

**BAKIR İYONLARININ BİYOSORPSİYON
YÖNTEMİYLE GİDERİLMESİNDE *Rhizobium phaseoli*
BAKTERİSİNİN ETKİSİ ÜZERİNE BİR ARAŞTIRMA**

Nida İZGİ (ASLAN)

**Yüksek Lisans Tezi
Biyoloji Anabilim Dalı
Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nazmi GÜR
OCAK-2012**

**T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAKIR İYONLARININ BİYOSORPSİYON YÖNTEMİYLE
GİDERİLMESİNDE *Rhizobium phaseoli* BAKTERİSİNİN ETKİSİ ÜZERİNE
BİR ARAŞTIRMA**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nida İZGİ (ASLAN)

(091110111)

Anabilim Dalı: Biyoloji

Programı: Genel Biyoloji

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Nazmi GÜR

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih:

OCAK-2012

T.C
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BAKIR İYONLARININ BİYOSORPSİYON YÖNTEMİYLE
GİDERİLMESİNDE *Rhizobium phaseoli* BAKTERİSİNİN ETKİSİ ÜZERİNE
BİR ARAŞTIRMA

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Nida İZGİ (ASLAN)

(091110111)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 10.01.2012
Tezin Savunulduğu Tarih : 27.01.2012

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nazmi GÜR

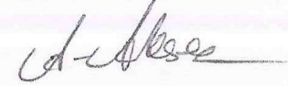


Diğer Jüri Üyeleri:

Prof. Dr. Ömer MUNZUROĞLU



Yrd. Doç. Dr. Aslışah AÇIKSES



OCAK-2012

ÖNSÖZ

Bu çalışma sırasında bilgi ve görüşlerinden faydalandığım danışman hocam Yrd. Doç. Dr. Nazmi Gür'e, laboratuvar çalışmalarında her türlü kolaylığı sağlayan Yrd. Doç. Dr. Seher Gür'e ve çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşlarım Esra ARSLAN ve Aykut ZEREK'e teşekkür ederim.

Bu araştırma FÜBAP FF.11.05 nolu proje olarak desteklenmiştir

NİDA İZGİ (ASLAN)

ELAZIĞ-2012

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLolar LİSTESİ	III
ŞEKİL LİSTESİ	IV
ÖZET	V
SUMMARY	VI
1. GİRİŞ	1
1.1. Genel Bilgi	2
1.1.1. Biyosorpsiyonun Tanımı.....	2
1.1.2. Biyosorpsiyonun Amacı ve Avantajları.....	3
2.3. Biyosorpsiyon Yönteminde Biyokütle Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar	4
1.1.4. Metal Biyosorpsiyonunun Moleküler Temeli	6
1.1.5. Biyosorpsiyon Yönteminde Kullanılan Mikroorganizmaların Özellikleri.....	8
1.1.6. Biyosorpsiyon Mekanizmaları	9
1.1.6.1. Hücre Mekanizmasına Bağlı Biyosorpsiyon Mekanizmaları	10
1.1.6.1.1. Metabolizmadan Bağımsız Biyosorpsiyon.....	10
1.1.6.1.2. Metabolizmaya Bağlı Biyosorpsiyon.....	10
1.1.6.2. Çözeltiden Uzaklaştırılan Metalin Bulunduğu Yere Göre Biyosorpsiyon Mekanizmaları.....	11
1.1.6.2.1. Hücre Membranı İçine Taşınım	11
1.1.6.2.2. Fiziksel Adsorpsiyon	11
1.1.6.2.3. İyon Değişimi	11
2.6.2.4. Kompleks Oluşumu	12
2.6.2.5. Presipitasyon	12
2.7. Biyosorpsiyon Yönteminin Uygulanışı:	13
1.1.8. Biyosorpsiyonun Kinetiği ve İzotermi	13
1.1.9. Biyosorpsiyon İşlemini Etkileyen Faktörler	15
1.1.9.1. pH	15
1.1.9.2. Sıcaklık	16
1.1.9.3. Biyokütle Uygulanan Ön İşlemler	16
1.1.9.4. Temas Süresi ve Biyokütle Konsantrasyonu	16
1.1.9.5. Biyokütle Miktarı:	17
1.1.9.6. Karıştırma Hızı:	17
2. MATERYAL VE METOT	21
2.1.1. Bakteri Kùltürleri	21
2.1.2. Besiyerleri	21
2.2. Metot.....	21
2.2.1. Biyokütle Üretimi.....	21
2.2.2. Cu Çözeltisinin Hazırlanması	22
2.2.3. Biyosorpsiyon Çalışması	22
3. BULGULAR	23
4. TARTIŞMA	39
KAYNAKLAR.....	41
ÖZGEÇMİŞ.....	43

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1.	pH 3’de farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri.....	23
Tablo 2.	pH 3’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri	26
Tablo 3.	pH 4’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri.....	27
Tablo 4.	pH 4’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri	30
Tablo 5.	pH 5’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri.....	31
Tablo 6.	pH 5’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri	34
Tablo 7.	pH 6’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri.....	35
Tablo 8.	pH 6’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri	38

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. Biyosorpsiyon Mekanizmaları (a) Hücre Metabolizmasına Bağlı Olmadıklarına Göre (b) Metalin Giderileceği Yere Göre.....	10
Şekil 2. Metal ile mikroorganizma arasındaki etkileşim mekanizmaları	13

ÖZET

Bu çalışmada, biyosorpsiyon yöntemiyle bakır giderimi için *Rhizobium phaseoli* CIAT 899 kontrol suşu ve 2 adet *R. phaseoli* izolatı kullanılmıştır. *Rhizobium phaseoli* hücreleri ile en uygun (Cu^{2+}) iyonu giderim koşullarının belirlenmesi amacıyla, pH, başlangıç (Cu^{2+}) iyonu konsantrasyonu ve süre gibi biyosorpsiyon olayına etki eden parametreler incelenmiştir. *Rhizobium phaseoli* 23F için en yüksek biyosorpsiyon değeri pH 3’de, 250 mg/lt konsantrasyon değerinde 90. dakikada 53.35 mg/lt, *Rhizobium phaseoli* 38F için en yüksek biyosorpsiyon değeri pH 3’de, 250 mg/lt konsantrasyon değerinde 90. dakikada 31.83 mg/lt ve *Rhizobium phaseoli* CIAT 899 kontrol suşu için pH 3’de, 250 mg/lt konsantrasyon değerinde 90. dakikada 50.00 mg/lt olarak bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: *Rhizobium phaseoli*, Ağır Metal, Biyosorpsiyon, Cu^{2+}

SUMMARY

A Study on the Effect of the Bacteria of *Rhizobium phaseoli* for the Removal of Copper Ions with the Method of Biosorption

In this study, two adsorptive isolates belonging to *Rhizobium phaseoli* and the strain adsorptive which is called as *Rhizobium phaseoli* CIAT 899 have been used in order to remove (Cu^{2+}) ion from aqueous solution. In biosorption study, the effect of the initial (Cu^{2+}) ion concentration, pH and time parameters have been examined and the capacities of biosorption values have been measured. At the end of this study, the best removal parameters and biosorption capacities have been determined to be 53.35 mg/Lt, in pH 3, in 250 mg/Lt concentration, in 90th minute, in *Rhizobium phaseoli* 23F isolate; 31.83 mg/Lt, in pH 3, in 250 mg/Lt concentration, in 90th minute, in *Rhizobium phaseoli* 38F isolate and 50.00 mg/Lt, in pH 3, in 250 mg/Lt concentration, in 90th minute, in *Rhizobium phaseoli* CIAT 899 strain.

Key Words: *Rhizobium phaseoli*, Heavy Metal, Biosorption, Cu^{2+}

1. GİRİŞ

Son yıllarda gelişen teknolojiyle birlikte çevre kirliliğinin giderek artması, günümüzde artık sosyal bir sorun haline gelmiştir. Özellikle, ağır metallerin oluşturdukları kirlilik çevre ve insan sağlığı için toksik etkiler oluşturmaktadır [1].

İnsanoğlunun yaşamsal ihtiyaçlarının karşılanması adına insan elinin müdahalesi sayesinde hareketli hale geçirilen metaller üretim süreçleri sonrasında yararlı hale dönüştürülürken yeterli önlemlerin alınmaması halinde farkında olmadan veya bilinçsizce tekrar doğaya salınımları nedeniyle büyük bir çevre tehdidi olmaktadır. Metaller arasından özellikle ağır metallerin bu şekilde doğaya veya alıcı ortamlara bırakılmalarının sonuçları da canlı hayatı üzerindeki zehirlilik etkileri göz önüne alındığında doğal olarak ağır olabilmektedir [2].

Antik çağlarda metal cevherleri işlenmeye başladığından beri, metaller insan faaliyetleri sonucu olarak doğal çevirimler dışında atmosfere ve hidrosfere yayılmaya başlamışlardır. Yüzyıllar boyunca insanlar ağır metalleri, etkilerini bilmeden takı, silah, lastik, su borusu v.b. çeşitli amaçlar için kullanmışlardır [3]. Sanayileşme ile birlikte ağır metal içeren kömürlerin yakılmaya başlaması ile endüstri bölgelerindeki ağır metal kirliliği aşırı boyutlara ulaşmıştır.

Ağır metal kirliliğinden kaynaklanan ilk tanımlanan zehirlenmeler Japonya’ da ortaya çıkmıştır.

Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde ağır metaller ve türevlerinin çevrede yaygın olarak bulunması endüstriyel faaliyetlerin doğal bir sonucudur. Ancak ağır metallerin canlı tarafından fark edilmeden dokularda biriktirilebilmesi ve metabolizmada bu ağır metallerin neden olabileceği toksik etkiler tartışılmaz bir gerçektir. Bu durum çevre ve insan sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir [4].

Diğer kirleticilerle karşılaştırıldığında metallerin daha önemli olması bu maddelerin sulu ortamda biyolojik olarak ayrışamamasından kaynaklanır [3].

Ağır metaller, bitkilerde depolanmakta ve enzimlerle birlikte pek çok yaşamsal faaliyeti düzenlemektedir [1]. Böylece ağır metaller besin zincirine girerek canlı dokularda birikebilmektedir. Bu durum ağır metallerin besin zinciri yoluyla insanlara kadar ulaşmalarına neden olmaktadır [3].

Ağır metallerin bulunduğu formlar; toprak çözeltisinde, organik meteryallerle bileşik oluşturmuş şekilde, çökelti halinde, minerallerin kristal kafes yapısındadır.

Ağır metallerin bulaşma kaynakları; modern eritme ve işleme tesislerinin katı atıkları, maden yada maden işletme tesisinin yakınındaki bir su gövdesine çevrilen sıvı atıklar, fabrika

veya termik santrallerin bacasından çıkan uçucu küller, atık su arıtma çamurları, otoyollarda araçlardan salınan benzin, balata ve lastik kökenli atıklar, tarım ilaçları ve ticari gübreler (fosforlu), pil vb endüstri ürünlerinin gelişigüzel atılması şeklindedir.

Ağır metallerin gideriminde kimyasal çöktürme, iyon değişimi, filtrasyon, ters osmos v.b. çeşitli geleneksel yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemlerin bazı dezavantajları vardır. Bu nedenden dolayı metal iyonlarının sulu ortamlardan giderilmesi üzerine farklı teknolojiler geliştirmiştir. Bu yöntemlerden biride biyosorpsiyon yöntemidir. Biyosorpsiyon yöntemiyle ağır metal giderimi diğer yöntemlere kıyasla, etkili, pratik ve ekonomik olması nedeniyle bilimsel araştırmalarda daha çok tercih edilmektedir.

Bu araştırmada topraktaki (Cu^{2+}) iyonlarının *Rhizobium phaseoli* tarafından farklı pH, farklı süre ve başlangıç konsantrasyonlarındaki biyosorpsiyon kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

1.1. Genel Bilgi

1.1.1. Biyosorpsiyonun Tanımı

Ağır metaller, metabolik reaksiyonları yavaşlatır ve canlı organizmalar için aşırı derecede zehir etkisi yapar [23]. Ağır metallerin gerek su ekosistemleri gerek insan sağlığı üzerindeki bu gibi olumsuz etkilerinden dolayı, bunlar çeşitli yöntemlerle su ve atık sulardan giderilmelidir [3].

Mikroorganizmaları kullanarak ağır metallerin biyolojik giderilmesi ve renk giderimi, sadece bilimsel yenilik açısından değil, sanayideki potansiyel uygulanırlığı açısından da son yıllarda büyük ilgi görmeye başlamıştır [23].

Ağır metallerin gerek endüstriyel atık sulardan ve gerekse ağır metal ile kirlenmiş ya da kirletilmiş çevresel su kaynaklarından uzaklaştırılmasında çok çeşitli kimyasal ve fiziksel süreçler kullanılmaktadır [3].

Ağır metallerin sulu ortamlardan giderilmesinde kullanılan bu geleneksel yöntemler :

- 1) Kimyasal çöktürme
- 2) İyon değişimi
- 3) Aktif karbon ile adsorpsiyon
- 4) Ters osmoz
- 5) Filtrasyon
- 6) Membran teknolojileri

Bu geleneksel metotlar ile ortamda bulunan ağır metaller tam olarak giderilemeyebilir. Ayrıca bu yöntemlerin ekonomik olmayışları, pahalı ekipman ve takip sistemleri gerektirmesi, fazla kimyasal ve enerji ihtiyacının olması, toksik çamur ve diğer atık ürünler oluşturması gibi dezavantajları vardır [3]. Bu nedenlerden dolayı metal iyonlarının sulu ortamlardan giderilmesi üzerine farklı teknolojiler geliştirmek günümüzde önemli bir araştırma konusudur. Bu konuda geliştirilen en önemli yöntemlerden biride biyosorpsiyon yöntemidir

Metal iyonlarının ölü ve canlı biyokütle tarafından adsorplanarak giderimi olayına BİYOSORPSİYON denir [7]. Biyosorpsiyon yöntemi sayesinde canlı veya ölü mikroorganizmalar ile metal iyonları arasında gerçekleşen çeşitli mekanizmalar sonucunda metal iyonlarının mikroorganizma tarafından giderimi sağlanmaktadır. Biyosorpsiyon işlemiyle ağır metallerin gideriminde önemli bir potansiyele sahip mikroorganizmaların etkin bir şekilde kullanıldığı ve tercih edildiği görülmektedir. Bu amaçla çeşitli bakterilerin, fungusların ve alglerin kullanıldığı bilinmektedir [3].

