (sp.1), *Aspergillus penisillioides* (sp.2), *Aspergillus restrictus* ve *Sterigmatomyces halophilus* içeren halofilik mantarların kadmiyum, bakır, demir, manganez, kurşun ve çinko biyooksidasyonu incelenmiştir. Test edilen tüm mantarlar, ağır metallerle karşı orta ile yüksek oranda adsorpsiyon verimi gösterdiği, bunlar arasında *A. flavus* ve *S. Halophilu halophilus*, %86 ve %83 ile çalışılan tüm ağır metallerle karşı en iyi adsorpsiyon verimi göstermiştir (Bano vd., 2018).

3. MATERYAL ve METOD

3.1 Materyal

3.1.1 Turşu örneklerinin toplanması

Çalışma kapsamında, Erzurum ve ilçelerinden toplanan geleneksel turşu örnekleri olmak üzere farklı olgunlaşma evrelerine sahip toplam 10 adet geleneksel turşu örneği toplanmıştır. Toplanan örnekler steril numune torbalarına alınarak laboratuvara getirilmiş ve analiz süresince buzdolabında muhafaza edilmiştir.

3.1.2 Besiyerleri

Araştırma boyunca LAB türlerini izole etmek için besiyerleri de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth ve agar, M17 broth ve agar Merck-Türkiye'den sağlanmıştır.

3.1.3 Primerler

Turşulardan farklı LAB türlerinin izolasyonu, genotipik karakterizasyonu, tanımlanmaları ve bu türlerde 16S gen bölgesinin amplifikasyonu amacıyla kullanılan primerler, ampilifiye edilmek istenen hedef gen boyutu ve PCR şartları Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Araştırma sürecinde kullanılan primerler

Primer	Sekans(5'-3')	Hedef gen	Hedef gen Boyutu(bp)	PCR Şartları	Referans
AMP_F	GAGAGTTTGATYCTGGCTCAG	16S rRNA	1500	95°C 2dk 95°C 30s 55°C 20s 72°C 30s 25 defa	(Baker vd, 2003)
AMP_R	AAGGAGGTGATCCARCCGCA				

Y = C ya da T; R = A ya da G

3.1.4 Ağır metal biyosorplama kabiliyetine bakılan LAB'lar, analizde kullanılan ağır metaller ve biyosorpsiyon işlemi

Bakterilerin ağır metal absorpsiyonu için kullanılan ağır metaller ve bu ağır metallerin analizde kullanılan konsantrasyonları çizelge 3.3'de verilmiştir.

Çizelge 3.2'de verilen 21 farklı LAB suşunun Cd^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Zn^{2+} ve Pb^{2+} iyonlarına karşı biyosorpsiyon performansı test edildi. Bunun için, her bir suşun 4,0 mL suda 10^7 kob/mL süspansiyonu hazırlandı. Bu süspansiyona her bir metal iyonunun 1000 mg/L'lik stok çözeltisinden 0,2 mL ilave edildi. Dolayısıyla metal iyonlarının her birinin konsantrasyonu yaklaşık 50 mg/L'ye ayarlanmış oldu. Daha sonra bu karışımlar farklı zaman dilimlerinde karıştırıldı (5, 30, 60 ve 240 dakika). Süreler sonunda süspansiyon karışım 0,45 µm selüloz nitrat membrandan süzülükten sonra süzüntüde biyosorplanmadan kalan metal iyon derişimleri Mikrodalga Plazma – Atomik Emisyon Spektrometri (MP-AES) ile tayin edildi ve aşağıdaki formül yardımıyla biyosorpsiyon yüzdeleri hesaplandı:

$$Biyosorpsiyon\ verimi\ (\%) = \frac{C_0 - C_e}{C_0} \times 100 \quad (1)$$

C_0 : Başlangıç metal iyonu derişimi (mg/L)

C_e : Çözeltide biyosorplanmadan kalan metal iyonu derişimi (mg/L)

Sulu çözeltide metal iyonlarının analizinde birçok yöntem kullanılmaktadır. Bu yöntemler arasında; ICP-MS, ICP-OES ve FAAS teknikleri uzun zamandan beri kullanılmaktadır. Ancak son zamanlarda artan ilgi ile kullanılmaya başlanan MP-AES (Mikrodalga Plazma – Atomik Emisyon Spektrometri) tekniği tercih edilebilir bir alternatif olarak göze çarpmaktadır. Sistemde plazmayı oluşturmak için havadan neredeyse sıfır maliyetle elde edilen azot kullanılmaktadır. Azot gazı yardımıyla mikrodalga enerji ile 5000 °C'lik bir sıcaklıkla üretilen plazma içerisine numune çözeltisi püskürtülmekte ve mevcut metal iyonlarının atomlaştırılmasını takiben sipesifik emisyon çizgileri oluşturulmaktadır. Oluşturulan emisyonlar bir CCD detektörle tayin edilerek kantitatif ölçümler yapılabilmektedir (URL-2; URL-3).

Bu çalışmada sulu çözeltilerde mevcut metal iyonlarının tayini için 4200 model MP-AES (Agilent Technology, Santa Clara, Kaliforniya, ABD) cihazı kullanılmıştır. Cihazın çalışma şartları ve performansı ile ilgili bilgiler çizelge 3.2’de verilmiştir.

Çizelge 3.2 MP-AES cihazının çalışma şartları ve analitik performansı

	Ni	Cd	Pb	Zn	Co
Dalga boyu, nm	352,454	228,802	405,781	213,857	340,512
Sisleştirici basıncı, kPa	240	140	240	140	240
Kararlılık ve numune alma süreleri, s	10	10	10	10	10
Peristaltik pompa hızı, rpm	15	15	15	15	15
LOD, µg/L	2,1	1,8	4,4	2,1	2,7
LOQ, µg/L	6,9	5,9	14,5	6,9	8,9
BSS, %	2,1	0,5	1,5	1,3	1,1
Çalışma aralığı, mg/L	0,1–10,0	0,1–10,0	0,1–10,0	0,1–8,0	0,1–15,0

Çizelge 3.3 Ağır metal absorplama kabiliyetine bakılan LAB ve analizde kullanılan ağır metaller

	Mikroorganizma Adı	Kodu	Kullanılan Ağır metaller	Ağır Metal stok Çözeltilerinin Konsantrasyonu	Analizde Kullanılan Ağır Metal konsantrasyonu
1	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	TS-1	Zn (Çinko)	1000 ppm	50 ppm
2	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TS-2	Pb (Kurşun)	1000 ppm	50 ppm
3	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-3	Cd (Kadmium)	1000 ppm	50 ppm
4	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TS-4	Ni (Nikel)	1000 ppm	50 ppm
5	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-5	Co (Kobalt)	1000 ppm	50 ppm
6	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-6			
7	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TS-7	LAB suşu süspansiyonu:		10 ⁷ kob/mL
8	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-8			
9	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TS-9			
10	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-10			
11	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TS-11			
12	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-12			
13	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TS-13			
14	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-14			
15	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-15			
16	<i>Lactobacillus spp.</i>	TS-17			
17	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TS-18			
18	<i>Lactococcus spp.</i>	TM-1			
19	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TM-2			
20	<i>Lactobacillus plantarum</i>	TM-11			
21	<i>Lactococcus lactis</i>	TM-12			

3.2 Metod

3.2.1 Turşu örneklerinde yapılan mikrobiyolojik analizler

Mikrobiyolojik analizler için turşu örneklerinden 10 g alınarak 90 ml fizyolojik tuzlu su (FTS) içerisinde stomacherde homojenize edilmiş ve 1/10'luk dilüsyonlar hazırlanmıştır. Daha sonra homojenize hale getirilen örneklerden 1 ml alınarak içinde 9 ml FTS bulunan tüpe aktarılmış ve bu şekilde seri dilüsyonlar hazırlanmıştır. Her bir mikroorganizmanın sayımı için uygun dilüsyonlardan uygun besiyerlerine uygun metod ile ekim yapılmıştır (Harrigan, 1998).

3.2.1.1 Laktokokların sayımı

Laktokokların sayımı için M-17 Agar (Merck 1.15108) kullanılmıştır. Besiyerine yayma yöntemiyle uygun dilüsyonlardan ekim yapıldıktan sonra Anaerocult A (Merck 1.13829) ile birlikte Anaerobik jarlara konularak oluşturulan anaerobik şartlarda 37°C'de 24 saat süreyle inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonda üçten fazla petri istiflemesi yapılmamış ve petri hareket ettirilmemiştir. İnkübasyon sonrası oluşan koloniler sayılıp seyreltme faktörü ile çarpılarak veya ilgili dilüsyon faktörü hesaplanarak sonuç log kob/g olarak bulunmuştur (Speck, 1984).

3.2.1.2 Laktobasillerin sayımı

Laktobasillerin sayımı amacıyla de Man Rogosa Sharpe Agar (MRS Agar) (Merck 1.10660) kullanılmıştır. Yayma yöntemiyle uygun dilüsyonlardan petri plaklarına ekim yapıldıktan sonra petri plakları Anaerocult A (Merck 1.13829) ile birlikte Anaerobik jarlara konularak oluşturulan anaerobik şartlarda 37°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmış ve inkübasyon sonunda yukarıda ifade edildiği şekilde sonuçlar log kob/g olarak bulunmuştur (Speck, 1984).

3.2.2 Laktik asit bakterilerinin izolasyonu

3.2.2.1 Kültür ortamı

Laktobasillerin izolasyonu için MRS agar, geliştirilmesi için MRS broth, Laktokokların izolasyonu için M17 agar, geliştirilmesi için M17 broth kullanılmıştır.

3.2.2.2 Bakteriyeel Suşlar ve Büyüme Koşulları

Turşu örneklerinden laktik asit bakterisi izole etmek için 10 gram steril stomacher poşetlerine tartılıp 90 ml steril FTS ilave edilerek homojenize edilmiştir. Daha sonra seri dilüsyonlar hazırlanmış ve 10^{-4} ve 10^{-5} 'lık dilüsyonlardan 100 µl alınarak MRS agar, M17 agar besiyerlerine aktarılmıştır. Petri plakalarına aktarıldıktan sonra drigalski spatülü ile yayma işlemi yapılmıştır. Ekimi yapılan petriyer anaerob ortamda 37 °C ortamda 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.3 Kültür Stoklarının Oluşturulması ve İzolatların Depolanması

İzole edilen bakterilerin stok solüsyonları sonraki analizlerde kullanılmak üzere %40'lık gliserole aktararak -80°C'de depolanmıştır.

3.2.3.1 Genomik DNA İzolasyonu

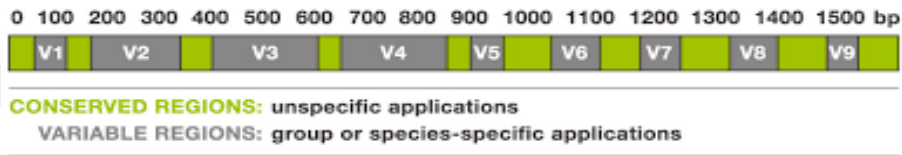
Sıvı kültür ortamında gelişmeye bırakılan izolatlardan gelişen kültürlerden ependorf tüpü içerisine 1 ml alınarak 10 dakika 7000xg de bakterilerin bir arada toplamak için santrifüj işlemi yapılmıştır. Tüp içerisindeki süpernatant uzaklaştırılarak hücreler bir araya toplandı. Bir araya toplanan bakteri hücrelerinin üzerine 450 µl TE (Tris EDTA) tamponundan ilave edilerek hafif karıştırma işlemi ile hücrelerin tampon içerisinde süspansiyon olması sağlanmıştır. Süspansiyon edilen hücrelere 50 µl %10 luk SDS (Sodyum dodesil sülfat) ve 2 µl Proteinaz K ilave edilip iyice vortekslelendikten sonra 37°C'de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda 0.5 ml fenol: kloroform: isoamil alkol (25:24:1) karışımından ilave edilip tüpler baş aşağı çevrilerek iyice karıştırılmış ve 5 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir. İçerik 4°C'de 10 dakika 7000xg de santrifüjlendikten sonra elde edilen süpernatant benzeri yüksek viskoziteli jel otomatik pipet kullanılarak toplanıp yeni bir tüpe aktarılmıştır. İşlem fenol-kloroform-isoamil alkol karışımı ile bir kez daha tekrarlanıp oluşan süpernatant benzeri yüksek viskoziteli jel yeni bir tüpte toplanmıştır. 5M'lık sodyum asetatın 50 µl içeriğe ilave edilip hafifçe karıştırılmıştır. İçeriğe 1 ml izopropanol ilave edilerek çöken DNA'nın beyaz iplikçikleri oluşana kadar ters-düz edilerek hafifçe karıştırılmıştır. İçerik 3000xg de 10 dakika santrifüjlendikten sonra süpernatantı uzaklaştırılıp, elde edilen pellet üzerine 0,5 ml %70 lik etanol ilave edilip hafif karıştırıldıktan sonra içerik 3000xg de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant

uzaklaştırıldıktan sonra kalan etanolü uzaklaştırmak için içerik 37°C’de 5-10 dakika bekletilmiş ardından elde edilen DNA 100 µl distile su ilave edilerek süspanse edilmiştir.

3.2.3.2 16S rRNA Geninin PCR ile Ampifikasyonu ve Sekanslanması

16S geni bakterilerin çoğalması için elzem olan ribozomal RNA’lardan sedimantasyonuna bağlı olarak 16S olarak adlandırılan rRNA geninin kodlandığı gen bölgesidir. Temel özelliği ise bakterinin jenerasyonu için gerekli olmasıdır ve en önemli özelliği ise bu gen bölgesinin her bir bakteri de farklı olmasıdır. Dolayısıyla taksonomik açıdan bakteriler sınıflandırılır.

Bu bölge parmak izi bölgesi olarakta adlandırılır. Tanımlamada bu gen bölgesinin kullanımının bir diğer avantajı da genin 1500 bp uzunluğunda olması ve dolayısıyla bu işlemin kolaylıkla ucuz bir şekilde uygulanmasını sağlar (Yoon vd., 2018)



Şekil 3.1 Primer gen bölgesi

Bu gen bölgesi yukarıda şekil 3.1’de görüldüğü gibi 9 farklı bölgeden oluşmaktadır. Bu bölgeler türler arasında değişken bölgeleri ve her türde aynı olan bölgeleri de barındırmaktadır. Bu kapsamda primerlerin gelişmesi her türde aynı olan bölgeler kullanılmaktadır.

16S geninin tespiti amacıyla PCR işlemi için; koloniler steril kürdan ile alınıp 10 µl steril H₂O da çözülmüş ve bu süspanسیونun 1 µl’si Gotaq (Promega) ile yürütülmüş olan koloni PCR da DNA şablonu olarak kullanılmıştır.

Bu amaca uygun PCR karışımı çizelge 3.4’de ve PCR şartları çizelge 3.5’de verilmiştir.

Çizelge 3.4 16S rRNA geninin amplifikasyonu için oluşturulan PCR karışımı

H ₂ O	50 µl için
DNA	1 µl
5X Phusion Buffer	10 µl
MgCl ₂	4 µl
dNTP miks	0,4 µl
Primer 1(AMP-F)	1,0 µl
Primer 2(AMP-R)	1,0 µl
Taq polimeraz	0,25 µl

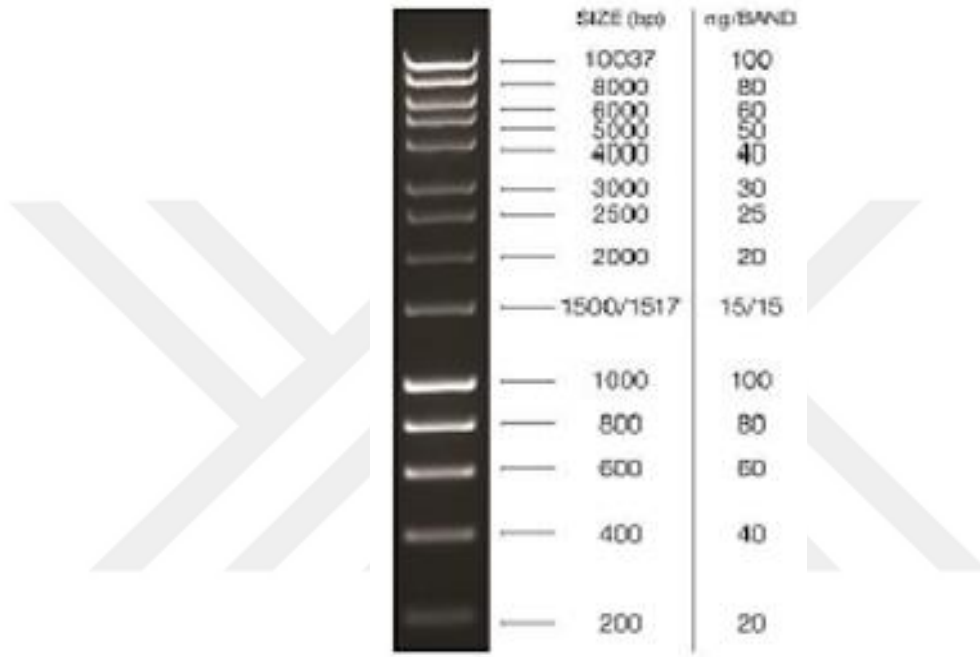
Çizelge 3.5 16S rRNA geninin amplifikasyonu için oluşturulan PCR şartları

Denatürasyon	95°C 2 dk	1 döngü
Denatürasyon	95°C 30 s	
Bağlama	55°C 20 s	25 döngü
Uzama	72°C 30 s	
Son uzama	72°C 5 dk	
Bekleme	20°C	

3.2.3.3. PCR Ürünlerinin Agaroz Jel Elektrofrezinde Kontrolü

Konsantrasyonu %1 olan agaroz jeli 0.5X Tris borat EDTA(TBE) tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. PCR ürününden 10 µl alınarak bir yükleme boyası ile boyamak gerektiğinde jele yüklemeyen önce örnekleri loading buffer (0,015% bromethyl blue (Sigma), 10% glycerol (Sigma) in 0,5 x TBE buffer) ile renklendirip jeldeki kuyucuklara yüklenmiş ve TBE bufferi kullanılarak jelde elektroforez işlemi uygulanmıştır. Elektroforez işleminin ardından jeller 1 mg.L-1 'lik etidyum bromid çözeltisi içerisinde 30 dakika bekletilerek jelle yüklü olan DNA parçacıklarını boyanması için beklenmelidir. Bu işlemin ardından jeller deiyonize su içerisinde kısa süre durulandıktan sonra UV Transilluminatör (Cleaver) kullanılarak UV ışık altında görüntülenecektir. Elektroforetik jelde DNA boyutlayıcısı olarak Hyperladder I (Bioline, UK) kullanılmıştır. PCR ürününden 10 µl alınarak bir yükleme boyası ile boyamak gerektiğinde jele yüklemeyen önce örnekleri loading buffer (0,015% bromethyl blue (Sigma), 10% glycerol (Sigma) in 0,5 x TBE buffer) ile renklendirip jeldeki kuyucuklara yüklenmiş ve TBE bufferi

kullanılarak jelde elektroforez işlemi uygulanmıştır. Elektroforez işleminin ardından jeller 1 mg.L-1 'lik etidyum bromid çözeltisi içerisinde 30 dakika bekletilerek jelle yüklü olan DNA parçacıklarını boyanması için beklenecektir. Bu işlemin ardından jeller deiyonize su içerisinde kısa süre durulandıktan sonra UV Transilluminatör (Cleaver) kullanılarak UV ışık altında görüntülenecektir. Elektroforetik jelde DNA boyutlayıcısı olarak Hyperladder I (Bioline, UK) kullanılmıştır (İspirli,2016).



Şekil 3.2 Jele yüklenen 5 µl ladder'ın fragmentlerinin boyutları ve miktarları

3.2.3.4. BLAST Analizi

PCR işlemini takiben örnekler sekans işleminin gerçekleştirileceği firmaya yollanmış ve elde edilen sekanslama sonucuna göre 400-500 bp nükleotit BLAST sistemine yüklenmiştir. Böylece bu zamana kadar tamamlanmış mevcut 16S sekansları ile karşılaştırılacak ve %97-99 arasında benzerlik gösteren LAB izolatlarının o türe ait olduğu belirlenmiştir.

3.2.4. Ağır metallerin laktik asit bakterileri tarafından biyosorpsiyonu

3.2.4.1 Bakteriyel suşlar ve kültür koşulları

Mikroorganizmalar üreme ortamına aktarılmadan önce, ortam koşullarına adapte olabilmesi açısından ön geliştirme aşamasına tabi tutulmuştur. Ön aktifleştirmede suş bazında farklılık olduğundan dolayı M17 broht ve MRS broth hazırlanmıştır. Hazırlanan ön aktifleştirme ortamı tüplere aktarılmış ve otoklavda 121 °C'de 30 dk sterilize edilmiştir. Daha sonra %1 olacak şekilde kültür inokülasyonu yapılarak 37 °C'de 24-48 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.4.2 LAB türlerinin Cd²⁺, Ni²⁺, Co²⁺, Zn²⁺ ve Pb²⁺ iyonlarına karşı biyosorpsiyonu

Ön gelişmeye yapılan suşlarda brohtan gelen safsızlıkları gidermek için 5000 rpm'de 10 dk santrifüj işlemi uygulanmıştır. Çöken bakteri hücresi %0.85 FTS ile yeniden süspansiyon edilmiş ve tekrar santrifüj işlemine tabi tutulmuştur. Bu işlem iki defa tekrarlandıktan sonra FTS ile OD600 0.25'e ayarlanmıştır. İçerisinde 10⁷ kob/mL bakteri bulunan 4.0 mL hacimli süspansiyon içerisine her bir metal iyonunun 1000 mg/L'lik stok çözeltisinden son konsantrasyon 50 mg/L olacak şekilde ilave edilmiş (yaklaşık 200 µL) ve 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Biyosorpsiyon deneyi sırasında farklı zamanlarda (5, 30, 60 ve 240 dk) bakteri ve ağır metal içeren çözeltiler farklı ependorf tüplerine alınarak 8000 rpm'de 20 dk santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra ependorfları sarsmadan 0.45µm'lik filtreden geçirerek filtreleme işlemi yapılmıştır. Aksi takdirde hücre zarar görüp süpernatanta geçmektedir. Filtrelenen örnekler MP-AES cihazı kullanılarak analiz edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Turşu Örneklerinden Laktik Asit Bakterilerinin İzolasyonu

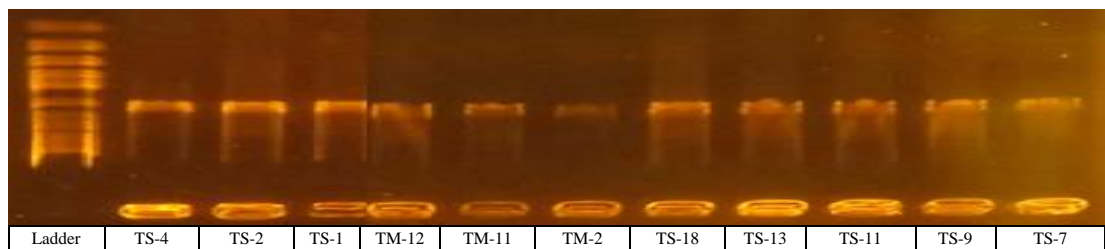
Toplanan turşu örneğinden MRS ve M17 besiyerlerinde ekim yapılarak toplamda farklı olabileceği düşünülen 36 koloni izole edilmiştir.