Biyosorpsiyon işlemi ile ağır metallerin giderilmesi genellikle üç kategoride sınıflandırılır. Bunlar; hücre yüzeyine bağlanma, hücre içi birikim, hücre dışı birikimdir. Metabolizmadan bağımsız olarak, hücre yüzeyine bağlanma olayı hem canlı hem de cansız mikroorganizmalarda meydana gelebilirken, metallerin hücre içinde ve hücre dışında birikim olayı genellikle enerji gerektiren proseslerdir ve bu yüzden sadece canlı hücrelerde meydana gelebilirler. Cansız mikrobiyal biyoküteller canlı biyoküteller ile karşılaştırıldıklarında, muhtemelen canlı biyokütellerde metabolizma boyunca üretilen rekabetçi protonların cansız biyoküteller için söz konusu olmamasından dolayı metal iyonlarının giderimi açısından canlı biyoküteller daha iyi bir eğilim sergilemektedirler [2].

1.1.2. Biyosorpsiyonun Amacı ve Avantajları

Son zamanlarda ağır metallerin hem en önemli, hem de en tehlikeli maddeler olduğunu görüyoruz. Bazı araştırmacılar, ağır metal kirlenmesini en ciddi çevre problemi olarak değerlendirmektedirler. Endüstri atıklarından kaynaklanan ağır metallerin, su kirliliğinde oynadıkları rol büyüktür. Bu metaller insan, hayvan ve bitki için tehlike arz etmektedir. Besin zinciri ve özellikle su ile insan vücuduna giren bu ağır metaller ciddi hastalıklara, hatta ölüme yol açmaktadırlar.

Bu nedenlerden dolayı son yıllarda ağır metal içeren atık suların arıtımında biyolojik yöntemler; etkili, pratik ve ekonomik olmaları nedeniyle konvansiyonel fiziksel – kimyasal arıtım yöntemlerine tercih edilmekte ve bilimsel araştırmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır.

Biyolojik süreçlerle metal arıtımı, özellikle mikroorganizmalarla yapılan metal biyosorpsiyonu etkili ve alternatif bir teknoloji oluşturacak güçtedir [8].

Metallerle biyosorpsiyon sürecinin temelde iki hedefi vardır. Birincisi altın, gümüş ve platin gibi ticari değere sahip paslanmaz metallerin geri kazanımını; ikincisi ise canlı sistemleri ve çevresi için çok küçük derişimlerde bile son derece toksik olan civa, bakır, demir, kurşun, krom, kadmiyum, nikel ve çinko gibi ağır metallerin kirli sulardan uzaklaştırımıdır [8].

Arıtım sistemlerinde, özellikle biyolojik arıtım süreçlerinde mikroorganizmaların kullanılması arıtımın daha etkili ve randımanlı yapılmasını da sağlayacaktır. Ayrıca biyosorpsiyon yönteminde mikrobiyal biyokütlelerin kullanılması var olan metotlara, düşük maliyeti ile yeni bir alternatif oluşturmaktadır [3].

Biyosorpsiyon teknolojisinin en önemli avantajları atık sulardaki ağır metal konsantrasyonlarını çok düşük seviyelere indirgemekteki etkinliği ve bol miktarda kolayca üretilen, ekonomik biyosorbent materyallerinin kullanılmasıdır. Bu biyosorbentler metal iyonlarının giderilmesinde yüksek seçiciliğe sahiptirler. Ayrıca bu yöntem ile çok seyreltik sulardan bile kirleticiler etkili bir şekilde giderilebilmektedir. Biyosorpsiyon yönteminin diğer avantajları ise bu yöntemin yerinde uygulanabilen bir yöntem olması, çok özel dizaynlar ve endüstriyel işlemler gerektirmemesi ve birçok sistemle ekonomik bir şekilde birleştirilebilmesidir [3].

2.3. Biyosorpsiyon Yönteminde Biyokütle Olarak Kullanılan Mikroorganizmalar

Metal biyosorpsiyonunda etkin olarak kullanılacak biyolojik moleküller oldukça geniş bir spektruma sahiptir. Özellikle mikroorganizma grubu içerisinde bakterilerde dahil olmak üzere çeşitli maya, alg ve mantar türleri saymak mümkündür (Tablo 1). Bunun yanında canlı olmayan biyokütle olarak örneğin; ağaç kabuğu, lignin ve fıstık kabuğu, kullanılmaktadır. Bu mikroorganizmaların sahip oldukları biyomoleküller gerek canlı gerek ölü biyokütlelerin yüksek bir metal ilgisine sahip olmasını sağlamakta ve dolayısıyla çok yüksek bir biyosorpsiyon kapasitesi sunmaktadır [3].

Organizma

Metal biyosorpsiyon çeşidi

1) Bakteri Türleri

Enterobacter aerogenes

kadmiyum/nikel

Pseudomonas aeruginosa

kadmiyum/uranyum

Citrobacter sp.

Artrobacter sp.

2) Maya Türleri

Saccharomyces cerevisiae

çinko/bakır/uranyum/kadmiyum

Sporoholomyces roseus

Kluyveromyces fragilis

bakır/kobalt/gümüş

Candida utilis

3) Fungus Türleri

Neurospora crassa

Pleurotus ostreatus

Rhizopus arrhizus

nikel/kadmiyum/bakır/uranyum

Penicillium spinulosum

Aspergillus niger

4) Alg Türleri

Chlorella homosphaera

Chlorella vulgaris

çinko/kurşun/kobalt

Ascophyllum nodosum

kadmiyum/altın

Sargassum natans

Ağır metallerin uzaklaştırılması ve metal biriktirme yetenekleri yönünden, sözü edilen bu organizma grupları arasında maya ve mantarlarla yapılan biyosorpsiyon çalışmaları daha verimli bulunmuştur. Ayrıca fungal kitlelerin fermantasyon endüstrilerinden büyük miktarlarda hazır elde edilmesi, genetik ve morfolojik manipulasyon çalışmalarında kolaylıklar içermesi, özellikle toksik metallerin yüksek derişimlerine karşı farklı dirençlilik yetenekleri ve mikoriza üretmeleri tercih nedenleridir. Bunun yanında yine saprofit özellikteki

mantarların metal biyosorpsiyon yeteneklerinin yüksek olduğu da gözlenmiştir. Bu konu üzerindeki son çalışmalar tarımsal ve endüstriyel atıkların biyoçevriminde oldukça geniş kullanım alanına sahip odun parçalayıcı Basidiomycetes sınıfı mantar türlerinin bu amaç için oldukça etkili olduğunu göstermektedir [8].

Biyolojik moleküllerle yapılan ileri metal biyosorpsiyon çalışmalarında immobilize edilmiş hücre tekniklerinin (alg, maya, bakteri, mantar immobilizasyonu) metal bağlama ve metal uzaklaştırımında serbest moleküllere kıyasla daha etkin oldukları gözlenmiştir. Algler, mantarlar ucuz polimerik desteklere immobilize edilerek metal biyosorpsiyonunda kullanılabilir [8].

Yaşayan (canlı) veya yaşamayan (ölü) mikroorganizmalar seçici olarak atık sulardaki inorganik iyonları biriktirme ve ayırmada yüksek bir potansiyele sahiptir [6]. Kurutulmuş, cansız veya kimyasal olarak ön işleme maruz bırakılmış mikroorganizmaların atık sulardan ağır metal iyonlarının giderimini kapsayan endüstriyel uygulamalarda kullanımı, canlı mikroorganizmaların kullanımına kıyasla bir alternatif olarak görülmektedir [2]. Mikroorganizmaların üreme ve metali bağlamada ortam koşullarının aynı olmaması, ayrıca metal derişimlerinin çok yüksek olduğu veya metal iyonlarının önemli miktarlarının mikroorganizma tarafından adsorbe edildiği zaman, mikroorganizma üremesinin inhibe oluşu, canlı sistemlerle çalışmada önemli kısıtlamalar getirmektedir. Bu sebeplerle ölü mikroorganizmaların metal adsorpsiyonunda kullanımı düşünülmüş, yaşamayan biyokütlenin yaşayan hücrelerinden daha fazla miktarda metali adsorpladığı gözlenmiştir. Ayrıca canlı biyokütleye nazaran ölü biyoküteller; uzun süre oda sıcaklığında saklanabilirler, metal toksisitesinden etkilenmezler ve nutriende ihtiyaç duymazlar. Bunların dışında biyokütlenin fiziksel veya kimyasal işlemlerle öldürülmesi ve bazı ön işlemlere tabi tutulması biyosorpsiyon kapasitesini arttırabilir. Canlı hücreler ise, ağır metallerin hücre ölümüne sebep olan toksik etkisine belli bir limite kadar dayanabilmektedir.

Metal biyosorpsiyon deneyleri için biyokütle seçerken, biyokütlenin kaynağı en büyük faktör olarak göz önüne alınmalıdır. Biyokütle kaynakları; endüstriyel atıklar, doğada çok miktarda bulunan organizmalar, hızlı büyüyen, yetiştirilebilen veya biyosorpsiyon amaçlı üretilen organizmalar olmalıdır [8].

1.1.4. Metal Biyosorpsiyonunun Moleküler Temeli

Hemen bütün mikroorganizmaların yüzeyi negatif yüklü olduğundan pozitif yüklü metal iyonlarını [Cu (II), Pb (II), Mn (II), Cr(III), Ni(II) vs.] adsorbe etme yeteneğine sahiptirler [3]. Ağır metallerin biyolojik moleküllerle alınımı bazı aşamalar içermektedir Yapılan

bilimsel araştırmalar ağır metallerin metal bağlama verimliliğinin ilk aşamada çok hızlı bir şekilde cereyan etmekte olduğunu ve bu olayda metal iyonlarının hücre duvarına temas eder etmez hemen yüzey adsorpsiyonu ile mikroorganizmaların hücre yüzeyine bağlandığını göstermektedir. Yüzey adsorpsiyonun fiziko-kimyasal bir olay olduğu, birçok biyolojik moleküllerin; örneğın hücre duvarı bileşenleri olan polisakkaritlerin, proteinlerin ve lipitlerin sahip olduğu fonksiyonel gruplar ile gerçekleştiğı belirtilmiştir. Bu fonksiyonel gruplar amino, karboksilik, sülfidril, fosfat ve tiol grupları olup metalleri bağlamada farklı affinite ve özgülüğe sahiptirler. Her iki özellik yardımıyla hücre yüzeyine bağlı olan metal türlerinin tayini yapılabilmektedir. Yine metallerin hücre yüzeyine alınımın, hücre yüzeyindeki negatif yüklü metal bağlayıcı moleküllere bağlanarak gerçekleştiğini belirten araştırmaların varlığı yukarıdaki yüzey alım mekanizmasının doğruluğunu kanıtlamaktadır. Diğer yandan hücre duvarı içeriğı olan proteinler, metalleri bağlamak için aktif bölgeler oluşturmakta ve metale karşı affinitelerini arttırmaktadır. Yüzey alımında bazı mikroorganizmalar, yüzeylerinde yüksek moleküler ağırlıklı polifosfatlara benzeyen grupları ile metallerle kompleks oluşturarak metali bağlayabilmektedirler [8].

Yüzey alınımını takiben ikinci metal bağlama aşaması gerçekleşmektedir. Bu aşama yavaş cereyan etmekte ve metaller hücre membranının transport özelliğine bağlı olarak sitoplazmaya geçmektedirler. Sitoplazmadaki metaller ise çözünmez formda (mikrodepositler) şeklinde tutulmaktadır. Bu bağlanma sürecinde de polisakkaritlerin önemli rolü vardır. Neticede metaller; inter ve intrafibriller, parakristalin bölgeler, proteinler, RNA ve polifosfatlar, vakuoller gibi formlarda ve hücre yapılarında alınımına uğramaktadır. Genelde hücre duvarlarına metal bağlanması hızlı ve yüksek verimlilik gösterirken hücrenin sitoplazmasındaki bölgelerde (stosoluble) çok yavaş ve düşük verimliliktedir [8].

Metallerin alınım sürecinde birçok mikroorganizmanın metal bağlayıcı proteinler sentezledikleri rapor edilmektedir. Bu sentezin, ağır metalleri detoksifikasyon mekanizması gereğı yapıldığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalar metal derişimlerinin artışına paralel olarak metal bağlayıcı proteinlerin arttığını göstermektedir. Metallerin her iki tip alınımında bu özgül düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin önemi büyüktür. Özellikle sisteince zengin, metal bağlayıcı özelliğe sahip bu düşük moleküler ağırlıklı proteinlere metallothioneinler (MTs) adı verilmekte ve ağır metallerin detoksifikasyonunda yer almaktadır. Böyle proteinlerin çeşitli eukaryotik ve prokaryotik canlılardan izolesi mümkündür.