Çizelge 4.1 Turşudan elde edilen izolat sayıları

Örnek No	İzolat sayısı	
	Mrs Agar	M17 Agar
1	2	3
2	2	1
3	1	1
4	2	2
5	2	2
6	2	2
7	2	3
8	1	2
9	1	1
10	2	2

4.2. LAB türlerinin 16S rRNA genlerinin tanımlanması

Saflaştırıldıktan sonra reaksiyonu kurulmuş ve sekanslama işlemi için ülkemizdeki firmalara gönderilmiştir. Bazı örneklerde ise herhangi bir saflaştırma işlemi olmaksızın ampilifiye edilen ürün sekans için gönderilmiştir (Ülkemizdeki ve artık Dünyadaki çoğu firma sekans reaksiyonunu kendisi kurmaktadır). Şekil 4.1'de 16S geninin PCR ampilifikasyonunun ardından jelde yürütülmesi sonucu elde edilen agaroz jel görüntüsünü göstermektedir. Sekans işleminin ardından sonuçlar BLAST veritabanlarında mevcut türler ile karşılaştırılarak ilgili izolatların hangi türe ait olduğu bulunmuştur.



Şekil 4.1 16S geninin ampilifikasyonunu gösteren Agaroz jel (%1) görüntüsü

4.3. Turşudan İzole Edilen LAB

Genotipik karakterizasyon ve takiben tanımlama işlemleri ardından 3 farklı LAB türünün bulunduğu saptanmıştır. Tanımlanan turşu örneklerinden izole edilen bu türler; *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis*, ve *Leuconostoc mesenteroides* olarak ortaya çıkmıştır.

Çizelge 4.2’de tanımlanan türleri, bu türlerin hangi örneklerde bulunduğunu ve bu türlerin fermentasyon kabiliyetlerini göstermektedir. Genotipik ayrıma bağlı olarak seçilen ve sekanslama işlemi gerçekleştirilen izolatların 3 farklı türe ve 11 farklı suşa ait olduğu gözlenmiştir.

Çizelge 4.2 Turşu izolatlarının örneklerdeki dağılımı

İzole edilen LAB türleri	İzole edildiği örnek kodları	Suş sayısı	% oran
Homofermantatif LAB türleri			
<i>Lactobacillus plantarum</i>	1-2-4-5-6-7-10	9	81.81
<i>Lactococcus lactis</i>	7	1	9.09
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	1	1	9.09

4.4. LAB’ların Ağır Metal Tutma Kapasitelerinin Karşılaştırılması

Çizelge 6–10 ve Şekil 3–7 LAB’ların zamana bağlı olarak bazı ağır metalleri biyosorplama kabiliyetleri verilmiştir. Çizelge ve grafiklere bakıldığında ve özellikle de grafiklerden hemen hemen tüm LAB türlerinin ilgili ağır metal iyonlarına (Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} ve Zn^{2+}) karşı oldukça yüksek biyosorplama ilgilerinin olduğu görülmektedir.

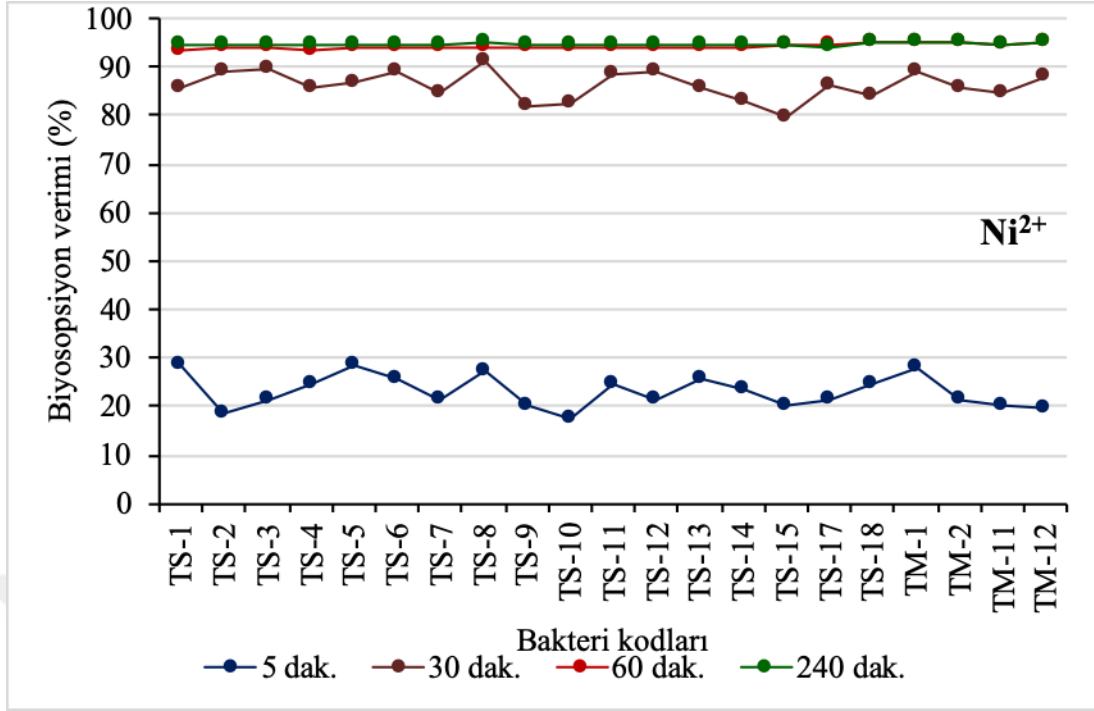
Çözeltideki metal iyonları; karboksilat, amin, amid, imidazol, fosfat, tiyoeter, hidroksil ve hücre duvarı biyopolimerlerinde bulunan diğer fonksiyonel gruplar gibi kimyasal fonksiyonel gruplarla etkileşimler yoluyla bakteriyel yüzeylere adsorbe edilir. Metal iyonları ile mikroorganizmalar arasındaki biyosorpsiyon olayı; elektrostatik çekim, kompleksleşme, iyon değişimi, kovalent bağlanma, van der Waal kuvvetleri, adsorpsiyon ve mikroçökeltme gibi birkaç mekanizmanın bir kombinasyonu sonucu meydana gelir. Biyosorpsiyon derecesi, yalnızca metal iyonlarının tipine değil, aynı zamanda hücresel bileşenlerdeki farklılıklar nedeniyle bakteri cinsine de bağlıdır. Çok kısa temas süreleri bile, genellikle metal-bakteri

biyokütlesi arasındaki kararlı etkileşim için yeterlidir. Bunun nedeni; biyokütlenin, kütle transfer dirençlerinin genellikle göz ardı edilebilir olduğu ince toz veya ıslak hücreler şeklinde kullanılmasıdır. Bakteriyel biyokütle ile gözlemlenen hızlı kinetik, atık su arıtma sistemlerinin tasarımı için onu avantajlı kılmaktadır (Ansari vd., 2011).

İlk 5 dakika içerisinde tüm LAB türlerinin tüm metal iyonlarını biyosorplama verimlerinin düşük olduğu görülmektedir. Çünkü bu kadar kısa süre içerisinde bakterilerin henüz tam olarak metal iyonlarını hücre zarlarından seçimli olarak hücre içerisine alamadığı veya hücre zarından geçtikten sonra ilgili adsorpsiyon/absorpsiyon bölgelerine ulaştıramadığı görülmektedir. Ancak 30 dakikadan itibaren biyosorpsiyonun tüm metaller için yüksek değerlere çıktığı ve 60 dakikadan sonra da maksimuma ulaştığı görülmektedir. 240 dakika (4 saat) sonunda tüm LAB'lar Pb^{2+} hariç diğer metal iyonlarına yüksek ilgi göstermektedir. Pb^{2+} için ise bazı LAB türleri nispeten yüksek ilgi gösterirken birçoğu ise düşük ilgi göstermiştir. (Çizelge 4.5, Şekil 4.4).

Çizelge 4.3 LAB'ların zamana bağlı olarak Ni^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Ni^{2+} kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10^7 kob/mL)

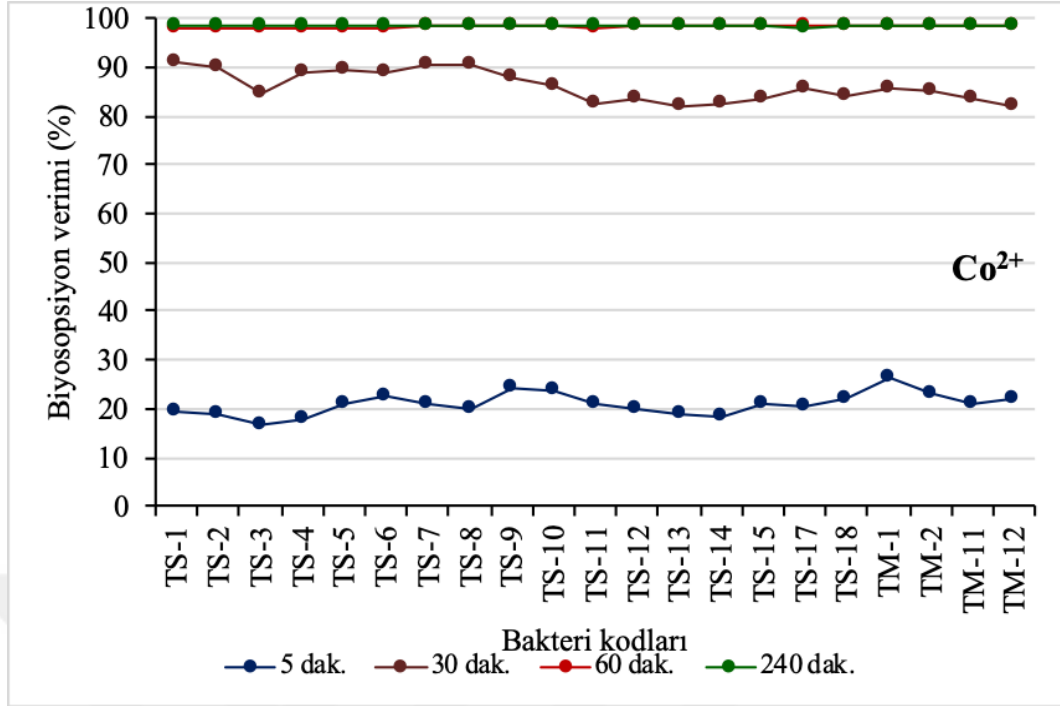
KOD	BİYOSORPSİYON SÜRESİ (DAK)			
	5	30	60	240
TS-1	28,45	85,66	93,70	94,59
TS-2	18,66	88,92	93,79	94,55
TS-3	21,16	89,61	93,90	94,51
TS-4	24,56	85,65	93,69	94,46
TS-5	28,45	86,94	94,17	94,76
TS-6	25,56	88,88	93,82	94,60
TS-7	21,15	84,65	94,12	94,74
TS-8	27,42	91,26	94,21	94,87
TS-9	19,95	81,66	93,93	94,61
TS-10	17,66	82,45	93,81	94,36
TS-11	24,56	88,56	93,92	94,45
TS-12	21,11	88,84	94,20	94,63
TS-13	25,55	85,69	94,05	94,62
TS-14	23,45	83,26	94,21	94,50
TS-15	19,98	79,65	94,69	94,56
TS-17	21,23	86,56	94,32	94,27
TS-18	24,56	84,32	94,91	95,00
TM-1	27,89	88,86	95,00	95,10
TM-2	21,26	85,69	95,13	95,26
TM-11	19,98	84,56	94,67	94,78
TM-12	19,89	87,69	94,89	95,05