Metallerin sorpsiyon verimliliğinde, ortamda bulunan metal çeşidine ve sayısına, bu metallerin kendine has özelliklerine bağlı olarak sinerjik ve antagonistik etki görölmektedir. Diğer bir deyişle bir metal diğer bir metalin birikim miktarını sinerjik ve antagonistik bir

şekilde etkileyebilmektedir. (Örneğin bazı alg türlerinde Cd ve Zn'un antagonistik etkisi veya metallerin membran transportunda Ni(II) ve Cu(II) sinerjik etkisi gibi). Bakterilerle yapılan metal biyosorpsiyonu çalışmaları da, yine aynı mekanizmalarla gerçekleşmekte; özellikle bu sistemlerde biyolojik oksidasyonu gerçekleştiren aktif çamur sisteminde de görülmektedir.

Mayalar ve mantarlar; ağır metalleri biriktirme yetenekleri yönünden oldukça etkili görülmektedir. Bu nedenle, ilgili biyoteknolojik uygulamalarda daha çok tercih edilmektedirler. Metal bağlama verimliliği bu mikroorganizmalarda genellikle bifaziktir; metallerin başlangıç aşamasında hızlı bir şekilde hücre duvarlarının negatif yüklü bölgelerine bağlanmaları düşük bir enerji ile başarılmakta ve sonra metabolik aktiviteye bağlı olarak yavaş bir şekilde sitoplazmik bileşenlere bağlanmasını izlemektedir. Bazı metallerin örneğin bakırın hücre büyümesini belli bir derişimden sonra inhibe ettiği, buna karşın metal bağlayıcı proteinlerin (MTs) sentezini arttırdığı deneysel olarak saptanmıştır. Bu ise, metal bağlayıcı proteinlerin yapısına bu gibi metallerin yapısal bileşen olarak girdiğini göstermektedir [8].

1.1.5. Biyosorpsiyon Yönteminde Kullanılan Mikroorganizmaların Özellikleri

Metallerin biyosorpsiyonunda kullanılan mikroorganizmaların yüzey alanı büyük ve negatif yüklü olmalıdır. Biyolojik giderim çalışmaları tipik olarak mikrobiyal biyokütle ile yapılır. Biyosorpsiyon yönteminde kullanılan mikroorganizmaların sahip oldukları biyomoleküller gerek canlı ve gerekse ölü biyokütlelerin yüksek bir metal ilgisine sahip olmasını sağlamak ve dolayısıyla çok yüksek bir biyosorpsiyon kapasitesi sunmaktadır. Bakteri hücre duvarı, kimyasal bileşikler içerir ve bu bileşikler metalleri pasif olarak tutabilir [8].

Bakteri gibi mikroorganizmalar veya biyopolimerler gibi moleküller tarafından metal bağlama ile biyosorpsiyona çok sayıda metal grubun katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu gruplar; hidroksil, karbonil, karboksil, sülfidril, thioeter, sülfonat, amin, imin, amid, imidozol, fosfonat ve fosfodiesterdir [3].

Belli biyokütle ile belli bir metalin biyosorpsiyonu için herhangi bir grubun önemi şu faktörlere bağlıdır; biyosorbentteki bölge sayısı, bölgelerin ulaşılabilirliği, bölgenin kimyasal yapısı, bölge ve metal arasındaki çekim (bağlanma) kuvveti.

Kovalent metal bağlama için, teorik olarak bölgeler mevcuttur. Verilen metalin hangi bölgeyi kullanacağı metalin bağ yapma kuvvetine ve konsantrasyonuna bağlıdır. Eğer metal iyon halindeyse elektrostatik metal bağlama bölgesi mevcuttur [8].

Ağır metal gideriminde kullanılacak olan mikroorganizmanın iyi bir biyosorbent olmasının yanı sıra ekonomik olarak üretilmesi de önemlidir. Pek çok endüstriyel alanda yaygın

olarak kullanılan mayalar ekonomik olarak üretilibilmeleri, kolay elde edilebilir olmaları, çevresel değişimlere karşı hassas olmamaları gibi nedenlerle ağır metal giderim amacıyla kullanılabilecek önemli bir kaynaktır [4].

1.1.6. Biyosorpsiyon Mekanizmaları

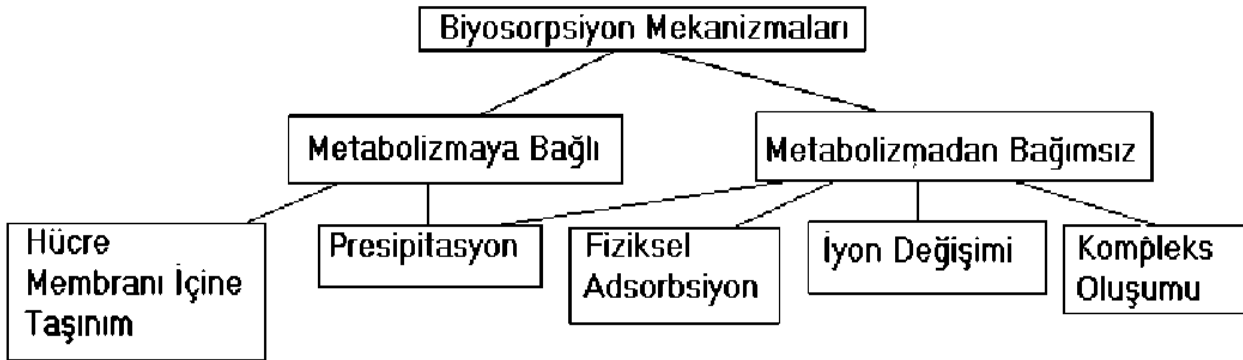
Mikroorganizmaların kompleksliği, hücre tarafından tutulan metaller için pek çok yolun olduğunu gösterir. Biyosorpsiyon mekanizmaları bu yüzden farklıdır ve bazı durumlarda hala çok iyi anlaşılmamıştır [6]. Bu mekanizmalar aşağıdaki gibi farklı kriterlere ayrılabilir;

Hücre metabolizmasına bağlı olarak biyosorpsiyon mekanizması 2'ye ayrılır;

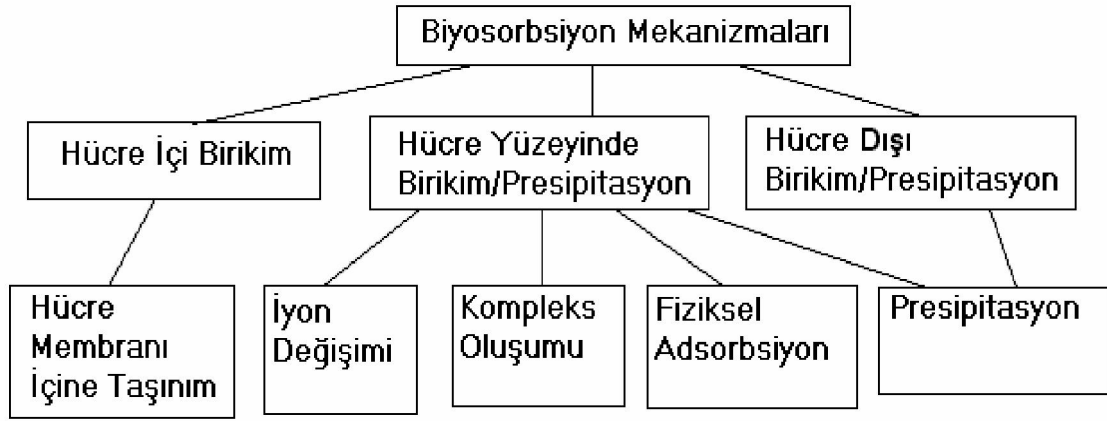
- a. Metabolizmaya bağlı
- b. Metabolizmadan bağımsız

Çözeltiden uzaklaştırılan metalin bulunduğu yere göre biyosorpsiyon 3'e ayrılır;

- a. Hücre dışı birikim / presipitasyon
- b. Hücre yüzeyinde sorpsiyon / presipitasyon
- c. Hücre içi birikim



(a)



(b)

Şekil 1. Biyosorpsiyon Mekanizmaları (a) Hücre Metabolizmasına Bağlı Olmadıklarına Göre (b) Metalin Giderileceği Yere Göre [6]

1.1.6.1. Hücre Mekanizmasına Bağlı Biyosorpsiyon Mekanizmaları

1.1.6.1.1. Metabolizmadan Bağımsız Biyosorpsiyon

Metal ve hücre yüzeyindeki fonksiyonel gruplar arasındaki fizikokimyasal etkileşim sırasında fiziksel adsorpsiyon, iyon değişimi ve kompleks oluşumu gerçekleşir ve buna hücre yüzeyinde sorpsiyon denir. Bu olay metabolizmadan bağımsızdır. Mikrobiyal biyokütlenin hücre duvarı büyük oranda polisakkarit, protein ve yağlar içerir, çok sayıda metal bağlama fonksiyonel grubuna sahiptir. Bu gruplar; karboksilik, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino gruplarıdır. Bu fizikokimyasal metal biyosorpsiyonu, metabolizmadan bağımsızdır ve nispeten hızlıdır. Bu mekanizmada metaller geri kazanılabilir. En yaygın olan bu mekanizmada, biyokütle iyon değiştirici reçine veya aktif karbonla aynı kimyasal özellikleri gösterir ve böylece biyosorpsiyonun endüstriyel uygulamalarında kullanılması avantajlı olur [6].

1.1.6.1.2. Metabolizmaya Bağlı Biyosorpsiyon

Metabolizmaya bağlı faz genelde daha yavaştır (saatler veya günler alır) ve düşük sıcaklık, enerji kaynağı (ışık) yetersizliği, metabolik inhibitörler tarafından engellenebilir. Bu hücrelerin yaşamına ve büyüme ortamının karakteristiğine etki edebilir [6].

1.1.6.2. Çözeltilerden Uzaklaştırılan Metalin Bulunduğu Yere Göre Biyosorpsiyon Mekanizmaları

1.1.6.2.1.Hücre Membranı İçine Taşınım

Bu biyosorpsiyon çeşidi sadece canlı hücrelerle gerçekleştirilir. Hızlı değildir çünkü mikroorganizma reaksiyon için zamana ihtiyaç duyar. Bu olay hücre metabolizması ile ilgilidir. Ne yazık ki, biyosorpsiyon araştırmaları, yüksek metal konsantrasyonları bulunması durumunda, bazı elementlerin toksik olmaları nedeniyle yapılamamaktadır. Bu yüzden bu mekanizma ile ilgili çok az bilgi mevcuttur. Mikrobiyal hücre membranı içine ağır metal taşınımı, metabolik olarak gerekli iyonların hücre içine taşınımı ile aynı mekanizmadır. Metal taşıma sistemi, aynı yük ve iyonik çapa sahip ağır metal iyonlarının varlığı tarafından karıştırılabilir [6].

1.1.6.2.2.Fiziksel Adsorpsiyon

Bu kategorideki olay Van der Waals kuvvetleri ile ilişkilidir. Tsezos ve Volesky uranyum ve uranyumun, mantar biyokütlesi *Rhizopus arrhizus* ile biyosorpsiyonun hücre duvarı kitin yapısında fiziksel adsorpsiyon ile gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır. Kuyucak ve Volesky (1988) uranyum, kadmiyum, çinko, bakır ve kobaltın ölü alg, mantar ve maya biyokütleleriyle biyosorpsiyonunda, hücre duvarı ve solüsyondaki iyonların arasında elektrostatik etkileşimler olduğu hipotezini savunmuşlardır. Bakırın bir bakteri olan *Zoogloea ramigera* ve alg *Chlorella vulgaris* ile biyosorpsiyonunda, kromun mantar *Gonoderma lucidum* ve *Aspergillus niger* ile biyosorpsiyonunda ve kadmiyumun deniz algi ile biyosorpsiyonunda elektrostatik etkileşimler etkili olmaktadır. Ayrıca fiziksel adsorpsiyon, bakır, nikel, çinko, kadmiyum ve kurşunun *Rhizopus arrhizus* ile biyosorpsiyonunda etkilidir [6].

1.1.6.2.3. İyon Değişimi

Mikroorganizmaların hücre duvarının ana yapı taşları polisakkarit içerir. Doğal polisakkaritlerin iyon değiştirme özellikleri detaylı araştırılmış ve 2 değerlikli metal iyonları ile polisakkaritlerin bu iyonlara karşılık gelen iyonlarının yer değiştirdiği gözlenmiştir. Örneğin deniz alglerinde genellikle doğal tuzlardan K(I), Na (I), Ca (II) ve Mg (II) bulunmaktadır. Bu metalik iyonlar, bunlara karşılık gelen Co (II), Cu (II), Cd (II) ve Zn (II) gibi iyonlarla değişir ve sonuçta metallerin biyosorpsiyonu gerçekleşir. Friis ve Myers-Keith (1986) uranyum ve kurşunun, *Streptomyces longwoodensis* ile biyosorpsiyonunun iyon değişimi ile gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Buradaki iyon değişimi, metal iyonlarıyla, hem hücre duvarı hem de sitoplazmada bulunan fosfor kalıntıları arasında gerçekleşir. İyon

değişimi ayrıca mantar *Ganoderma lucidum* ve *Aspergillus niger* ile bakır biyosorpsiyonunda etkili bir mekanizmadır [6].