Şekil 4.2 LAB'ların zamana bağlı olarak Ni²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%)

Çizelge 4.4 LAB'ların zamana bağlı olarak Co²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Co²⁺ kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10⁷ kob/mL)

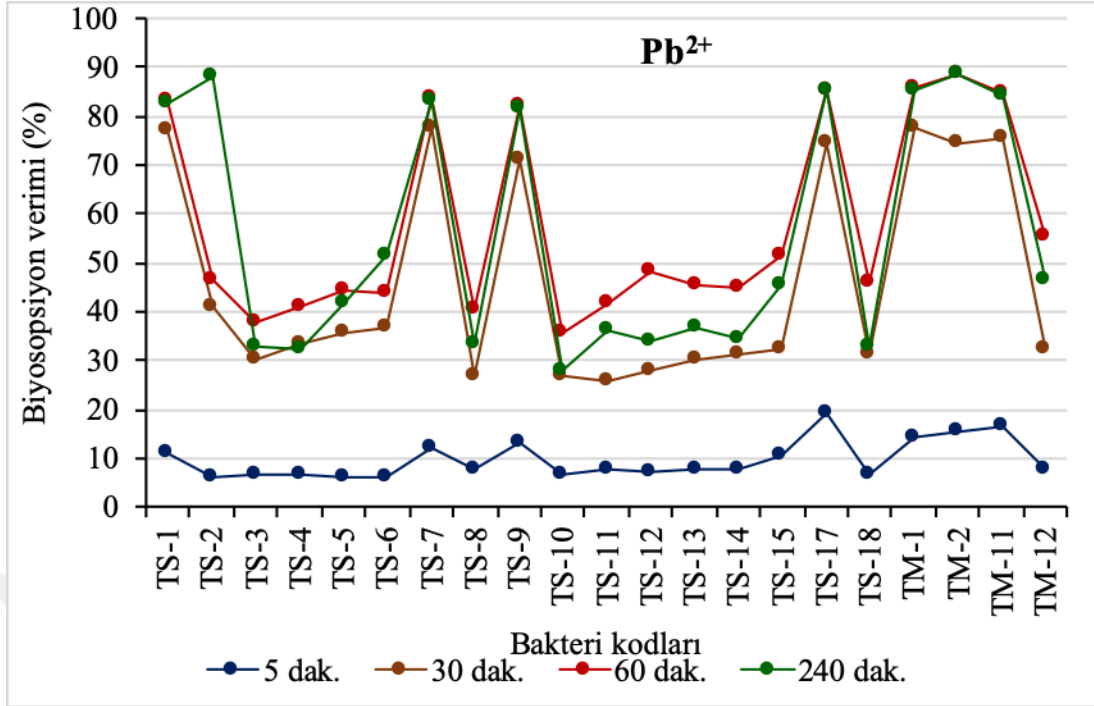
KOD	BİYOSORPSİYON SÜRESİ (DAK)			
	5	30	60	240
TS-1	19,36	91,23	97,92	98,23
TS-2	18,69	89,69	98,01	98,29
TS-3	16,65	84,56	97,96	98,27
TS-4	17,78	88,88	97,99	98,25
TS-5	21,22	89,65	98,04	98,22
TS-6	22,46	88,65	98,08	98,26
TS-7	21,16	90,21	98,23	98,39
TS-8	19,69	90,69	98,41	98,57
TS-9	24,45	87,69	98,26	98,35
TS-10	23,65	86,21	98,41	98,56
TS-11	21,28	82,26	98,13	98,23
TS-12	19,98	83,33	98,23	98,24
TS-13	18,69	81,65	98,27	98,32
TS-14	18,54	82,36	98,22	98,26
TS-15	21,12	83,36	98,28	98,28
TS-17	20,23	85,69	98,27	98,19
TS-18	22,26	84,21	98,42	98,22
TM-1	26,56	85,69	98,39	98,34
TM-2	23,36	85,32	98,22	98,37
TM-11	21,16	83,33	98,41	98,51
TM-12	22,26	81,66	98,42	98,23



Şekil 4.3 LAB'ların zamana bağlı olarak Co^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%)

Çizelge 4.5 LAB'ların zamana bağlı olarak Pb^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Pb^{2+} kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10^7 kob/mL)

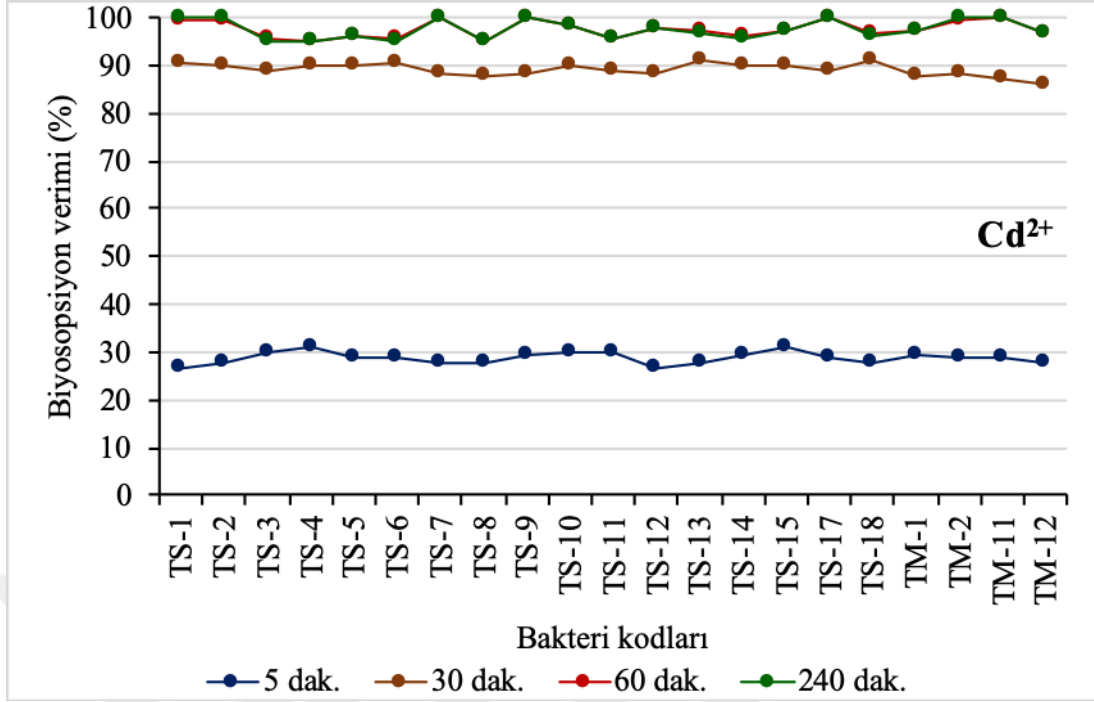
KOD	BİYOSORPSİYON SÜRESİ (DAK)			
	5	30	60	240
TS-1	11,21	77,23	83,03	82,77
TS-2	6,25	41,23	46,28	88,33
TS-3	6,67	30,21	38,05	33,03
TS-4	6,51	33,36	41,14	32,25
TS-5	6,23	35,36	44,58	41,53
TS-6	6,05	36,65	44,03	51,52
TS-7	12,26	77,89	83,82	83,08
TS-8	7,51	26,65	40,57	33,16
TS-9	13,36	71,26	82,18	81,41
TS-10	6,91	26,69	35,67	28,02
TS-11	7,80	25,69	41,69	35,92
TS-12	6,94	27,78	48,07	34,18
TS-13	7,54	29,95	45,25	36,49
TS-14	7,78	31,26	44,94	34,48
TS-15	10,23	32,36	51,61	45,50
TS-17	18,98	74,56	85,43	85,12
TS-18	6,40	31,26	45,86	32,64
TM-1	14,41	77,89	85,85	85,21
TM-2	15,63	74,47	88,53	88,43
TM-11	16,23	75,69	85,01	84,49
TM-12	7,99	32,36	55,24	46,54



Şekil 4.4 LAB'ların zamana bağlı olarak Pb²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%)

Çizelge 4.6 LAB'ların zamana bağlı olarak Cd²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Cd²⁺ kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10⁷ kob/mL)

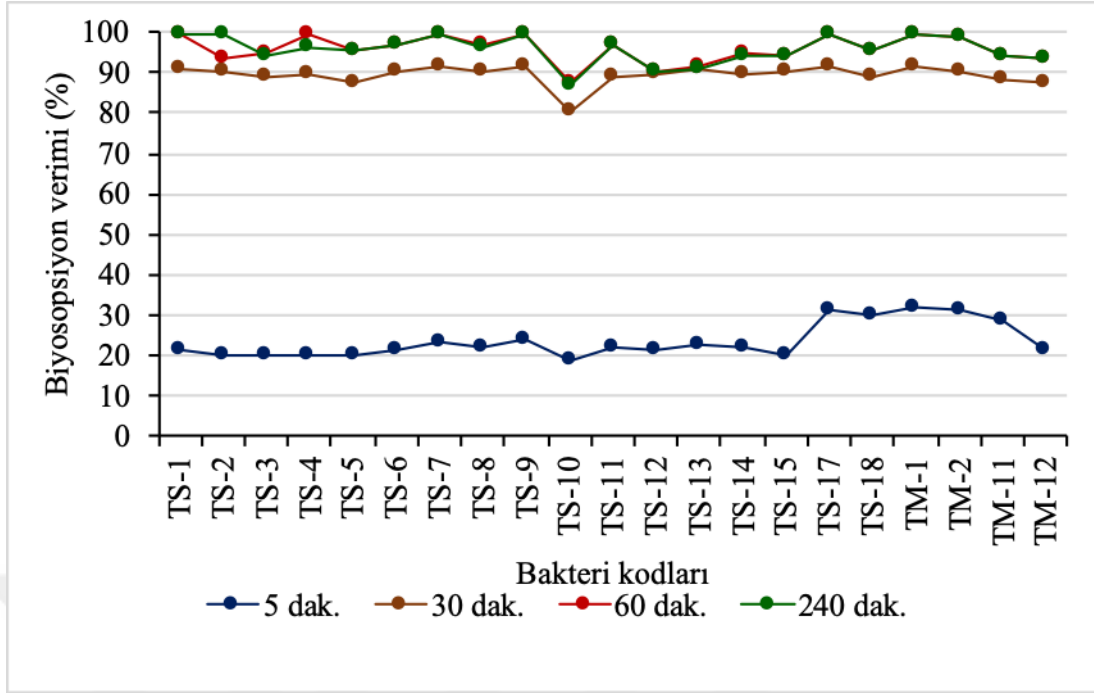
KOD	BİYOSORPSİYON SÜRESİ (DAK)			
	5	30	60	240
TS-1	26,69	90,69	99,80	99,81
TS-2	27,78	89,96	99,79	99,81
TS-3	30,21	88,69	95,40	95,18
TS-4	31,26	89,92	95,23	95,00
TS-5	28,89	90,21	96,40	96,29
TS-6	28,65	90,68	95,40	95,20
TS-7	27,65	88,56	99,81	99,81
TS-8	27,77	87,99	95,29	95,01
TS-9	29,65	88,36	99,82	99,82
TS-10	30,21	90,04	98,30	98,15
TS-11	29,91	89,03	95,83	95,39
TS-12	26,69	88,26	97,93	97,71
TS-13	27,56	91,04	97,12	96,85
TS-14	29,63	90,05	96,32	95,87
TS-15	31,12	89,96	97,40	97,29
TS-17	28,69	89,02	99,81	99,81
TS-18	27,79	91,11	96,47	96,21
TM-1	29,65	87,56	97,17	97,46
TM-2	29,11	88,23	99,80	99,80
TM-11	28,88	87,36	99,81	99,81
TM-12	27,96	86,21	96,87	96,71