2.6.2.4. Kompleks Oluşumu

Solüsyondan metal giderimi, metal ve aktif gruplarla etkileşim sonucunda hücre yüzeyinde kompleks oluşumu ile de gerçekleşebilir. Metal iyonları şelat oluşumuyla bağlanabilir. Toryum ve uranyumun *Rhizopus arrhizus* ile biyosorpsiyonu sadece fiziksel adsorpsiyonla değil, kompleks oluşumuyla (metaller hücre duvarı yapısının azotuyla birleşir) gerçekleşmektedir. Aksu ve arkadaşları *C. vulgaris* ve *Z. ramigera* ile bakır biyosorpsiyonunda, hem adsorpsiyon hem de metal ve hücre duvarı polisakkaritlerinin karboksil ve amino grupları arasında bağ oluşumu mekanizmalarının etkili olduğunu belirtmişlerdir. *pseudomonas syringae* ile kalsiyum, magnezyum, kadmiyum, çinko, bakır ve civa birikimlerinde, kompleks oluşumu tek mekanizmadır [6].

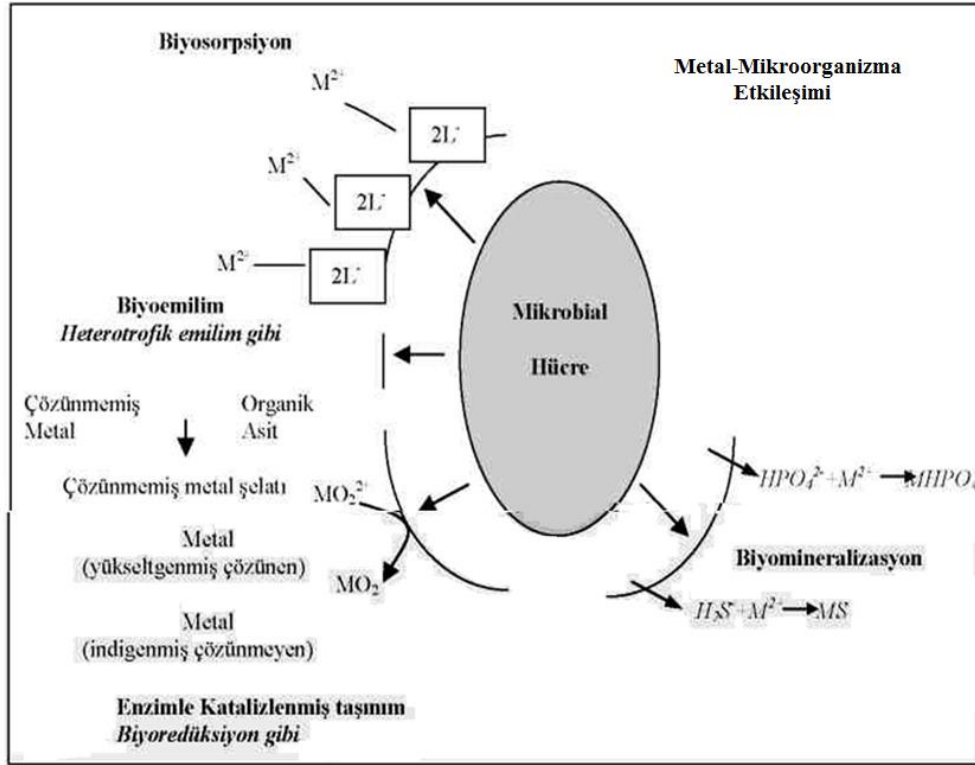
2.6.2.5. Presipitasyon

Presipitasyon, hem hücre metabolizmasına bağlı hem de hücre metabolizmasından bağımsız olabilir. Önceki anlatılan presipitasyon durumlarında, solüsyondan metal giderimi genelde mikroorganizmaların aktif savunma sistemleriyle birleşmiştir. Toksik metal bulunması durumunda tepkime vererek çökebilen bileşikler üretilir. Scott ve Palmer (1990) *Arthrobacter* ve *Pseudomonas* türleriyle solüsyondan kadmiyum gideriminin detoksifikasyon sistemiyle (hücre yüzeyinde kadmiyum çökeliyor) olduğunu belirtmişlerdir. Presipitasyonun hücre metabolizmaya bağlı olmadığı durumlarda, metal ve hücre yüzeyi arasında kimyasal etkileşimler olur. *Rhizopus arrhizus* ile uranyum biyosorpsiyonunda, anlatılan bu durum son basamakta gerçekleşir; uranyum-kitin kompleksi oluşur, ardından kompleks hidroliz olur ve hücre duvarında hidroliz ürünü (uranilhidroksit) çökeliyor. Holan ve arkadaşları (1993) deniz alg biyokütlesiyle, kadmiyum biyosorpsiyonuna büyük ölçüde katkı sağlayan ek bir mekanizma varlığını iddia etmişlerdir. Bu mekanizmada, çözünmeyen mikro parçacıklarla metaller tutulmaktadır.

Literatürlerden anlaşılabileceği üzere, biyosorpsiyon mekanizmaları çok farklı olmakla birlikte aynı zamanda bu mekanizmalar birlikte gerçekleşmektedir [6].

2.7. Biyosorpsiyon Yönteminin Uygulanışı

Metal ile mikroorganizma arasındaki etkileşim mekanizması şematik olarak şekil 2’de gösterilmiştir. Sıcaklık, iyonik kuvvetler, çözeltideki metal iyonu konsantrasyonu, pH, tampon tipi, diğer kimyasallar, biyosorbentlere uygulanan ön işlemler, biyosorbent kültürünün yaşı ve diğer kimyasallar ve fiziksel faktörler biyosorpsiyon işlemini etkiler [3].



Şekil 2. Metal ile mikroorganizma arasındaki etkileşim mekanizmaları [3]

Biyosorpsiyon kompleks bir olaydır. Ölü hücrenin etrafında; karboksil, sülfüdril, fosfat ve hidroksil grupları ve diğer hücre duvarında bulunması muhtemel olan kitin ve ligant gibi maddeler bulunmakta ve bunlar biyosorpsiyonun mekanizmasını kompleks ve anlaşılması zor bir hale getirmektedir. Ayrıca biyosorpsiyonun tek tabakada mı, çok tabakada mı meydana geldiği; yüzeyden itibaren molekül hareketlerinin ve madde taşınmasının nasıl olduğu henüz çok iyi anlaşılamamıştır. Bununla beraber aktif karbon ile ilgili adsorpsiyon mekanizması hakkında literatürde bilgiler mevcuttur [3].

1.1.8. Biyosorpsiyonun Kinetiği ve İzotermi

Biyosorpsiyon olayının kinetiği iki basamaktan oluşur. Birinci basamak, organizma yüzeyinde gerçekleşen fiziksel adsorpsiyon veya iyon değişimini içerir. Bu basamak çok

hızlıdır ve mikroorganizma metal ile etkileştikten kısa bir süre sonra denge oluşur. Hızlı giderim genellikle yüzey adsorpsiyonu sonucu gerçekleşir. Bu basamağa pasif giderim denir. Metal alımında ikinci basamağa ise aktif giderim denir. Bu basamak; metal iyonlarının hücre zarından içeri taşınımını içeren, metabolik aktiviteye bağlı, daha yavaş, hücre içi giderim basamağıdır [3].

Ağır metal iyonlarının mikroorganizma yüzeyine tutunması adsorpsiyon izotermi ile gösterilebilen bir taşınım olayıdır. Adsorpsiyon izotermi biyosorpsiyon olayını ifade eden hız denklemleridir. Biyosorpsiyon sırasında hız denklemi, biyokütle yüzeyine adsorplanan metal iyonu miktarı (q_d) ve çözeltide adsorplanmadan kalan metal iyonu miktarı (C_d) arasında kurulur.

Biyosorpsiyon dengesi, su ve atık su arıtma uygulamaları verilerinin analiz edilmesinde yaygın olarak kullanılabilen Langmuir veya Freundlich adsorpsiyon izotermi ile gösterilebilir [3].

Langmuir denklemi, biyokütle yüzeyinin tekli tabaka halinde kaplanması durumunda geçerlidir. Bu denklem aşağıdaki şekilde gösterilebilir.

$$q_d = \frac{Q^\circ b C_d}{1 + b C_d}$$

Burada;

q_d : Biyokütle yüzeyine adsorplanan metal iyonu miktarı,

C_d : Çözeltide adsorplanmadan kalan metal iyonu miktarı,

Q° : Adsorplayıcı yüzeyinin tek tabaka halinde kaplanması durumunda biyokütlenin birim miktarı için gerekli maksimum metal iyonu miktarı,

b : Adsorpsiyon entalpisi ile ilgili bir sabit.

Freundlich denklemi ise heterojen bir yüzey üzerindeki adsorpsiyonu temel alır. Bu denklem aşağıdaki şekilde gösterilir.

$$q_d = K_f C_d^{1/n}$$

Burada;

K_f : Biyokütlenin adsorpsiyon kapasitesi,

n : Adsorpsiyon şiddeti üzerine derişimin etkisi,

Freundlich izotermi çok yaygın bir şekilde kullanılmasına rağmen, Langmuir modelinin aksine tekli tabaka adsorpsiyon kapasitesi hakkında bilgi vermez.

Langmuir ve Freundlich denklemlerindeki K_f , n , Q° b ve kayması $1/Q^\circ$ olan bir doğru denklemdir.

Bir çözeltide bulunan iyonun biyokütle tarafından adsorplanması işleminde 4 ana basamak vardır [3].

1. Gaz veya sıvı fazda bulunan iyonlar, biyokütleyi kaplayan bir film tabakasına doğru difüze olur. Bu basamak, biyosorpsiyon düzeneğinde belirli bir hareket olduğu için çoğunlukla ihmal edilir.
2. Film tabakasına gelen iyonlar buradaki durgun kısımdan geçerek biyokütlenin gözeneklerine doğru ilerler.
3. Daha sonra iyonlar adsorbanın gözenek boşluklarında hareket ederek biyosorpsiyonun meydana geleceği yüzeye doğru ilerler.
4. Son olarak iyonun, biyokütlenin gözenek yüzeyine tutunması meydana gelir.

Eğer biyokütlenin bulunduğu faz hareketsiz ise 1. basamak en yavaş ve biyosorpsiyon hızını belirleyen basamak olabilmektedir. Bu nedenle, eğer sıvı hareket ettirilirse yüzey tabakasının kalınlığı azalacağı için biyosorpsiyon hızı artacaktır. Son basamak ölçülemeyecek kadar hızlı olduğundan ve ilk basamakta iyi bir karıştırma olduğu düşünülerek biyosorpsiyon hızına ters bir etki yapmayacakları için 2. ve 3. basamaklar hız belirleyici olmaktadır. 2. basamak biyosorpsiyonun ilk birkaç dakikasında ve 3. basamak ise prosesin geri kalan daha uzun bir süresinde meydana geldiği için biyosorpsiyon hızının tam olarak etkileyen basamağın 3. basamak olduğu söylenebilir.

Genelde adsorpsiyon prosesleri çözünmüş maddenin biyokütlenin bağlanma bölgelerine olan dış kütle transferi, partikül içi difüzyonu ve adsorpsiyonu gibi çeşitli mekanizmalar sayesinde ilerler. Spesifik adsorpsiyon uygulamalarına ilişkin fazla miktarda uygun veri bulunmadıkça hız kontrol edici adımların belirlenmesi imkansız olmaktadır. Bu yüzden adsorpsiyonun denge durumu şartlarına dayalı ampirik dizayn prosedürleri, biyokütle boyutu ve performansının belirlenmesinde en yaygın yöntemler olarak kabul edilmektedir [3].

1.1.9. Biyosorpsiyon İşlemini Etkileyen Faktörler

1.1.9.1. pH

Spesifik ve basit tüm biyosorbentler üzerine metal iyonlarının adsorpsiyonunun pH'a bağlı olduğu çok önceden beri bilinmektedir. Hafif asidik pH değerlerinin metal adsorpsiyonu için daha uygun olduğu görülmektedir. Metal alınımının pH'a bağlı olması sorpsiyon ortamının yüzeyindeki protonlar ve metal katyonları arasındaki rekabetle ilgilidir. Hücre yüzeyleriyle

metal arasındaki bu farklı kimyasal etkileşimler sonucunda metal iyonları için çeşitli pH’larda farklı tutma kapasiteleri olabilmektedir. Metal alımı ve pH arasındaki ilişki bakteriyel hücre duvarındaki çeşitli fonksiyonel gruplara bağlı olarak değişmektedir. Adsorpsiyon ortamının pH’ı metal iyonlarının mikroorganizma yüzeyine adsorpsiyonunu etkileyen en önemli parametredir. Farklı pH’larda farklı adsorpsiyon hızlarının elde edilmesi metal iyonları ile biyokütle arasındaki kimyasal etkileşimin bir sonucudur. Düşük pH’larda hücre yüzey yükü pozitif ve H_3O^+ iyonları hücreye bağlanmak için pozitif metal katyonları ile yarıştıklarından hızı azaltıcı etki gösterirler. Hücrelerin izoelektrik noktaları üzerindeki pH değerlerinde, hücre yüzeyi net negatif yüke sahiptir. Karboksil, fosfat, imidazol ve amino grupları gibi ligandların iyonik hali metal katyonlarının biyokütleyle bağlanmasını hızlandırır [2].

1.1.9.2. Sıcaklık

Mikrobiyal hücrelerle metal biyosorpsiyonunda gerçekleşen enerjiye bağlı mekanizmalardan dolayı adsorpsiyon ortamının sıcaklığı önemlidir. Bazı adsorpsiyonlar endotermik olsa da, bir çok adsorpsiyon işlemi egzotermiktir. Düşük sıcaklıklardan başlayarak sıcaklığın artırılması ile biyosorbent yüzeyindeki porların genişlemesiyle biyosorpsiyon hızı artmaktadır. Ancak genelde 25°C’nin üzerindeki sıcaklıklarda adsorpsiyonun egzotermik özelliğinden dolayı hızlar azalmaktadır. Ağır metal iyonlarının mikroorganizmalara zayıf bağlarla bağlanması pasif veya fiziksel adsorpsiyonun bir sonucudur. Yüksek sıcaklıklarda bu bağlar kopar ve adsorpsiyonun tersinir olmasından desorpsiyonun önemi artarak hızı azaltıcı bir etki gösterir [2].

1.1.9.3. Biyokütle Uygulanan Ön İşlemler

Bir biyokütlenin biyosorpsiyon özellikleri (örneğin; giderim kapasitesi) çeşitli ön işlem veya modifikasyon teknikleri kullanılarak artırılabilir veya değiştirilebilir. Bu etkiler her mikroorganizma türü için farklıdır. Biyokütlenin türüne göre değişim gösterebilen ön işlemler fiziksel ve kimyasal olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Fiziksel ön işlemlerde ısıtma, otoklavlama, dondurucu etki ile kurutma ve kaynatma teknikleri kullanılırken, kimyasal ön işlemlerde ise asetik asit, alkali ve organik kimyasallar kullanılmaktadır.

İncelenen çalışmalarda, Cr(VI), Cd(II), Ni(II) ve Cu(II) iyonlarının mikroorganizmalarla giderim veriminin artırılması amacıyla uygulanan bu ön işlemlerin biyokütlenin etkinliğini arttırarak daha verimli biyosorpsiyon gerçekleştiği görülmüştür [2].

1.1.9.4. Temas Süresi ve Biyokütle Konsantrasyonu

Biyosorpsiyon işlemiyle yapılan çalışmalar, biyosorpsiyon verimliliğinin çözeltideki biyokütle konsantrasyonundaki artışa büyük oranda bağlı olduğunu göstermektedir. Çünkü çözeltideki biyokütle miktarı arttıkça ağır metalin bağlanma noktaları da artmıştır. Yapılan çalışmalarda, ancak belirli biyokütle konsantrasyonunda maksimum biyosorpsiyon kapasitesine ulaşıldığı gözlenmiştir.

Temas süresi biyosorpsiyon verimliliğini etkileyen diğer önemli faktörlerden biridir. Temas zamanına karşı farklı biyokütle konsantrasyonlarında ağır metallerin biyosorpsiyon kapasitesindeki değişim incelendiğinde denge anındaki biyosorpsiyon kapasitesinin biyokütle konsantrasyonu ile etkilendiği görülmüştür. Biyokütle konsantrasyonundaki artış ile biyosorpsiyon kapasitesindeki düşüş biyosorpsiyon reaksiyonu süresince doygunluğa ulaşmadan kalan biyokütle üzerindeki bağlayıcı bölgelerden dolayıdır [2].

1.1.9.5. Biyokütle Miktarı

Biyosorpsiyon proseslerine etki eden diğer önemli faktörlerden biri de biyokütle miktarıdır. Genel bir kural olarak sabit bir başlangıç metal konsantrasyonunda biyosorpsiyon proseslerinin gerçekleştiği çözelti ortamındaki biyokütle miktarının artması ile biyosorpsiyon verimi artmaktadır. Başlangıç konsantrasyonu sabit iken çözeltide kalan iyon konsantrasyonunun azalması ve biyokütle miktarının artması ile biyosorpsiyon kapasitesi azalmaktadır. Yu vd. (2003) akçaağaç talaşı ile gerçekleştirdikleri Cr (VI) giderimi çalışmasında biyokütle miktarı artışı ile biyosorpsiyon veriminin artmasının sebebinin, daha yüksek biyokütle miktarlarında iyonlar açısından daha büyük bağlanma bölgeleri veya yüzey alanı oluşması şeklinde ifade etmişlerdir [2].

1.1.9.6. Karıştırma Hızı

Ağır metal biyosorpsiyonuna etki eden diğer bir faktör ise prosesin gerçekleştiği ortamdaki karıştırma hızıdır. Sentetik kauçuk ham maddesi tozu üzerine palmiye yağı adsorpsiyonunu incelediği çalışmasında karıştırma hızının artması ile yağ adsorpsiyonu hızının veya gideriminin arttığını belirtmiştir. Karıştırma hızının artması ile adsorpsiyon hızını yavaşlatan yüzey film kalınlığında azalma meydana geldiğini ve böylelikle yağın partikül yüzeyine daha kolay ulaştığını ifade etmiştir [2].

Biyosorpsiyon işleminin verimliliğini etkileyen bu faktörlerin etkisi her mikroorganizma türü için farklıdır. Sıcaklık ve pH gibi biyosorpsiyonda çok fazla önemi olan parametrelerin biyosorpsiyon sürecine etkisi birbirinden bağımsız olup, sıcaklık ve pH'ın aynı veya zıt yönde

azalış ve artışlarından sistem farklı yönde etkilenmektedir. Bunun yanında farklı mikroorganizma çeşitleri aynı ortam koşullarında farklı giderim kapasiteleri sağlayabilmektedir. Tüm bu nedenlerden dolayı farklı türlerle yapılan biyosorpsiyon çalışmaları, geniş pH ve sıcaklık aralıklarında yapılarak optimum işletme koşulları belirlenebilir [2].

Sonuç olarak; metallerin biyolojik yöntemlerle uzaklaştırımı ve geri kazanımı, kullanılan klasik fiziksel – kimyasal arıtım yöntemlerine kıyasla ekonomik ve pratik olması; yüksek verimlilik içermesi nedeniyle tercih edilmekte ve ilgili biyoteknolojik süreçlerde kullanılmaktadır. Biyolojik süreçler arasında da mayalar, mantarlar ve özellikle bakterilerle yapılan biyosorpsiyon çalışmaları daha etkin ve verimli bulunmuştur [8].

Kıvanç ve arkadaşları (1996), krom içeren endüstriyel atık sudan izole edilen *Bacillus subtilis* ile krom iyonlarının adsorbsiyonunu, bununla birlikte farklı pH ve başlangıç iyon konsantrasyonlarının (25-200 ppm) *Bacillus subtilis*'e krom adsorbsiyonundaki etkilerini test etmiş ve atık sulardan krom iyonlarının giderilmesinde optimum koşulları araştırmışlardır. Krom iyonlarının *B. subtilis* hücrelerine adsorbsiyonu ortamın pH'sına bağlı olarak değişmiştir. Düşük pH'da adsorbsiyon oranı diğer pH'lara göre daha yüksek olmuştur. Maksimum adsorbsiyon pH 1'de meydana gelmiştir. Ortamdaki başlangıç krom iyonu konsantrasyonu arttıkça metal adsorbsiyon hızı da artmıştır. Maksimum adsorbsiyon oranı 100 ile 200 mg/l başlangıç iyon konsantrasyonunda elde edilmiştir [13].

Özer ve arkadaşları (1996), kurşun (II) iyonlarının *Rhizopus arrhizus*'a adsorbsiyonuna ortam koşullarının etkisini kesikli karıştırmalı bir kapta araştırmışlardır. Başlangıç adsorbsiyon hızına pH, sıcaklık, kurşun (II) iyon derişimleri ve mikroorganizma derişimlerinin etkili olduğunu gözlemişlerdir. Başlangıç pH'sının 4.0-4.5, sıcaklığın 30°C, başlangıç kurşun (II) iyon derişiminin 100 mg/l ve mikroorganizma derişiminin 0.25 g/l değerlerinde en yüksek adsorbsiyon hızları elde etmişlerdir [16].

Özer ve Özer (1998), nikel(II) iyonlarının yeşil alglerden inaktif *Cladophora crispata*'ya adsorpsiyonu kesikli çalışılan karıştırmalı bir kapta incelemişlerdir. Başlangıç pH'sı, sıcaklık, başlangıç metal iyon derişimi ve mikroorganizma derişiminin adsorpsiyon hızına etkilerini araştırarak; en uygun ortam koşulları; başlangıç pH'sını 5.0, sıcaklığı 25°C, başlangıç metal iyon derişimini 200 mg/L ve mikroorganizma derişimini 1.00 g/L olarak belirlenmiştir [14].

Özdemir ve arkadaşları (2003), Aktif çamurdan izole edilen *Ochobactrum anthropi* ile Cr(II), Cd(II) ve Cu(II) iyonlarının adsorpsiyonunu çalışmışlardır. pH etkisi, metal konsantrasyonu ve etkileşim zamanının etkisini incelemişlerdir. Optimum adsorpsiyon pH değerlerini; Cr(II), Cd(II) ve Cu(II) için sırasıyla; 2.0, 8.0 ve 3.0 olarak belirlemişlerdir [15].

İlhan ve arkadaşları (2004), endüstriyel atıksulardan krom, kurşun ve bakır iyonlarının mikroorganizmalar tarafından biyosorpsiyonunu araştırmışlardır. Mikroorganizmalar topraktan izole edilmiş ve araştırmada *Staphylococcus saprophyticus* olarak tanımlanan bakteri kullanılmıştır. pH, sıcaklık ve başlangıç metal iyonu konsantrasyonunun biyosorpsiyon kapasitesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Optimum pH değerleri krom, kurşun ve bakır iyonlarının biyosorpsiyonu için sırasıyla 2.0, 4.5 ve 3.5 bulunmuştur. Maksimum adsorpsiyon Cr^{6+} , Pb^{2+} ve Cu^{2+} için, 193.66 mg Cr^{6+} /l; 100 mg Pb^{2+} /l ve 105 mg Cu^{2+} /l başlangıç konsantrasyonlarında gözlenmiş ve bu koşullar altında biyosorpsiyon değerleri sırasıyla 88.66 mg Cr^{6+} /l; 100 mg Pb^{2+} /l ve 44.94 mg Cu^{2+} /l bulunmuştur [17].

Elmacı ve arkadaşları (2005), Yaygın olarak kullanılan 3 alg türünü (*Chara sp.*, *Cladophora sp.* ve *Chlorella sp.*) Zn(II), Cd(II), Co(II) gibi ağır metal iyonlarının biyosorpsiyonunda kullanmışlardır. Yapılan çalışmada ağır metal (20-60 mg/l) çözeltilerle farklı pH aralığında (2.0-8.0) alg türlerinin biyosorpsiyonunu incelemişlerdir. En iyi adsorpsiyonun sağlandığı optimum pH *Cladophora sp.* ile yapılan çalışmada Cd(II), Zn(II) ve Co(II) için sırasıyla; 6.0; 5.0 ve 5.0; *Chara sp.*'de 6.0; 5.0 ve 6.0; *Chlorella sp.* ile yürütülen çalışmada ise 5.0; 6.0 ve 5.0 olarak belirlenmiştir. Araştırmada en iyi giderim *Cladophora sp.* ile elde edilmiştir [9].

Yazıcı (2007), bakır (Cu^{2+}) ve krom (Cr) iyonlarının *Marrubium globosum* ssp. *globosum* biyokütlesi kullanarak sulu çözeltilerden biyosorpsiyonu incelemiştir. Elde edilen sonuçlarda (Cu^{2+}) ve (Cr) biyosorpsiyonunun optimum pH değerleri sırası ile 5.5 ve 3.0 olarak bulunmuş, her iki metal iyonunun biyosorpsiyonu 60 dakikada dengeye ulaşmıştır. Her iki metal iyonunun biyosorpsiyonunun başlangıç metal konsantrasyonu ve başlangıç sıcaklık artışı ile arttığı gözlenmiştir [2].

Çabuk ve arkadaşları (2007), endüstriyel olarak alkol üretiminde kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin (Cu^{2+}) iyonu giderim yeteneklerini araştırmışlardır. Yaptıkları araştırmada; pH, başlangıç (Cu^{2+}) iyon konsantrasyonu ve süre gibi biyosorpsiyon parametleri için optimizasyon çalışmaları yapmışlardır. En yüksek (Cu^{2+}) biyosorpsiyon kapasitesine 58.8 mg/g değeri ile 200 mg/l başlangıç (Cu^{2+}) iyonu konsantrasyonunda, pH 5.0 değerinde ve 5 dakika süre içerisinde ulaşmışlardır [4].

2. MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Bakteri Kùltürleri

Araştırmada biyosorpsiyon yöntemiyle bakır giderimi için Fırat Üniversitesi Mikrobiyoloji Laboratuvarından temin edilen *Rhizobium phaseoli* CIAT 899 suşu ve 2 adet *R. phaseoli* izolatı kullanılmıştır.

2.1.2. Besiyerleri

Araştırmada *Rhizobium* cinsi bakterilerin geliştirilmesinde Yeast Ekstrakt Mannitol (YEM) sıvı besiyeri kullanılmıştır.

Yeast Ekstrakt Mannitol (YEM) sıvı besiyeri

<u>Maddeler</u>	<u>g / lt</u>
Mannitol	10.0
KH ₂ PO ₄	0.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.2
NaCl	0.1
Tripton	2.5
Pepton	2.5
Yeast Ekstrakt	2.5

Maddeler 1 litre distile su içersinde çözündür÷lmüştür. 0.01 N HCl ve 0.01 N NaOH kullanılarak besiyerinin pH değeri 7'ye ayarlanarak 121 °C de 15 dakika süreyle sterilize edilmiştir.

2.2. Metot

2.2.1. Biyokùtle Üretimi

YEM agarlı stok kùltürden alınan bakteri örnekleri; içersinde 100 ml YEM sıvı besiyeri bulunan 250 ml'lik erlenlere aktararak ön zenginleştirme yapılmıştır. Zenginleřtirmenin yapıldığı erlenlerden, içersinde 100 ml YEM sıvı besiyeri bulunan erlenlere 0.1 ml kùltür olacak şekilde 3 paralel olarak aşılınmış ve 28 °C de çalkalamalı etüvde 150 rpm de inkübe edilmiştir.

Besi ortamlarındaki toplam hücre sayısı canlı sayım (plak kültür metodu) yöntemi ve spektrofotometrik metot kullanılarak 10^5 hücre/ml olarak hesaplanmıştır.