Şekil 4.5 LAB'ların zamana bağlı olarak Cd²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%)

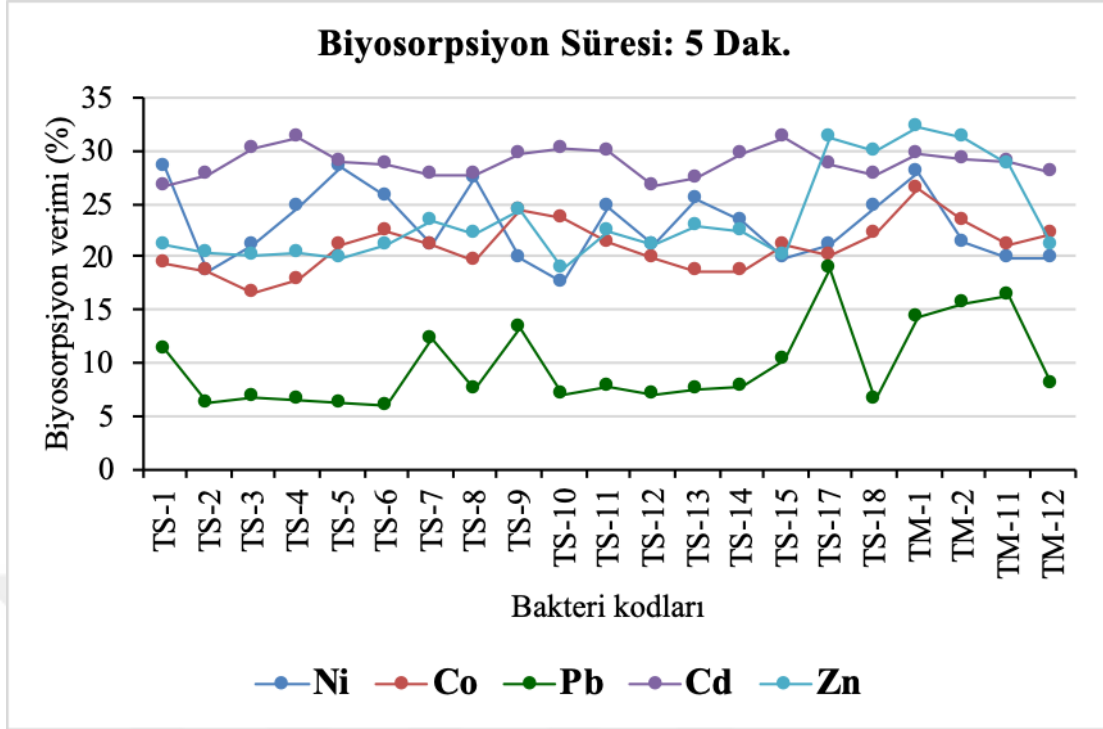
Çizelge 4.7 LAB'ların zamana bağlı olarak Zn²⁺ iyonlarını biyosorplama oranları (%) (Zn²⁺ kons: 50,0 mg/L, LAB süspansiyonu: 10⁷ kob/mL)

KOD	BİYOSORPSİYON SÜRESİ (DAK)			
	5	30	60	240
TS-1	21,21	91,11	99,26	99,26
TS-2	20,36	90,21	93,78	99,22
TS-3	20,06	88,88	94,49	94,32
TS-4	20,36	89,62	99,17	96,33
TS-5	19,96	87,26	95,49	95,64
TS-6	21,12	90,08	96,96	96,98
TS-7	23,36	91,23	99,25	99,24
TS-8	22,21	90,36	96,49	96,30
TS-9	24,36	91,21	99,19	99,18
TS-10	18,86	80,26	87,80	87,17
TS-11	22,36	88,56	96,80	96,58
TS-12	21,11	89,69	90,48	89,91
TS-13	22,89	90,69	91,24	90,75
TS-14	22,31	89,21	94,74	94,45
TS-15	20,06	90,26	94,29	93,89
TS-17	31,15	91,28	99,19	99,18
TS-18	30,09	88,84	95,50	95,19
TM-1	32,16	91,26	99,20	99,19
TM-2	31,29	90,05	98,45	98,51
TM-11	28,65	88,19	94,26	94,33
TM-12	21,11	87,39	93,32	93,26

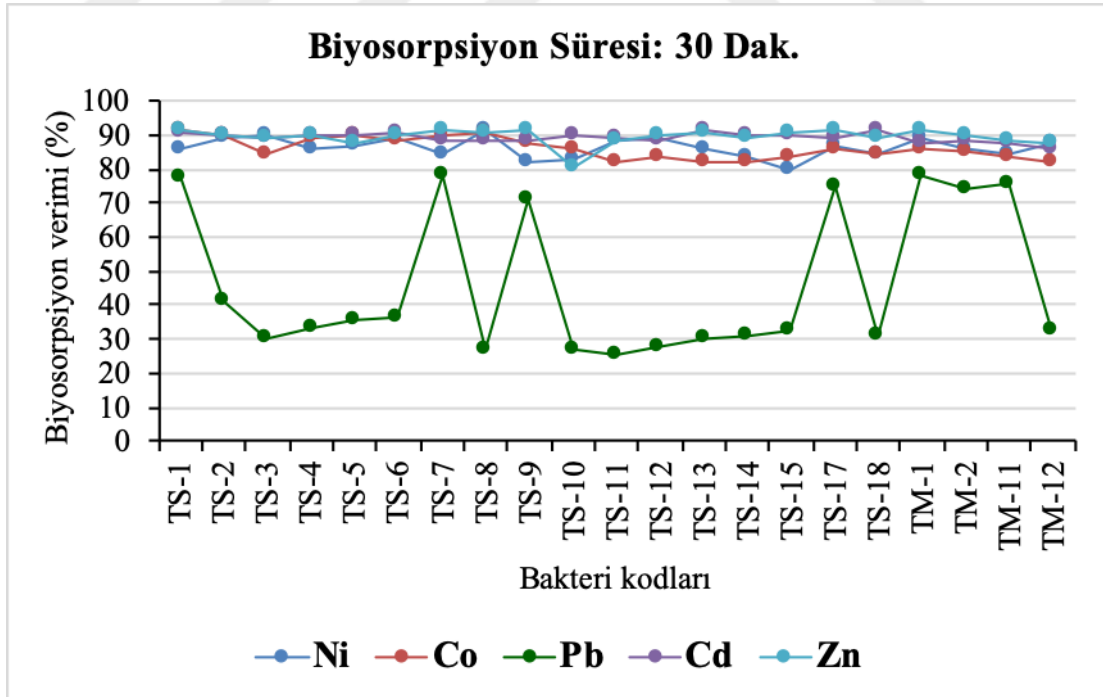


Şekil 4.6 LAB'ların zamana bağlı olarak Zn^{2+} iyonlarını biyosorplama oranları (%)

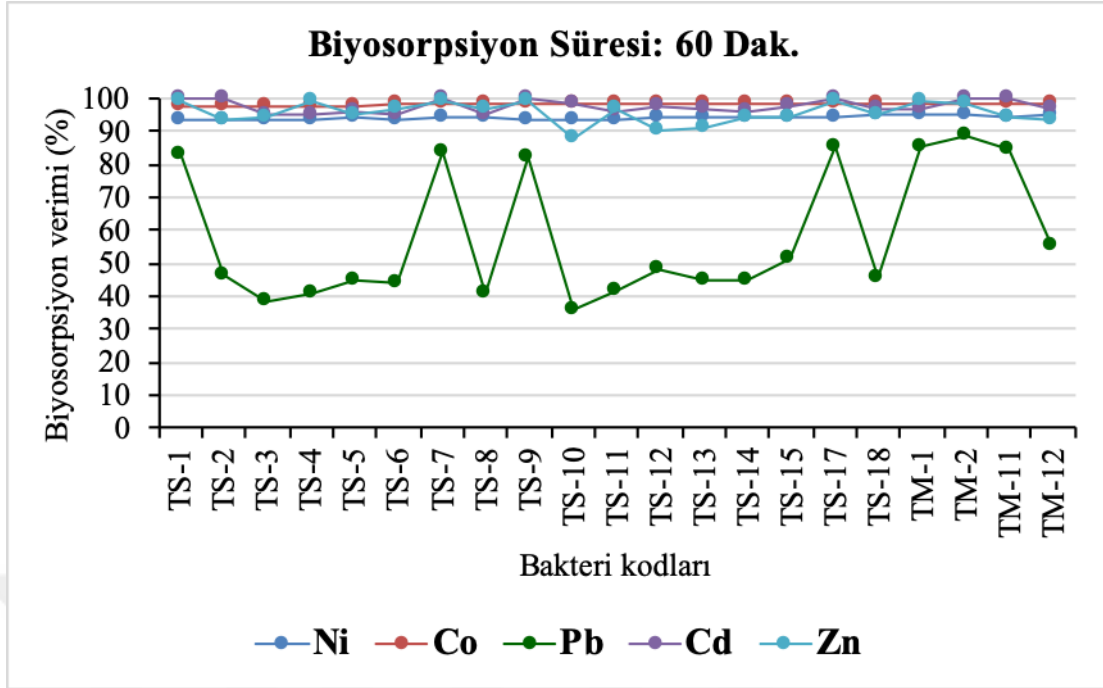
Başka bir karşılaştırma şekli de Şekil 8-10 arasında verilmektedir. Bu grafiklerde her bir muamele süresi ayrı ayrı grafiklerde gösterilmiştir. 5 dakika biyosorpsiyon sonunda LAB'ların Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} ve Zn^{2+} biyosorpsiyon verimleri genelde %15-30 arasında değişirken Pb^{2+} verimleri ise düşük değerlerde seyretmiştir (Şekil 8). Aynı şekilde 30, 60 ve 240 dakika biyosorpsiyon zamanlarında da benzer sonuçlara ulaşılmıştır. Bu süreler içerisinde LAB'ların Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} ve Zn^{2+} biyosorpsiyon verimleri %90 ve üzeri değerlere ulaşırken Pb^{2+} verimleri ise oldukça değişkenlik göstermiş fakat hiçbir değer %90'ı dahi bulmamıştır (Şekil 9-10). Dolayısıyla LAB'ların Pb^{2+} iyonlarına karşı genelde çok fazla ilgi göstermediği söylenebilir. 240 dakika biyosorpsiyon süresi biyosorpsiyon işleminin sona erdiği süre olarak kabul edilirse, tüm LAB suşları Ni^{2+} , Co^{2+} , Cd^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarına karşı yüksek biyosorpsiyon ilgisi göstermektedir. Pb^{2+} iyonları açısından ise %90'ları bulmasa da TS-1, TS-2, TS-7, TS-9, TS-17, TM-1, TM-2 ve TM-12 kodlu LAB suşları %80'in üzerinde biyosorpsiyon ilgisi göstermektedir.