2.2.2. Cu Çözeltisinin Hazırlanması

$\text{Cu}_2\text{SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Merck) kullanılarak 1 gr (Cu^{2+}) için gerekli olan miktar orantı ile hesaplanarak tartılmış ve 1 lt ye distile su ile tamamalanarak 1 gr/l lik stok (Cu^{2+}) çözeltisi hazırlanmıştır. Denemeler sırasında bu stok çözeltiden distile su ile seyreltme yapılarak gerekli konsantrasyonlardaki çözeltiler hazırlanmıştır. Gerekli pH değerini ayarlamak için 1 N H_2SO_4 ve 1 N NaOH kullanılmış, hazırlanan (Cu^{2+}) çözeltilerinin atomik absorpsiyon cihazında ölçümleri yapılarak konsantrasyonları kontrol edilmiştir.

Çalışmada yapılan bütün metal analizleri atomik absorpsiyon spektrofotometresinde hava asetilen alevinde gerçekleştirilmiştir (Perkin Elmer Analyst 400 Model Atomic Absorption Spectrometer) [4].

2.2.3. Biyosorpsiyon Çalışması

Rhizobium phaseoli ile en uygun (Cu^{2+}) iyonu giderim koşullarının belirlenmesi amacıyla pH, başlangıç (Cu^{2+}) iyon konsantrasyonu, süre gibi parametreler incelenmiştir. pH çalışması için; 3.0-7.0 aralığında, başlangıç (Cu^{2+}) iyon konsantrasyonu için; 50-250 mg/l aralığında ve 5-120 dakika süre ile değişen aralıklarda aralıklarında örnekler alınmış (Cu^{2+}) ölçümleri yapılmıştır.

Biyosorpsiyon kapasite değerini belirlemek için aşağıdaki formülden yararlanılmıştır.

$$Q = [(Co - Ci) \cdot V] / Mb$$

Burada; Q, gram biyokütle başına biyosorbe edilen mg metal miktarı (g/mg); Co, başlangıç (Cu^{2+}) iyon konsantrasyonu (mg/l); Ci, biyosorpsiyon çalışmasından sonra çözeltide kalan Cu iyon konsantrasyonu (mg/l); V, çalışma hacmi (l); Mb, ilave edilen biyokütle miktarını (g) ifade etmektedir [4].

3. BULGULAR

Bu araştırmada *Rhizobium phaseoli* bakterileri ile en uygun (Cu^{2+}) iyonu giderim koşullarının belirlenmesi amacıyla; pH, başlangıç (Cu^{2+}) iyon konsantrasyonu ve süre gibi biyosorpsiyon olayına etki eden parametreler incelenmiştir. pH çalışması için; pH 3, pH 4, pH 5 ve pH 6’da, başlangıç (Cu^{2+}) iyonu konsantrasyonu için; 50, 100, 150, 200 ve 250 mg/l konsantrasyonlarda ve süre için; 5, 30, 60, 90 ve 120. dakikalarda çalışılarak (Cu^{2+}) mleri yapılmıştır.

Araştırma sonucunda elde edilen bulgular pH deėerlerine göre tablolar halinde verilmiřtir.

Tablo 1: pH 3’de farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) mleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	5.Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	49.78	49.02	49.50	49.43	± 0.38
	100	97.15	97.69	98.01	97.61	± 0.43
	150	148.91	148.79	148.80	148.83	± 0.06
	200	197.40	197.19	197.39	197.32	± 0.11
	250	236.44	236.29	236.33	236.35	± 0.07
38 F	50	46.00	44.37	44.72	45.03	± 0.85
	100	88.45	88.65	88.35	88.81	± 0.15
	150	124.75	125.87	123.60	124.74	± 1.13
	200	169.55	168.77	169.20	169.17	± 0.39
	250	200.50	200.90	200.78	200.72	± 0.20
CIAT 899	50	49.77	49.25	49.01	49.34	± 0.38
	100	99.60	98.99	99.34	99.31	± 0.30
	150	114.50	114.29	114.33	114.37	± 0.11
	200	196.87	196.54	196.73	196.71	± 0.16
	250	242.95	243.02	242.91	242.96	± 0.05

Tablo 1(Devamı): pH 3’de farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu²⁺) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	30. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	48.25	48.11	48.19	48.18	±0.07
	100	95.05	95.97	95.89	95.63	±0.50
	150	145.12	145.22	145.15	145.16	±0.05
	200	188.91	188.83	188.87	188.87	±0.04
	250	227.46	227.58	227.54	227.52	±0.06
38 F	50	45.00	44.37	45.47	44.94	±0.55
	100	86.40	87.02	86.87	86.76	±0.32
	150	124.37	124.25	124.65	124.42	±0.20
	200	162.55	162.90	162.85	162.76	±0.18
	250	198.60	198.44	198.85	198.63	±0.20
CIAT 899	50	42.59	42.30	42.48	42.45	±0.14
	100	91.35	90.89	91.10	91.11	±0.23
	150	114.02	113.96	113.97	113.98	±0.03
	200	164.35	164.49	164.41	164.41	±0.07
	250	192.03	191.98	192.09	192.03	±0.05

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	60. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3.Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	49.78	49.61	48.69	49.36	±0.58
	100	74.01	73.87	73.90	73.92	±0.07
	150	144.36	144.45	144.38	144.39	±0.04
	200	187.14	187.09	187.10	187.11	±0.02
	250	226.79	226.97	226.88	226.88	±0.09
38 F	50	44.62	44.89	44.24	44.58	±0.32
	100	85.07	85.25	85.17	85.16	±0.09
	150	123.77	123.68	123.91	123.78	±0.11
	200	154.97	155.25	155.05	155.09	±0.14
	250	199.35	199.69	199.79	199.61	±0.23
CIAT 899	50	41.50	41.76	41.71	41.65	±0.13
	100	86.80	86.77	86.73	86,76	±0.03
	150	112.05	111.88	112.12	112.01	±0.12
	200	132.06	132.25	132.14	132.15	±0.09
	250	187.60	187.08	186.97	187.21	±0.33

Tablo 1(Devamı): pH 3’de farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	90. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	49.55	49.48	49.79	49.60	± 0.16
	100	95.18	95.09	95.13	95.13	± 0.04
	150	101.01	100.98	101.08	101.02	± 0.05
	200	115.71	113.59	113.67	114.32	± 1.20
	250	143.21	143.37	143.29	143.29	± 0.08
38 F	50	38.20	38.25	38.31	38.25	± 0.05
	100	85.00	84.89	85.05	84.98	± 0.08
	150	118.40	118.07	118.22	118.23	± 0.16
	200	145.65	145.70	145.54	145.63	± 0.08
	250	186.10	186.24	186.70	186.34	± 0.31
CIAT 899	50	32.21	31.86	32.11	32.06	± 0.18
	100	65.50	67.71	66.83	66.68	± 1.11
	150	87.70	87.70	87.19	87.53	± 0.29
	200	123.30	124.00	123.89	123.73	± 0.37
	250	149.65	150.35	149.99	149.99	± 0.35

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	120. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	49.65	49.77	49.41	49.61	± 0.18
	100	98.34	98.28	98.41	98.34	± 0.06
	150	84.00	83.61	83.79	83.80	± 0.19
	200	114.23	114.94	114.49	114.55	± 0.35
	250	144.79	143.71	143.65	144.05	± 0.64
38 F	50	38.27	38.60	38.45	38.44	± 0.16
	100	79.72	80.08	79.93	79.90	± 0.18
	150	116.95	116.40	116.69	116.68	± 0.27
	200	140.18	140.09	140.12	140.13	± 0.04
	250	195.45	195.66	195.21	195.44	± 0.22
CIAT 899	50	35.45	35.99	35.61	35.68	± 0.27
	100	70.65	71.06	70.84	70.85	± 0.20
	150	90.05	89.87	90.12	90.01	± 0.12
	200	126.89	127.17	126.66	126.90	± 0.25
	250	152.12	151.77	151.64	151.84	± 0.24

Tablo 2. pH 3’de farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri (mg/g)

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	Biyosorpsiyon Değerleri (mg/g)				
		5. dk	30. dk	60.dk	90. dk	120. dk
23 F	50	0.28	0.91	0.32	0.20	0.19
	100	1.19	2.18	13.04	2.43	0.83
	150	0.58	2.42	2.80	24.49	45.83
	200	1.34	5.56	6.44	42.84	42.72
	250	6.82	11.24	11.56	53.35	52.97
38 F	50	2.48	2.53	2.71	5.87	5.78
	100	5.59	6.62	7.42	7.51	10.05
	150	12.63	12.79	13.11	15.88	16.66
	200	15.41	18.62	22.10	27.18	29.93
	250	24.64	25.68	25.19	31.83	27.28
CIAT 899	50	0.33	3.77	4.17	8.97	7.16
	100	0.34	4.44	6.62	16.66	14.57
	150	17.81	18.01	18.99	31.23	29.99
	200	1.64	17.79	33.92	38.13	36.55
	250	3.52	29.00	31.39	50.00	49.08

Rhizobium phaseoli 23F izolatı; pH 3’de en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 90. dakikada 53.35 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 120. dakikada 0.19 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli 38F izolatı; pH 3’de en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonunda 90. dakikada 31.83 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 5. dakikada 2.48 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli CIAT 899 suşu; pH 3’de en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 90. dakikada 50.00 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 5.dakikada 0.33 mg/g olarak tespit edilmiştir.

pH 3’de en iyi (Cu^{2+}) iyonu giderimi *Rhizobium phaseoli* 23F izolatında 250 mg/l konsantrasyonda 90.dakikada 53.35 mg/g, en az (Cu^{2+}) iyonu giderimi 50 mg/l konsantrasyonda 120. dakikada 0.19 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Tablo 3. pH 4’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu²⁺) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	5. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	49.60	48.71	49.80	49.37	±0.58
	100	93.85	93.25	94.00	93.70	±0.39
	150	148.35	149.05	148.97	148.79	±0.38
	200	185.90	186.40	186.77	186.35	±0.43
	250	247.20	247.40	248.08	247.56	±0.46
38 F	50	48.25	47.97	48.09	48.10	±0.14
	100	99.60	99.10	98.99	99.23	±0.32
	150	145.59	146.29	145.97	145.95	±0.35
	200	196.79	197.09	197.15	197.01	±0.19
	250	225.80	227.07	226.43	226.43	±0.63
CIAT 899	50	49.78	49.05	49.54	49.45	±0.37
	100	99.07	99.54	99.39	99.33	±0.24
	150	143.98	143.54	144.69	144.07	±0.58
	200	197.85	198.67	198.34	198.28	±0.41
	250	249.78	248.14	148.55	248.82	±0.85

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	30. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	47.10	47.05	47.50	47.21	±0.24
	100	93.75	94.09	94.11	93.98	±0.20
	150	144.10	143.55	143.87	143.84	±0.27
	200	184.05	184.55	185.00	184.53	±0.47
	250	246.50	247.20	246.90	246.86	±0.35
38 F	50	41.70	42.19	42.02	41.97	±0.24
	100	94.90	95.61	95.20	95.23	±0.35
	150	146.79	146.66	146.68	146.71	±0.07
	200	191.40	192.10	192.83	192.11	±0.71
	250	226.50	225.69	226.44	226.21	±0.45
CIAT 899	50	40.85	41.18	41.24	41.09	±0.21
	100	87.30	86.97	87.22	87.16	±0.17
	150	114.20	113.94	114.48	114.20	±0.27
	200	168.34	169.11	168.67	168.70	±0.38
	250	190.65	191.25	190.79	190.89	±0.31

Tablo 3 (Devam). pH 4’deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu²⁺) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	60. Dakika				
		1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	47.55	46.30	46.91	46.92	±0.62
	100	94.54	94.95	94.48	94.65	±0.25
	150	143.55	143.45	143.95	143.98	±0.26
	200	188.94	189.08	189.68	189.23	±0.39
	250	245.00	245.25	245.18	245.14	±0.12
38 F	50	38.40	39.30	39.70	39.13	±0.66
	100	94.80	94.75	94.45	94.66	±0.18
	150	148.78	148.17	147.90	148.28	±0.45
	200	191.40	191.15	191.51	191.35	±0.18
	250	211.25	219.99	210.55	213.93	±5.25
CIAT 899	50	40.05	40.15	40.24	40.14	±0.09
	100	85.40	86.45	87.11	86.32	±0.86
	150	111.90	112.27	112.64	112.27	±0.37
	200	154.80	155.23	155.89	155.30	±0.54
	250	187.60	186.70	187.09	187.13	±0.45

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	90. Dakika				
		1.Paralel	2.Paralel	3.Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	49.20	48.78	49.59	49.19	±0.40
	100	96.33	95.66	96.02	96.00	±0.33
	150	147.35	146.69	147.83	147.29	±0.57
	200	188.97	189.46	189.40	189.27	±0.26
	250	243.20	242.55	242.99	242.91	±0.33
38 F	50	48.89	48.60	48.77	48.75	±0.14
	100	93.33	94.95	93.57	93.95	±0.87
	150	149.44	148.98	149.71	149.37	±0.36
	200	196.15	196.90	197.35	196.80	±0.60
	250	218.55	208.12	214.02	213.56	±5.22
CIAT 899	50	31.90	32.09	32.65	32.21	±0.38
	100	87.30	88.21	87.81	87.77	±0.45
	150	112.90	112.08	113.02	112.66	±0.51
	200	131.54	130.85	131.88	131.42	±0.52
	250	159.45	158.68	159.59	159.24	±0.49

Tablo 3 (Devam). pH 4'deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu²⁺) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	120. Dakika				
		1.Paralel	2.Paralel	3.Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	50.00	49.81	49.77	49.86	±0.12
	100	99.98	99.70	98.74	99.47	±0.65
	150	148.54	148.64	148.96	148.71	±0.21
	200	195.45	195.97	195.28	195.56	±0.35
	250	248.95	247.97	248.15	248.35	±0.52
38 F	50	49.91	49.60	49.50	49.67	±0.21
	100	94.10	94.97	94.26	94.44	±0.46
	150	149.91	149.95	149.88	149.91	±0.03
	200	196.54	196.94	196.89	196.79	±0.21
	250	238.15	238.55	238.25	238.31	±0.20
CIAT 899	50	47.87	47.55	47.63	47.68	±0.16
	100	92.55	93.69	93.21	93.15	±0.57
	150	123.05	122.59	122.66	122.76	±0.24
	200	148.55	149.24	148.90	148.89	±0.34
	250	238.50	239.00	238.77	238.75	±0.25

Tablo 4. pH 4'deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri (mg/g)

Bakteriler	Konsantrasyon Mg/l	Biyosorpsiyon Değerleri (mg/g)				
		5. dk	30. dk	60.dk	90. dk	120. dk
23 F	50	0.31	1.39	1.54	0.40	0.07
	100	3.15	3.01	2.67	2.00	0.26
	150	0.60	3.08	3.01	1.35	0.64
	200	6.82	7.73	5.38	5.36	2.22
	250	1.22	1.57	2.43	3.54	0.82
38 F	50	0.95	4.01	5.43	0.62	0.16
	100	0.38	2.38	2.67	3.02	2.78
	150	2.02	1.64	0.86	0.31	0.04
	200	1.49	3.94	4.32	1.60	1.60
	250	11.78	11.89	18.03	18.22	1.46
CIAT 899	50	0.27	4.45	4.93	8.89	1.16
	100	0.33	6.42	6.84	6.11	3.42
	150	2.96	17.90	18.86	18.67	13.62
	200	0.86	15.65	22.35	34.29	25.55
	250	0.59	29.55	31.43	45.38	5.62

Rhizobium phaseoli 23F izolatı; pH 4'de en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 200 mg/l konsantrasyonda 30. dakikada 7.73 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 100 mg/l konsantrasyonda 120. dakikada 0.26 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli 38F izolatı; pH 4'de en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 90.dakikada 18.22 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 150 mg/l konsantrasyonda 120.dakikada 0.04 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli CIAT 899 suşu; pH 4'de en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 90. dakikada 45.38 mg/g ile, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 5.dakikada 0.27 mg/g ile elde edilmiştir.

pH 4'de en iyi (Cu^{2+}) iyonu giderimi *Rhizobium phaseoli* CIAT899 suşunda 250 mg/l konsantrasyonda 90.dakikada 45.38 mg/g, en az (Cu^{2+}) iyonu giderimi ise *Rhizobium phaseoli* 38F izolatında 150 mg/l konsantrasyonda 120. dakikada 0.04 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Tablo 5. pH 5'teki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	5 Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	37.45	37.55	38.00	37.66	± 0.29
	100	89.50	89.15	89.20	89.28	± 0.18
	150	121.55	122.40	121.89	121.94	± 0.42
	200	170.10	169.60	169.95	169.88	± 0.25
	250	207.70	208.85	208.50	208.35	± 0.58
38 F	50	44.05	44.95	45.26	44.75	± 0.62
	100	89.45	89.95	89.10	89.50	± 0.42
	150	148.50	148.75	148.64	148.63	± 0.12
	200	192.49	193.23	192.81	192.84	± 0.37
	250	236.90	236.25	236.42	236.19	± 0.33
CIAT 899	50	49.24	49.69	49.89	49.60	± 0.33
	100	89.75	89.60	89.39	89.58	± 0.18
	150	128.90	129.34	129.70	129.31	± 0.40
	200	166.20	166.64	166.45	166.43	± 0.22
	250	202.45	202.77	202.59	202.60	± 0.16

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	30. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	36.69	36.50	36.05	36.41	± 0.32
	100	83.33	83.77	84.20	83.76	± 0.43
	150	120.80	120.15	120.60	120.18	± 0.33
	200	167.55	167.35	167.10	167.33	± 0.22
	250	200.45	201.00	200.78	200.74	± 0.27
38 F	50	43.55	44.25	43.94	43.91	± 0.35
	100	79.55	78.79	79.20	79.18	± 0.38
	150	140.10	140.91	140.26	140.42	± 0.42
	200	189.85	189.50	189.21	189.52	± 0.32
	250	234.90	235.12	235.39	235.13	± 0.24
CIAT 899	50	49.45	48.99	49.36	49.26	± 0.24
	100	86.55	86.01	86.36	86.30	± 0.27
	150	112.70	113.21	113.64	113.18	± 0.47
	200	154.95	155.60	155.34	155.29	± 0.32
	250	200.60	200.05	200.91	200.52	± 0.43

Tablo 5 (devam). pH 5'teki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	60. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	37.05	37.55	37.91	37.50	± 0.43
	100	78.15	78.90	79.21	78.75	± 0.54
	150	116.00	116.25	116.65	116.30	± 0.32
	200	152.95	153.60	153.20	153.25	± 0.32
	250	179.60	179.92	180.34	179.95	± 0.37
38 F	50	38.90	38.62	38.10	38.54	± 0.40
	100	84.05	83.56	83.77	83.79	± 0.24
	150	138.90	139.54	139.80	139.41	± 0.46
	200	193.90	194.05	194.33	194.09	± 0.21
	250	225.55	224.99	225.73	225.42	± 0.38
CIAT 899	50	39.85	39.05	39.66	39.52	± 0.41
	100	74.55	74.30	74.01	74.28	± 0.27
	150	115.89	116.35	116.55	116.26	± 0.33
	200	149.99	150.09	150.21	150.09	± 0.11
	250	193.65	193.99	194.21	193.95	± 0.28

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	90. Dakika				
		1.Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	46.45	45.99	45.69	46.04	± 0.38
	100	96.50	96.05	96.54	96.36	± 0.27
	150	148.90	149.25	149.74	149.29	± 0.42
	200	197.85	198.67	198.89	198.47	± 0.54
	250	237.10	237.75	237.45	237.43	± 0.32
38 F	50	49.80	49.33	49.00	49.37	± 0.40
	100	89.55	89.01	88.92	89.16	± 0.34
	150	149.13	148.76	149.22	149.03	± 0.24
	200	194.55	194.23	194.01	194.26	± 0.27
	250	240.90	241.23	241.36	241.16	± 0.23
CIAT 899	50	48.21	48.16	48.59	48.32	± 0.23
	100	98.90	99.10	99.33	99.11	± 0.21
	150	148.31	148.11	148.76	148.39	± 0.35
	200	189.80	189.71	189.66	189.72	± 0.07
	250	236.90	237.05	237.05	237.00	± 0.08

Tablo 5 (devam). pH 5'teki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	120. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	49.50	49.19	49.83	49.50	± 0.32
	100	99.54	99.06	99.29	99.29	± 0.24
	150	148.90	149.55	149.78	149.41	± 0.45
	200	198.49	198.87	198.24	198.53	± 0.31
	250	238.10	238.55	238.28	238.31	± 0.22
38 F	50	49.00	49.36	49.84	49.40	± 0.42
	100	88.55	89.60	89.79	89.31	± 0.66
	150	148.99	149.45	149.79	149.41	± 0.40
	200	194.95	194.05	194.30	194.43	± 0.46
	250	242.90	243.49	243.77	243.38	± 0.44
CIAT 899	50	49.61	49.84	49.79	49.74	± 0.12
	100	99.85	99.75	99.92	99.84	± 0.08
	150	148.93	149.22	149.67	149.27	± 0.37
	200	189.55	189.74	189.96	189.75	± 0.20
	250	241.80	242.00	241.79	241.86	± 0.11

Tablo 6. pH 5'deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri (mg/g)

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	Biyosorpsiyon Değerleri (mg/g)				
		5. dk	30. dk	60.dk	90. dk	120. dk
23 F	50	6.17	6.79	6.25	1.98	0.25
	100	5.36	8.12	10.62	6.82	0.35
	150	14.03	14.91	16.85	0.35	0.29
	200	15.06	16.33	23.37	0.76	0.73
	250	20.82	24.63	35.02	6.28	5.84
38 F	50	2.62	3.04	5.73	0.31	0.30
	100	5.25	10.41	8.10	5.42	5.34
	150	0.68	4.79	5.29	0.48	0.29
	200	3.58	5.24	2.95	2.87	2.78
	250	6.90	7.43	12.29	4.42	3.31
CIAT 899	50	0.20	0.37	5.24	0.84	0.13
	100	5.21	6.85	12.86	0.44	0.08
	150	10.34	18.41	16.87	0.80	0.36
	200	16.78	22.35	24.95	5.14	5.12
	250	23.70	24.74	28.02	6.50	4.50

Rhizobium phaseoli 23F izolatı; pH 5'te en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 60. dakikada 35.02 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 120. dakikada 0.25 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli 38F izolatı; pH 5'te en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 60.dakikada 12.29 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 150 mg/l konsantrasyonda 120.dakikada 0.29 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli CIAT 899 suşu; pH 5'te en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 60. dakikada 28.02 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 100 mg/l konsantrasyonda 120.dakikada 0.08 mg/g olarak tespit edilmiştir.

pH 5'de en iyi (Cu^{2+}) iyonu giderimi *Rhizobium phaseoli* 23F izolatında 250 mg/l konsantrasyonda 60.dakikada 35.02 mg/g, en az (Cu^{2+}) iyonu giderimi ise *Rhizobium phaseoli* CIAT 899 kontrol suşunda 100 mg/l konsantrasyonda 120. dakikada 0.08 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Tablo 7. pH 6'deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu²⁺) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	5. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	36.60	35.94	36.18	36.24	±0.33
	100	90.15	89.95	89.98	90.02	±0.10
	150	98.99	99.41	99.23	99.21	±0.21
	200	140.95	141.21	141.10	141.08	±0.13
	250	193.45	193.55	193.62	193.54	±0.08
38 F	50	48.45	48.97	48.88	48.76	±0.27
	100	90.30	90.41	90.55	90.42	±0.12
	150	105.45	105.69	105.38	105.50	±0.16
	200	148.70	148.16	148.67	148.51	±0.30
	250	194.05	194.29	194.18	194.17	±0.12
CIAT 899	50	46.60	46.91	47.24	46.91	±0.32
	100	77.80	77.93	77.23	77.65	±0.37
	150	122.35	122.67	122.73	122.58	±0.20
	200	158.40	158.31	158.30	158.33	±0.05
	250	202.20	202.37	202.49	202.35	±0.14

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	30. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	35.95	34.15	35.55	35.21	±0.94
	100	89.54	89.49	89.77	89.60	±0.14
	150	98.85	98.93	99.01	98.93	±0.08
	200	188.05	187.94	187.79	187.92	±0.13
	250	234.89	235.35	235.20	235.14	±0.23
38 F	50	45.80	46.21	46.09	46.03	±0.21
	100	89.60	89.49	89.77	89.62	±0.14
	150	138.75	139.02	138.76	138.84	±0.15
	200	179.90	179.05	179.48	179.47	±0.42
	250	238.95	239.40	239.06	239.13	±0.23
CIAT 899	50	44.65	43.98	44.26	44.29	±0.33
	100	69.98	70.21	70.34	70.15	±0.18
	150	122.25	122.68	122.87	122.60	±0.31
	200	168.70	168.35	168.57	168.51	±0.17
	250	207.50	207.31	207.74	207.51	±0.21

Tablo 7(Devam). pH 6'deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	60. Dakika				
		1. Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	34.55	34.70	34.28	34.51	± 0.21
	100	84.20	84.60	84.48	84.42	± 0.20
	150	133.98	134.15	134.25	134.12	± 0.13
	200	188.40	188.90	188.68	188.66	± 0.25
	250	235.77	235.47	235.56	235.60	± 0.15
38 F	50	42.05	42.69	42.33	42.35	± 0.32
	100	82.10	82.00	82.17	82.09	± 0.08
	150	139.05	138.95	138.84	138.94	± 0.10
	200	179.30	179.45	179.58	179.44	± 0.14
	250	244.79	245.05	245.34	245.06	± 0.27
CIAT 899	50	47.11	47.29	47.43	47.27	± 0.16
	100	76.40	75.88	76.18	76.15	± 0.26
	150	131.05	130.76	130.59	130.80	± 0.23
	200	169.20	169.64	169.37	169.40	± 0.22
	250	219.50	220.47	219.93	219.96	± 0.48

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	90. Dakika				
		1. Paralel	2.Paralel	3.Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	48.80	48.67	48.75	48.74	± 0.06
	100	91.00	91.44	90.87	91.10	± 0.29
	150	140.51	140.23	140.17	140.30	± 0.18
	200	189.55	189.42	189.17	189.38	± 0.19
	250	243.95	244.40	244.19	244.18	± 0.22
38 F	50	49.91	49.89	49.93	49.91	± 0.02
	100	97.35	97.55	97.63	97.51	± 0.14
	150	139.93	140.11	140.09	140.04	± 0.09
	200	179.45	179.65	179.74	179.61	± 0.14
	250	246.50	245.98	246.19	246.22	± 0.26
CIAT 899	50	49.87	48.99	49.55	49.47	± 0.44
	100	87.35	86.78	87.11	87.08	± 0.28
	150	134.80	135.02	134.93	134.91	± 0.11
	200	177.60	177.81	177.74	177.71	± 0.10
	250	224.02	223.97	224.17	224.05	± 0.10

Tablo 7 (Devam). pH 6'deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki (Cu^{2+}) ölçümleri