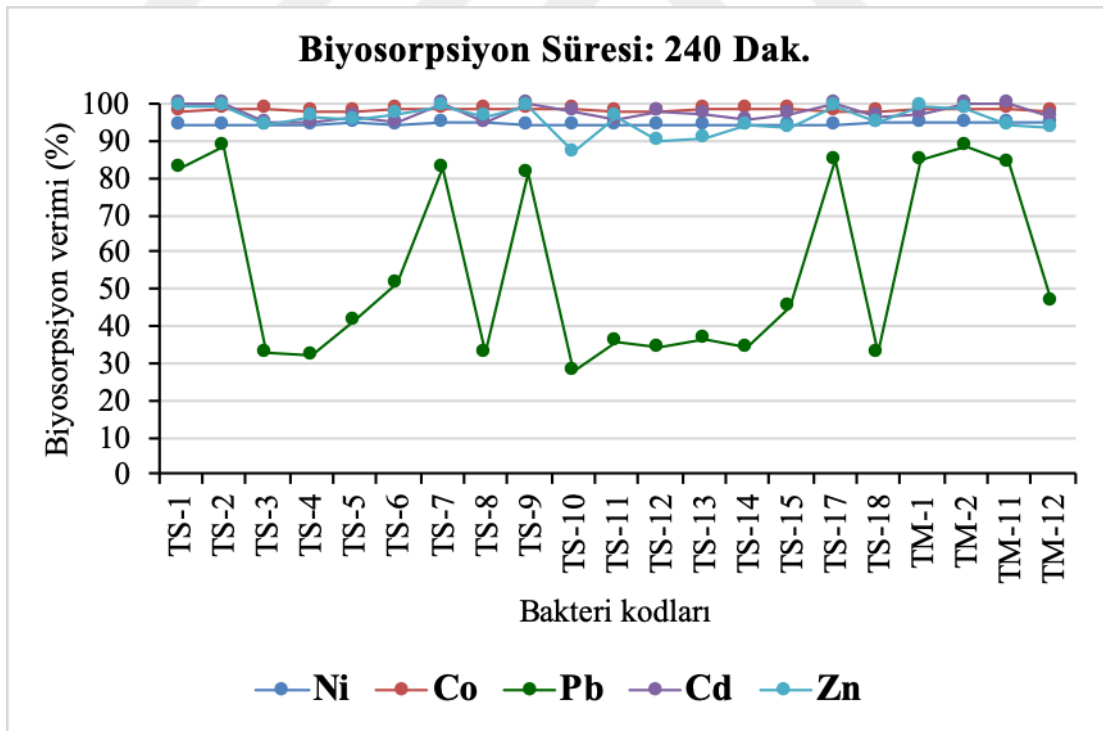
Şekil 4.7 LAB'ların ağır metal iyonları ile 5 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri



Şekil 4.8 LAB'ların ağır metal iyonları ile 30 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri



Şekil 4.9 LAB'ların ağır metal iyonları ile 60 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri



Şekil 4.10 LAB'ların ağır metal iyonları ile 240 dakika muamelesi neticesinde oluşan biyosorpsiyon verimleri

Literatüre bakıldığında, LAB ve diğer mikroorganizmalarla yapılan ağır metal biyosorpsiyon çalışmalarına oldukça rastlanmaktadır. Bu çalışmalarda birçok ağır metalin gerek ölü ve gerekse de canlı mikroorganizmalar tarafından biyosorplanma davranışları ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Elsanhoty ve ark. (2016)'nın yaptıkları bir çalışmada; bazı LAB suşları olan *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus plantarium* ve *Streptococcus thermophiles* ile probiyotik bir bakteri olan *Bifidobacterium angulatum* suşlarının bazı ağır metallerin ve aflatoksin B1'i (AFB1) kirlenmiş sulardan uzaklaştırma potansiyellerini incelediler. Çalışmada biyosorpsiyon parametreleri olarak pH, bakteriyal konsantrasyon, temas süresi ve sıcaklık etkileri incelendiğinde, pH'nın biyosorpsiyon üzerine kuvvetli etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Cd, Pb ve As'nin uzaklaştırılmasında en etkili suşların *Lactobacillus acidophilus* ve *Bifidobacterium angulatum*'un olduğu belirlenmiştir. Yapılan bu çalışmada kurutulmuş bakteri biyokütlelerinden 2 g/L ve her bir metal çözeltisinde 10 mg/L kullanılmasına rağmen maksimum metal uzaklaştırılması tüm metaller için %80'in altında kalmıştır. Oysa bu tez çalışmasında ise 10^7 kob/mL süspansiyonda hazırlanan bakterilerle her bir metalin 50 mg/L derişimlerindeki çözeltileri muamele edilmiş ve %95'in üzerinde uzaklaştırma verimi elde edilmiştir.

Dhanwal ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada; elektrokaplama endüstrisi atıklarıyla kirletilmiş topraklardan izole ettikleri bakterilerin bazı ağır metalleri biyosorplama potansiyellerini incelediler. İzole ettikleri bakteri suşları ile (*Bacillus cereus*) 100 mg/L'lik metal çözeltilerini belli sürelerde karıştırarak gerçekleştirdikleri biyosorpsiyon işleminden sonra bakır için %87,16, nikel için %79,62, kurşun için %84,92 ve krom için de %68,12 uzaklaştırma performansına ulaştılar. Bu tez çalışmasında ise, 50 mg/L'lik metal çözeltileri ile bakteriler muamele edilmiş ve Pn hariç diğer metaller için %100'e yakın biyosorpsiyon verimi elde edilmiştir.

Chatterjee ve ark. (2010) yaptıkları çalışmalarında; Hindistan'ın Damodar Nehri'nden izole ettikleri termofilik bir bakteri (*Geobacillus thermodenitrificans*) ile bazı ağır metallerinin uzaklaştırılabilirliğini araştırmışlardır. Metallerin biyosorpsiyon performanslarının da $Fe^{+3} > Cr^{+3} > Co^{+2} > Cu^{+2} > Zn^{+2} > Cd^{+2} > Ag^{+} > Pb^{+2}$

düzenine göre değiştiğini ve sırasıyla ilgili metallerin, %91,31; %80,80; %79,71; %57,14; %55,14; %49,02; %43,25 ve %36,86 biyosorpsiyon performansı ile uzaklaştırılabildiğini bildirmişlerdir.

Literatürdeki diğer çalışmalara bakıldığında, bu çalışmadan elde edilen sonuçların literatürdeki birçok çalışmadan elde edilen sonuçlardan daha iyi olduğu görülmektedir. Literatürle bir karşılaştırma Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Bu çalışmadan elde edilen sonuçların literatürle karşılaştırılması

	Bakteri suşu	Bakteri kütlesi (g/L)	Başl. metal kons. (mg/L)	Biyosorpsiyon verimi (%)					Referans
				Ni	Co	Pb	Cd	Zn	
1	<i>L. Acidophilus</i>	2,0	10,0			72,6	65,5		Elsanhoty et al., 2016
2	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	0,2	100 - 150			100,0			Jencarova ve Luptakova, 2012
3	<i>Enterobacter cloacae</i>	0,1	200, 300			67,9	58,9		Rani et al., 2010
4	<i>B. Thuringiensis</i>	1,0	50,0	92,9		87,2	86,7		Oves et al., 2013
5	<i>Enterobacter Cloacae</i>	1,0	100,0			67,98	58,93		Suriya et al., 2013
6	<i>Geobacillus thermantarcticus</i>	2,5	50,0		43,6		85,4		Ozdemir et al., 2013
7	<i>Bacillus cereus</i>	-	100,0	79,62		84,92			Dhanwal et al., 2018
8	<i>Geobacillus thermodenitrificans</i>	2,0	175,0		79,71	36,86	49,02	55,14	Chatterjee et al., 2010
9	<i>Weissella viridescens</i>	10 ⁷ kob/mL	1,0				9,6	9,0	Kinoshita et al., 2016
10	<i>L. Plantarum</i>	10 ⁸ kob/mL	10,0 ve 50,0			65,4	90,9		Pakdel et al., 2019
11	<i>Lactobacillus plantarum</i>	10 ⁷ kob/mL	50,0	94,76	98,57	88,33	99,82	99,26	Bu çalışma

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Ağır metaller insan hayatını riske sokabilecek şekilde akut ve/veya kronik sorunlara sebep olabilmektedirler ve insan vücudunda birikmemeleri adına bunların vücuttan atılmaları ile ilgili stratejilerin geliştirilmesi mutlak gereklidir. Ağır metallerin farklı kaynaklardan elde edilen mikroorganizmalar tarafından tutulduğu bilinmektedir. Bu çalışmada ise herhangi bir işlem görmeden insanların tükettikleri geleneksel turşu örneklerinden izole edilen LAB türlerinin bir ön çalışma mahiyetinde olmak üzere *in vitro* koşullarda önemli 5 ağır metali tutma potansiyelleri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında, izole edilen laktik asit bakterilerinin test edilen ağır metallerin birçoğunu yüksek oranda bağlayabildiği görülmüştür. Çalışılan LAB izolatlarından *Lactobacillus plantarum* TS-2 suşunun Pb ağır metaline karşı 4. Saat sonunda absorpsiyon kapasitesindeki yükselişi dikkat çekmiştir. Daha önce yapılan çalışmada da bahsedildiği üzere turşudan izole edilen *Lactococcus lactis* TM-12 Cd ağır metal dekontaminasyonu için büyük potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir (Sheng vd., 2016).

Sonuçlara bakıldığında çalışılan bütün Laktik asit bakterilerinin ağır metal biyosorpsiyonunun genelde yüksek olduğu kanısına varılmıştır. Elde edilen bu sonuçlar izole edilen LAB türlerinin ilerleyen dönemde *in vivo* koşullarda test edilen bu ağır metalleri bağlama kabiliyetleri çerçevesinde değerlendirilebilecek çalışmalara konu olabilecek nitelikte olmalarının gösterilmesi bakımından önem arz etmektedir. Sadece insan metabolizmasında değil aynı zamanda çok fazla ağır metal birikimine rastlanabilen balıklarda da bu bakteriler ile çalışmalar gerçekleştirip balık yüzeylerinde bu ağır metallerin uzaklaştırılması çalışmalarının yapılması öngörülebilir. Sonuç olarak bu çalışma vesilesi ile izole edilen LAB türlerinin çok yüksek kapasitelerde ağır metalleri bağlayıp fonksiyonel etki gösterebildikleri ortaya konmuştur.

KAYNAKLAR

- 4200 MP-AES, *Agilent Technology*. <https://www.sem.com.tr/analitik-cihaz-sistemleri/spektroskopi-sistemleri/mp-aes-sistemleri/4200-mp-aes/>, 16.04.2019.
- Agarwal, S., Zaman, T., Murat Tuzcu, E., ve Kapadia, S. R. (2011). *Heavy Metals and Cardiovascular Disease*, Results From The National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2006. *Angiology*, 62(5), 422-429.
- Agilent 4200 *Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer Change is in the Air*, <https://sem.com.tr/wp-content/uploads/5991-3696EN.pdf>, 16.04.2019.
- Aksoy, M., (2000). “**Beslenme Biyokimyası ve İz Elementler**”, Ankara.
- Aktan, N., Yücel, U., ve Kalkan, H. (1998). **Turşu Teknolojisi**, Ege Üniversitesi Ege Meslek Yüksek Okulu Yayınları, 23, 138 s., İzmir.
- Amirnia, S. (2015). *Biosorption Processes For Removal of Toxic Metals From Wastewaters*, Graduate the School of Graduate and Postdoctoral Studies the University of Western Ontario London, Ontario, Canada.
- Ansari, M. I., Masood, F., and Malik, A. (2011). *Bacterial biosorption: a technique for remediation of heavy metals*. In *Microbes and Microbial Technology* (pp. 283-319). Springer, New York, NY.
- Aslan, S., Yildiz, S., ve Ozturk, M. (2018). *Biosorption of Cu²⁺ and Ni²⁺ İons From Aqueous Solutions Using Waste Dried Activated Sludge Biomass*, *Polish Journal of Chemical Technology*, 20(3), 20-28.
- Aslaner, M. (1979). Nikel Yatakları ve Türkiye Nikel Olanaklarına Toplu ve Yeni Bir Bakış, *Jeoloji Mühendisliği Dergisi*, 8, 25-36.

- Attaie, R., Whalen, P. J., Shahani, K. M., ve Amer, M. A. (1987). *Inhibition of Growth of Staphylococcus Aureus During Production of Acidophilus Yogurt*, Journal of Food Protection, 50(3), 224-228.
- Balcázar, J.L., Blas, I., Ruiz-Zarzuela, I., Cunnigham, D., Vendrell, D., ve Múzquiz, J.L., (2006). *The Role of Probiotics in Aquaculture*. Veterinary Microbiology, 114: 173-186.
- Bano, A., Hussain, J., Akbar, A., Mehmood, K., Anwar, M., Hasni, M. S., ve Ali, I. (2018). *Biosorption of Heavy Metals By Obligate Halophilic Fungi*, Chemosphere, 199, 218-222.
- Baş, A.L., ve Demet, Ö. (1992). *Çevresel Toksikoloji Yönünden Bazı Ağır Metaller*, Çevre Dergisi, 5, 42-46.
- Belgemen, T. ve Akar, N., (2004). *Çinkonun Yaşamsal Fonksiyonları ve Çinko Metabolizması İle İlişkili Genler*, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 57(3):161-166.
- Bingöl, G. (1983). **Biyokimya**. Dördüncü Baskı, Hacettepe Taş Yayıncılık, Ankara.
- Bulut, Ç. (2003). *Isolation and Molecular Characterization of Lactic Acid Bacteria From Cheese*, Master's Thesis, İzmir Institute of Technology.
- Burevska, K. A., Memedi, H., Lisichkov, K., Kuvendziev, S., Marinkovski, M., Ruseska, G., ve Grozdanov, A. (2018). *Biosorption of Nickel Ions From Aqueous Solutions By Natural and Modified Peanut Husks: Equilibrium and Kinetics*, Water and Environment Journal, 32(2), 276-284.
- Ceyhan, N. ve Esmeray, E. (2012). *Petrol Kirliliği ve Biyoremediasyon*, Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 5(1), 95-101.
- Chatterjee, S. K., Bhattacharjee, I., and Chandra, G. (2010). *Biosorption of heavy metals from industrial waste water by Geobacillus thermodenitrificans*, Journal of Hazardous Materials, 175(1-3), 117-125.
- Çon, A.H. ve Gökalp, H.Y. (2000). *Laktik Asit Bakterilerinin Antimikrobiyal Metabolitleri ve Etki Sekilleri*, Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi, 30:180-190.

Dhanwal, P., Kumar, A., Dudeja, S., Badgujar, H., Chauhan, R., Kumar, A., ve Beniwal, V. (2018). *Biosorption of Heavy Metals From Aqueous Solution By Bacteria Isolated From Contaminated Soil*, Water Environment Research, 90(5), 424-430.

Doğan, M. (2002). **Sağlıklı Yaşamın Kimyası**. Popüler Bilim Dergisi, s: 32-34.

Doğru, M.G., (2007). *Ağır Metal ve Adrenomedullin Uygulamasının Bazı Sıçan Dokularında Antioksidan Savunma Sistemi Üzerine Etkilerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, Malatya.

Drosinos, E. H., Paramithiotis, S., Kolovos, G., Tsikouras, I. ve Metaxopoulos, I., (2007). *Phenotypic and Technological Diversity of Lactic Acid Bacteria and Staphylococci Isolated From Traditionally Fermented Sausages in Southern Greece*, Food Microbiology, 24, 260-270.

Duarte, B., Delgado, M., ve Caçador, I. (2007). *The Role of Citric Acid in Cadmium and Nickel Uptake and Translocation*, In Halimione portulacoides. Chemosphere, 69(5), 836-840.

Dündar, Y., ve Aslan, R. (2005). *Yasamı Kuşatan Ağır Metal Kurşunun Etkileri*, Kocatepe Tıp Dergisi, 6: 1-5.

El-Hameed, M. M. A., Abuarab, M. E., Mottaleb, S. A., El-Bahbohy, R. M., ve Bakeer, G. A. (2018). *Comparative Studies on Growth and Pb (II) Removal From Aqueous Solution By Nostoc Muscorum and Anabaena Variabilis*, Ecotoxicology and Environmental Safety, 165, 637-644.

Elsanhoty, R. M., Al-Turki, I. A., and Ramadan, M. F. (2016). *Application of lactic acid bacteria in removing heavy metals and aflatoxin B1 from contaminated water*. Water Science and Technology, 74(3), 625-638.

Enstrümental Analiz Laboratuar Notları, Erciyes Üniversitesi, Kayseri, 2001.

Ercal, N., Gurer-Orhan, H., ve Aykin-Burns, N. (2001). *Toxic Metals and Oxidative Stress Part I: Mechanisms Involved in Metal-Induced Oxidative Damage*, Current Topics in Medicinal Chemistry, 1(6), 529-539.

- Filote, C., Volf, I., Santos, S. C., ve Botelho, C. M. (2019). *Bioadsorptive Removal of Pb (II) From Aqueous Solution By the Biorefinery Waste of Fucus Spiralis*, Science of the Total Environment, 648, 1201-1209.
- Fleming, H.P., McFeeters, R.F., ve Daeschel, M.A., (1992). *Fermented and Acidified Vegetables. In: C.Vanderzant and D.F. Splittstoesser. Ed.Compendium of methods for the microbiological examination of foods (3rd Ed.)*, American PublicHealth Association, 929 952, Washington D. C.
- Forster, C. F. ve Wase, D. J., (1987). *Environmental biotechnology*, Ellis Horwood Ltd., Chicester, UK.
- Frank, J. F., ve Marth, E. H. (1977). *Inhibition of Enteropathogenic Escherichia Coli By Homofermentative Lactic Acid Bacteria in Skimmilk: II. Comparison of Lactic Acid Bacteria and Enumeration Methods*, Journal of Food Protection, 40(11), 754-759.
- Gillani, R. A., Firdaus-e-Bareen, Ali, N., ve Chaudhary, H. J. (2018). *Biosorption Analysis of Cd (II) From Industrial Wastewater Using Endophytic Bacterium Agrobacterium Tumefaciens 12b3 By Kinetic Modeling and Equilibrium Studies*, Desalination and Water Treatment, 124, 117-124.
- González, A. J., Caimán, C., Gorino, N., Fortunato, M. S., Radice, M., Gómez, C., ve Korol, S. E. (2018). *Biotransformation of Chromium (VI) in Liquid Effluents By Resistant Bacteria Isolated From the Matanza-Riachuelo Basin, in Argentina*, Environmental Technology, 39(22), 2848-2855.
- Guzel-Seydim, Z. B., Kok-Tas, T., Greene, A. K., ve Seydim, A. C. (2011). *Functional Properties of Kefir*, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51(3), 261-268.
- Güler, Ç., ve Çobanoğlu, Z. (1997). *Kimyasallar ve Çevre, Sağlık Bakanlığı Sağlık Projesi Genel Koordinatörlüğü, Çevre Sağlığı Temel Kaynak Dizisi No: 50*, Ankara.

- Gürakan, G. C., Bozoglu, T. F., ve Weiss, N. (1995). *Identification of Lactobacillus Strains From Turkish-Style Dry Fermented Sausages*, LWT-Food Science and Technology, 28(1), 139-144.
- Halttunen, T., Collado, M. C., El-Nezami, H., Meriluoto, J., ve Salminen, S. (2008). *Combining Strains of Lactic Acid Bacteria May Reduce Their Toxin and Heavy Metal Removal Efficiency From Aqueous Solution*, Letters in Applied Microbiology, 46(2), 160-165.
- Halttunen, T., Finell, M., ve Salminen, S. (2007). *Arsenic Removal By Native and Chemically Modified Lactic Acid Bacteria*, International Journal of Food Microbiology, 120(1-2), 173-178.
- Hammes, W. P., ve Vogel, R. F. (1995). *The Genus Lactobacillus*, In the Genera of Lactic Acid Bacteria (pp. 19-54). Springer, Boston, MA.
- Hansen, E.B., (2002). *Commercial Bacterial Starter Cultures For Fermented Foods of the Future*, International Journal of Food Microbiology 78: 119-131.
- Hashim, N. (2008). *Removal of Nickel From Aqueous Solution By Using Dried Water Hyacinth (Eichhornia Crassipes)*, Doctoral dissertation, UMP.
- Hew, K. W., Ericson, W. A., ve Welsh, M. J. (1993). *A Single Low Cadmium Dose Causes Failure of Spermiation in the Rat*. Toxicology and Applied Pharmacology, 121(1), 15-21.
- Holzapfel, W. H., ve Wood, B. J. B. (1995). *Lactic Acid Bacteria in Contemporary Perspective*, In the Genera of Lactic Acid Bacteria (pp. 1-6). Springer, Boston, MA.
- Jencarova, J., & Luptakova, A. (2012). *The elimination of heavy metal ions from waters by biogenic iron sulphides*. Chemical engineering transactions, 28(2), 205-210.
- Kahvecioğlu, Ö., ve Kartal, G., Güven, ve A. Timur, S., (2004). *Metallerin Çevresel Etkileri-I, Metalurji Dergisi*, 136: 47-53, http://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf 20.05.2009.

Kahvecioğlu, Ö., ve Kartal, G., Güven, A., ve Timur, S. (2010). *Metallerin Çevresel Etkileri-1*. İTÜ Metalürji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü.

Kaparapu, J., ve Prasad, M. K. (2018). *Equilibrium, Kinetics and Thermodynamic Studies of Cadmium (II) Biosorption on Nannochloropsis Oculata*, Applied Water Science, 8(6), 179.

Kaya, S., ve Akar, F. (1998). *Metaller, Diğer Inorganik ve Radyoetkin Maddeler. Veteriner Hekimliğinde Toksikoloji*, Medisan Yayınevi, 1, 119-154.

Keçeci, M. (2013). *Bazı Toprak Özelliklerinin Kadmiyum (Cd) ve Kurşun (Pb) Adsorpsiyonu ve Desorpsiyonuna Etkisi*, Doktora Tezi, Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Keloğlu, B., ve Öztürk, Ş. (2017). *Atık Sulardan İzole Edilen Pseudomonas spp.'lar İle Kurşun (II) ve Nikel (II) Ağır Metallerinin Giderimi*, Yüksek Lisans Tezi, Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Nevşehir.

Kılıç, O. (1990). **Alkollü İçkiler Teknolojisi**, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.

Kinoshita, H., Ohtake, F., Ariga, Y., & Kimura, K. (2016). *Comparison and characterization of biosorption by Weissella viridescens MYU 205 of periodic group 12 metal ions*. Animal Science Journal, 87(2), 271-276.

Kinoshita, H., Sohma, Y., Ohtake, F., Ishida, M., Kawai, Y., Kitazawa, H., ve Kimura, K. (2013). *Biosorption of Heavy Metals By Lactic Acid Bacteria and Identification of Mercury Binding Protein*, Research in Microbiology, 164(7), 701-709.

Kobalt Nedir. www.makaleler.com, 17.05. 2017.

Kocaer, F.O., ve Başkaya, H.S. (2003). *Metallerle Kirlenmiş Toprakların Temizlenmesinde Uygulanan Teknolojiler*, Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi, 8(1), 121-131.

Konuk, M., ve Liman, R., (2009). *Metal Toksisitesi*, PDF, 14.05.2009.

- Kratochvil, D., ve Volesky, B. (1998). *Advances in The Biosorption of Heavy Metals*, Trends in Biotechnology, 16(7), 291-300.
- Landrigan, P. J. (1982). *Occupational and Community Exposures to Toxic Metals: Lead, Cadmium, Mercury and Arsenic*, Western Journal of Medicine, 137(6), 531.
- Laskey, J. W., Rehnberg, G. L., Laws, S. C., ve Hein, J. F. (1984). *Reproductive Effects of Low Acute Doses of Cadmium Chloride in Adult Male Rats*. Toxicology and Applied Pharmacology, 73(2), 250-255.
- Laskey, J. W., ve Phelps, P. V. (1991). *Effect of Cadmium and Other Metal Cations On in Vitro Leydig Cell Testosterone Production*. Toxicology and Applied Pharmacology, 108(2), 296-306.
- Lauwerys, R., ve Lison, D. (1994). *Health risks associated with cobalt exposure—an overview*. Science of the Total Environment, 150(1-3), 1-6.
- Leroy, F., ve De Vuyst, L. (2004). *Lactic Acid Bacteria As Functional Starter Cultures For the Food Fermentation Industry*, Trends in Food Science & Technology, 15(2), 67-78.
- Luckow, T., ve Delahunty, C., (2004). *Consumer Acceptance of Orange Juice Containing Functional Ingredients*, Food Research International, 37: 805-814.
- Mokone, J. G., Tutu, H., Chimuka, L., ve Cukrowska, E. M. (2018). *Optimization and Characterization of Cladophora Sp. Alga Immobilized in Alginate Beads and Silica Gel For the Biosorption of Mercury From Aqueous Solutions*, Water, Air, & Soil Pollution, 229(7), 215.
- Molla, Ş. (2007). *Sulu Ortamda İkili Ağır Metal Karışımlarının Ayrılması ve Geri Kazanılması*, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

- Mrvčić, J., Prebeg, T., Barišić, L., Stanzer, D., Bačun-Družina, V., ve Stehlik-Tomas, V. (2009). *Zinc Binding by Lactic Acid Bacteria*. Food Technology, Biotechnology, 47(4).
- Muñoz, R., Rodríguez, H., Curiel, J.A., Landete, J. M., Rivas, B., Felipe, F.L., Gómez-Cordovés, C., ve Mancheño, J.M., (2009). *Food Phenolics and Lactic Acid Bacteria*, International Journal of Food Microbiology, 132: 79-90.
- Nicol, M. J., ve Zainol, Z. (2003). *The Development of A Resin-in-Pulp Process For the Recovery of Nickel and Cobalt From Laterite Leach Slurries*, International Journal of Mineral Processing, 72(1-4), 407-415.
- Orla-Jensen, S. (1919). *The Lactic Acid Bacteria*, Mem. Acad. R. Soc. Denmark Sect. Sci. Ser. 8: 181–197.
- Ouadghiri, M., Amar, M., Vancanneyt, M., ve Swings, J. (2005). *F Biodiversity of Lactic Acid Bacteria in Moroccan Soft White Cheese (Jben)*, EMS Microbiology Letters, 251(2), 267-271.
- Oves, M., Khan, M. S., & Zaidi, A. (2013). *Biosorption of heavy metals by Bacillus thuringiensis strain OSM29 originating from industrial effluent contaminated north Indian soil*, Saudi journal of biological sciences, 20(2), 121-129.
- Özcan, H.İ. (2006). **Nikel Yatakları Semineri**, Selçuk Üniversitesi Jeoloji Mühendisliği. B.l., Konya, s.13.
- Özdemir, S., Kılınç, E., Poli, A., & Nicolaus, B. (2013). *Biosorption of heavy metals (Cd²⁺, Cu²⁺, Co²⁺, and Mn²⁺) by thermophilic bacteria, Geobacillus thermantarcticus and Anoxybacillus amylolyticus: equilibrium and kinetic studies*. Bioremediation journal, 17(2), 86-96.
- Pagnanelli, F., Esposito, A., Toro, L., ve Veglio, F. (2003). *Metal Speciation and Ph Effect on Pb, Cu, Zn and Cd Biosorption Onto Sphaerotilus Natans: Langmuir-Type Empirical Model*, Water Research, 37(3), 627-633.

- Pakdel, M., Soleimanian-Zad, S., & Akbari-Alavijeh, S. (2019). *Screening of lactic acid bacteria to detect potent biosorbents of lead and cadmium*. *Food Control*, 100, 144-150.
- Panagou, E. Z., Tassou, C. C., ve Katsaboxakis, C. Z. (2003). *Induced Lactic Acid Fermentation of Untreated Green Olives of The Conservolea Cultivar By Lactobacillus Pentosus*, *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 83(7), 667-674.
- Paul, E. D., Nwoken, N. C., ve Anumonye, F. U. (2018). *Biosorption of Heavy Metals (Cd²⁺, Cr³⁺, Cu²⁺, Ni²⁺, Pb²⁺ and Zn²⁺) From Aqueous Solution on to Activated Carbon Prepared From Chicken Feather*, *ATBU Journal of Science, Technology and Education*, 6(4), 194-205.
- Poyraz, B. (2014). *Farklı Lokasyonlardan Alınan İçme Sularında Ağır Metal Analizi*, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 2(1), 16-27.
- Rani, M. J., Hemambika, B., Hemapriya, J., & Kannan, V. R. (2010). *Comparative assessment of heavy metal removal by immobilized and dead bacterial cells: A biosorption approach*, *African Journal of Environmental Science and Technology*, 4(2).
- Rich, G., Cherry, K. (1987). *Hazardous Waste Treatment Technology*, Pudvan Publ. Co., New York, 20.
- Ruiz-Barba, J. L., Cathcart, D. P., Warner, P. J., ve Jiménez-Díaz, R. (1994). *Use of Lactobacillus Plantarum LPCO10, A Bacteriocin Producer, As A Starter Culture in Spanish-Style Green Olive Fermentations*, *Applied and Environmental Microbiology*, 60(6), 2059-2064.
- Schillinger, U., ve Lücke, F. K. (1987). *Identification of Lactobacilli From Meat and Meat Products*, *Food Microbiology*, 4(3), 199-208.
- Schmitt, C. J., Whyte, J. J., Roberts, A. P., Annis, M. L., May, T. W., ve Tillitt, D. E. (2007). *Biomarkers of Metals Exposure in Fish From Lead-Zinc Mining*

Areas of Southeastern Missouri, Ecotoxicology and Environmental Safety, USA. 67(1), 31-47.

Serencam, H. (2010). *Pd(II)'nin Triazol Kompleksi Halinde Amberlit XAD-2010 Reçinesi Üzerinde Seçimli Zenginleştirilmesi ve Çevresel Örneklerde Tayini*, Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Seseña, S., ve Palop, M. L. (2007). *An Ecological Study of Lactic Acid Bacteria From Almagro Eggplant Fermentation Brines*, Journal of Applied Microbiology, 103(5), 1553-1561.

Seven, T., Can, B., Darende, B.N., ve Ocak, S. (2018). *Hava ve Toprakta Ağır Metal Kirliliği*, Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi, 1(2), 91-103.

Sezer, K. (2015). *Atıksulardaki Kadmiyum (II) ve Nikel (II) İyonlarının Tekli ve İkili Karışımlarının Kitosana, Kile ve Kitosan-Kil Kompozitine Adsorpsiyonunun Kesikli ve Sürekli Sistemlerde İncelenmesi*, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ankara.

Sharpe, W. F. (1966). *Mutual Fund Performance*, The Journal of Business, 39(1), 119-138.

Skandamis, P. N., ve Nychas, G. J. E. (2002). *Preservation of Fresh Meat With Active and Modified Atmosphere Packaging Conditions*, International Journal of Food Microbiology, 79(1-2), 35-45.

Sofu, A., Sayilgan, E., ve Guney, G. (2015). *Experimental Design For Removal of Fe (II) and Zn (II) İons By Different Lactic Acid Bacteria Biomasses*, International Journal of Environmental Research, 9(1), 93-100.

Somer, G., Guliyeva, G., Ekmekci, G., ve Sendil, O. (2003). *Simultaneous Determination of Copper, Lead, Cadmium, Zinc, and Selenium in Cow Liver By Differential Pulse Polarography*, Canadian Journal of Chemistry, 81(1), 31-36.

- Steinkraus, K.H., (1983). *Lactic Acid Fermentation in the Production of Foods From Vegetables, Cereals and Legumes*, Antonie Van Leeuwenhoek, 49: 337-348.
- Suriya, J., Bharathiraja, S., & Rajasekaran, R. (2013). *Biosorption of heavy metals by biomass of Enterobacter cloacae isolated from metal-polluted soils*, International Journal of ChemTech Research, 5(3), 1229-1238.
- Tamime, A. Y., ve Marshall, V. M. E. (1997). *Microbiology and Technology of Fermented Milks*. In *Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk (Pp. 57-152)*, Springer, Boston, MA.
- Topcu, A., ve Bulat, T. (2010). *Removal of Cadmium and Lead From Aqueous Solution By Enterococcus Faecium Strains*, Journal of Food Science, 75(1), T13-T17.
- URL-1, *Exxon Valdez Çevre Felaketi*. <http://cevrefelaketleri.weebly.com/exxon-valdez.html>, 20.04.2019.
- URL-2, *4200 MP-AES*. <https://www.sem.com.tr/analitik-cihaz-sistemleri/spektroskopi-sistemleri/mp-aes-sistemleri/4200-mp-aes/>, 15.04.2019.
- URL-3, *Agilent 4200 Microwave Plasma-Atomic Emission Spectrometer. Change is in the Air*, <https://sem.com.tr/wp-content/uploads/5991-3696EN.pdf>, 15.04.2019.
- Vural, H. (1993). *Ağır Metal İyonlarının Gıdalarda Oluşturduğu Kirlilikler*, Çevre Dergisi, 8: 3-8.
- Xia, Y., ve Liyuan, C. (2002). *Study of Gelatinous Supports For Immobilizing Inactivated Cells Of Rhizopus Oligosporus to Prepare Biosorbent For Lead Ions*, The International Journal of Environmental Studies, 5, 1-6.
- Yavuz, O., ve Sarıgül, N. (2016). *Toprak ve Sucul Ortamlardaki Ağır Metal Kirliliği ve Ağır Metal Dirençli Mikroorganizmalar*, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi 7(1), 44-51.

- Yılmaz, T. (2015). *Ağır Metallerin (kurşun, çinko, bakır ve kadmiyum) Bazı Karayosunu Türlerinin Klorofil İçeriği Üzerine Etkisi*, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde.
- Yi, Y. J., Lim, J. M., Gu, S., Lee, W. K., Oh, E., Lee, S. M., ve Oh, B. T. (2017). *Potential Use of Lactic Acid Bacteria Leuconostoc Mesenteroides As A Probiotic For the Removal of Pb (II) Toxicity*, Journal of Microbiology, 55(4), 296-303.
- Yılmaz, M., Tay, T., Kivanc, M., ve Turk, H. (2010). *Removal of Copper (II) Ions From Aqueous Solution By A Lactic Acid Bacterium*, Brazilian Journal of Chemical Engineering, 27(2), 309-314.
- Yoon, J., Choi, M. K., ve Nam, S. J. (2018). *Citreibacter salsisoli gen. nov., sp. nov., a bacterium isolated from marine soil*. Archives of microbiology, 200(3), 445-451.
- Yörük, G., ve Güner, A. (2011). *Laktik Asit Bakterilerinin Sınıflandırılması ve Weissella Türlerinin Gıda Mikrobiyolojisinde Önemi*, Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi, 6(2), 163-176.
- Zhai, Q., Tian, F., Wang, G., Zhao, J., Liu, X., Cross, K., ve Chen, W. (2016). *The Cadmium Binding Characteristics of A Lactic Acid Bacterium in Aqueous Solutions and its Application For Removal of Cadmium From Fruit and Vegetable Juices*, RSC Advances, 6(8), 5990-5998.

ÖZGEÇMİŞ



Ali GÜMÜŞ

9 Mart 1990 yılında Erzurum'da doğdu. İlk öğrenimini Abdurrahman Şerif Beygu ilkokulu'nda, orta öğrenimini Ahmet Yesevi Ortaokulu'nda, lise öğrenimini ise Şükrü Paşa Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2010 yılında Atatürk Üniversitesi Gıda Mühendisliği bölümüne başlayıp 2015 yılında mezun olup Gıda Mühendisi oldu. 2015 yılında Bayburt Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Gıda Mühendisliği Ana Bilim dalında Yüksek Lisans eğitimine başladı. 2016 yılı şubat ayı itibariyle perakende sektöründe Kalite Kontrol Sorumlusu olarak görev almaktadır.