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	120. Dakika				
		1.Paralel	2. Paralel	3. Paralel	ORTALAMA	Standart Sapma
23 F	50	48.55	48.69	48.83	48.69	±0.14
	100	97.40	97.94	97..70	97.68	±0.27
	150	141.30	141.48	141.69	141.49	±0.19
	200	195.55	196.01	195.80	195.78	±0.23
	250	244.90	245.11	245.14	245.05	±0.13
38 F	50	49.88	48.87	49.79	49.84	±0.55
	100	98.75	98.45	98.22	98.14	±0.26
	150	147.25	147.84	147.99	147.69	±0.39
	200	179.95	180.30	180.19	180.14	±0.17
	250	248.30	248.68	248.91	248.63	±0.30
CIAT 899	50	49.44	49.88	49.76	49.69	±0.22
	100	88.65	88.79	88.91	88.78	±0.13
	150	146.60	146.31	146.44	146.45	±0.14
	200	189.50	189.43	189.75	189.54	±0.16
	250	235.70	235.44	235.91	235.68	±0.23

Tablo 8. pH 6'deki farklı süre ve konsantrasyonlardaki biyosorpsiyon kapasite değerleri (mg/g)

Bakteriler	Konsantrasyon mg/l	Biyosorpsiyon Değerleri (mg/g)				
		5. dk	30. dk	60.dk	90. dk	120. dk
23 F	50	6.88	7.39	7.74	0.63	0.65
	100	4.99	5.20	7.79	4.45	1.16
	150	25.39	25.53	7.94	4.85	4.25
	200	29.46	6.04	5.67	5.31	2.11
	250	28.23	7.43	7.20	2.91	2.47
38 F	50	0.62	1.98	3.82	0.04	0.08
	100	4.79	5.19	8.95	1.24	0.93
	150	22.25	5.58	5.53	4.98	1.15
	200	25.74	10.26	10.28	10.19	9.93
	250	27.91	5.43	2.47	1.89	0.68
CIAT 899	50	1.54	2.85	1.36	0.26	0.15
	100	11.17	11.92	11.92	6.46	5.61
	150	13.71	13.70	9.60	7.54	1.77
	200	20.83	15.74	15.30	11.14	5.23
	250	23.82	21.24	15.02	12.97	7.16

Rhizobium phaseoli 23F izolatı; pH 6'da en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 200 mg/l konsantrasyonda 5. dakikada 29.46 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 90. dakikada 0.63 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli 38F izolatı; pH 6'da en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 5.dakikada 27.91 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 90.dakikada 0.04 mg/g olarak tespit edilmiştir.

Rhizobium phaseoli CIAT 899 suşu; pH 6'da en yüksek biyosorpsiyon kapasitesi 250 mg/l konsantrasyonda 5. dakikada 23.82 mg/g, en düşük biyosorpsiyon kapasitesi 50 mg/l konsantrasyonda 120.dakikada 0.15 mg/g olarak tespit edilmiştir.

pH 6'da en iyi (Cu^{2+}) iyonu giderimi *Rhizobium phaseoli* 23F izolatında 200 mg/l konsantrasyonda 5.dakikada 29.46 mg/g, en az (Cu^{2+}) iyonu giderimi ise *Rhizobium phaseoli* 38F izolatında 50 mg/l konsantrasyonda 90. dakikada 0.04 mg/g olarak tespit edilmiştir.

4. TARTIŞMA

Kıvanç ve arkadaşları (1996), krom içeren endüstriyel atık sudan izole edilen *Bacillus subtilis* ile krom iyonlarının adsorbsiyonunu, bununla birlikte farklı pH ve başlangıç iyon konsantrasyonlarının (25-200 ppm) *Bacillus subtilis*'e krom adsorbsiyonundaki etkilerini test etmiş ve atık sulardan krom iyonlarının giderilmesinde optimum koşulları araştırmışlardır. Krom iyonlarının *B. subtilis* hücrelerine adsorbsiyonu ortamın pH'sına bağlı olarak değişmiştir. Düşük pH'da adsorbsiyon oranı diğer pH'lara göre daha yüksek olmuştur. Maksimum adsorbsiyon pH 1'de meydana gelmiştir. Ortamdaki başlangıç krom iyonu konsantrasyonu arttıkça metal adsorbsiyon hızı da artmıştır. Maksimum adsorbsiyon oranı 100 ile 200 mg/l başlangıç iyon konsantrasyonunda elde edilmiştir [13]. Çalışmamızda tespit ettiğimiz biyosorpsiyon kapasite değerlerinin değişimi bu çalışmaya uygunluk göstermektedir. Ancak birebir aynı pH değerleri incelenmediği için maksimum biyosorpsiyon değeri çalışmamız içerisinde en düşük pH olan pH 3 de gözlenmiştir.

Özer ve arkadaşları (1996), kurşun (II) iyonlarının *Rhizopus arrhizus*'a adsorbsiyonuna ortam koşullarının etkisini kesikli karıştırmalı bir kapta araştırmışlardır. Başlangıç adsorbsiyon hızına pH, sıcaklık, kurşun (II) iyon derişimleri ve mikroorganizma derişimlerinin etkili olduğunu gözlemişlerdir. Başlangıç pH'sının 4.0-4.5, sıcaklığın 30°C, başlangıç kurşun (II) iyon derişiminin 100 mg/l ve mikroorganizma derişiminin 0.25 g/l değerlerinde en yüksek adsorbsiyon hızları elde etmişlerdir [16]. Çalışmamızda farklı metal iyonu, farklı mikroorganizmalar ve farklı parametreler incelendiği için bu çalışma ile uygunluğu azdır.

Özer ve Özer (1998), Ni(II) iyonlarının yeşil alglerden inaktif *Cladophora crispata*'ya adsorpsiyonu kesikli çalışılan karıştırmalı bir kapta incelemişlerdir. Başlangıç pH'sı, sıcaklık, başlangıç metal iyon derişimi ve mikroorganizma derişiminin adsorpsiyon hızına etkilerini araştırarak; en uygun ortam koşulları; başlangıç pH'sını 5.0, sıcaklığı 25°C, başlangıç metal iyon derişimini 200 mg/L ve mikroorganizma derişimini 1.00 g/L olarak belirlenmiştir [14]. Çalışmamızda *Rhizobium phaseoli* 23F, 38F ve CIAT899 kontrol suşu için biyosorpsiyon kapasitesinin maksimum olduğu ortam koşulları; pH 3'de 250 mg/l metal iyon derişiminde gözlenmiştir.

Özdemir ve arkadaşları (2003), Aktif çamurdan izole edilen *Ochobactrum anthropi* ile Cr(II), Cd(II) ve Cu(II) iyonlarının adsorpsiyonunu çalışmışlar. Öncelikle pH etkisi, metal konsantrasyonu ve etkileşim zamanının etkisini incelemişlerdir. Optimum adsorpsiyon pH değerlerini; Cr(II), Cd(II) ve Cu(II) için sırasıyla; 2.0, 8.0 ve 3.0 olarak belirlemişler [15].

Çalışmamızda bakır için tespit ettiğimiz optimum biyosorpsiyon pH değeri bu çalışma ile uygunluk göstermektedir.

İlhan ve arkadaşları (2004), endüstriyel atıksulardan krom, kurşun ve bakır iyonlarının mikroorganizmalar tarafından biyosorpsiyonunu incelenmiştir. Mikroorganizmalar topraktan izole edilmiş ve araştırmada *Staphylococcus saprophyticus* olarak tanımlanan bakteri kullanılmıştır. pH, sıcaklık ve başlangıç metal iyonu konsantrasyonunun biyosorpsiyon kapasitesi üzerindeki etkileri incelenmiştir. Optimum pH değerleri krom, kurşun ve bakır iyonlarının biyosorpsiyonu için sırasıyla 2.0, 4.5 ve 3.5 bulunmuştur. Maksimum adsorpsiyon Cr^{6+} , Pb^{2+} ve Cu^{2+} için, 193.66 mg Cr^{6+}/l ; 100 mg Pb^{2+}/l ve 105 mg Cu^{2+}/l başlangıç konsantrasyonlarında gözlenmiş ve bu koşullar altında biyosorpsiyon değerleri sırasıyla 88.66 mg Cr^{6+}/l ; 100 mg Pb^{2+}/l ve 44.94 mg Cu^{2+}/l bulunmuştur [17]. Araştırmamız bu çalışmada incelenen Cu^{2+} iyonunun mikroorganizmalar tarafından biyosorpsiyonu ile uygunluk göstermekte, optimum iyon giderimi pH 3’de gözlenmektedir.

Yazıcı (2007), bakır ve krom iyonlarının *Marrubium globosum* ssp. *globosum* biyokütlesi kullanarak sulu çözeltilerden biyosorpsiyonunu incelemiştir. Elde edilen sonuçlarda bakır ve krom biyosorpsiyonunun optimum pH değerleri sırası ile 5.5 ve 3.0 olarak bulmuş, her iki metal iyonunun biyosorpsiyonu 60 dakikada dengeye ulaştığını gözlemiştir [2]. Çalışmamızda (Cu^{2+}) iyonu giderimi optimum pH değeri *Rhizobium phaseoli* 23F izolatında pH 3 olarak bulunmuş ve (Cu^{2+}) iyonu biyosorpsiyonun 90. dakikada dengeye ulaştığı gözlenmiştir.

Çabuk ve arkadaşları (2007), endüstriyel olarak alkol üretiminde kullanılan *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinin (Cu^{2+}) iyonu giderim yeteneklerini araştırmışlardır. Yaptıkları araştırmada, pH, başlangıç (Cu^{2+}) iyon konsantrasyonu ve süre gibi biyosorpsiyon parametleri için optimizasyon çalışmaları yapmışlardır. Yapılan çalışmalar sonucunda en yüksek (Cu^{2+}) biyosorpsiyon kapasitesine 58.8 mg/g değeri ile 200 mg/l başlangıç (Cu^{2+}) iyonu konsantrasyonunda, pH 5.0 değerinde ve 5 dakika süre içerisinde ulaşılmıştır [4]. Çalışmamızda en yüksek (Cu^{2+}) biyosorpsiyon kapasitesine 53.35 mg/g değeri ile 250 mg/l başlangıç (Cu^{2+}) iyonu konsantrasyonunda, pH 3 değerinde ve 90 dakika süre içerisinde *Rhizobium phaseoli* 23F izolatı kullanılarak ulaştığı gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] İleri, R., Çakır, G., 2006. Bakır İyonlarının Sıvı Ortamdan Biyosorpsiyonla Gideriminin İzoterm Sabitlerinin Matlab Programı İle Belirlenmesi Ekoloji, 59, 8-17.
- [2] Yazıcı, H., 2007. *Marrubium Globosum* SSP. *Globosum* Bitkisi ile Sulu Çözeltilerden Cr ve Cu²⁺ İyonlarının Biyosorpsiyonunun İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta.
- [3] Aslan, S., Bozkurt, Z., Tekeli, A., 2007. Cu(II), Ni(II), Cd(II) ve Cr(VI) İyonlarının Sulu Çözeltilerden Biyosorpsiyon Yöntemi ile Giderilmesi, Sigma Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, 25, 209-2225.
- [4] Çabuk, A., Akar, T., Kotluk, Z., Şaşmaz, S., 2007. *Saccharomyces cerevisiae* Hücreleri ile Ağır Metal Giderimi ve Metal Toleransı, Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 5 (3), 1-7.
- [5] Şentürk, İ., Büyükgüngör, H., 2009. *Aspergillus niger* ile Sucul Ortamdan Fenol Bileşiklerinin Biyosorpsiyonu, İTÜ Dergisi, 1-2, 3-14.
- [6] Nakiboğlu, T., 2005. Deri Endüstrisi Atık Sularından Kromun Çeşitli Alglerle Biyosorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, Isparta
- [7] İleri, R., Sümer, B., Şengörür, B., 1993. Biyosorpsiyon Kinetiği ve İzotermlerinin Araştırılması, Sakarya Üniversitesi Mühendislik Fakültesi
- [8] Sağlam, N., Cihangir, N., 1995. Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorpsiyonu Çalışmaları, Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi, 11: 157-161.
- [9] Elmacı, A., Yonar, T., Özengin, N., Türkoğlu, H., 2005. Zn(II), Cd(II), Co(II), ve Remazol Turkish Blue-G Boyar Maddesinin Sulu Çözeltilerinde Kurutulmuş *Chara sp.* Türleri ile Biyosorpsiyonun Araştırılması, Ekoloji 14, 55, 24-31.
- [10] www.bilimselkonular.com
- [11] Zornoza P., Robles S., Martin N., 1999. Alleviation Of Nickel Toxicity By Ammonium Supply To Sunflower Plants, Plant and Soil, 208: 221-226.
- [12] Mishra D., Kar M., 1974. Nickel In Plant Growth And Metabolism. Bot. Rev, 40: 395-452.
- [13] Kıvanç M., Karakaş N., ve Platin S., 1996. Atık Sulardaki Krom İyonlarının Giderilmesinde *Bacillus subtilis*'in Kullanılması, Ekoloji Çevre Dergisi, 20, 17-20.
- [14] Özer ve Özer., 1998. Nikel(II) İyonlarının İki Kademeli Kesikli Kaptı *Cladophora crispata* ile Giderilmesi , Türk Mühendislik ve Çevre Bilimleri Dergisi, 22(4), 305-313.
- [15] Özdemir ve ark., 2003. Heavy Metal Biosorption by Biomass of *Ochrobactrum Anthropi* Producing Exopolysaccharide in Activated Sludge. Bioresource Technology, 90, 71-74.
- [16] Özer A., 1996. Kurşun (II) İyonlarının Kesikli Reaktörde *Rhizopus arrhizus*'a Adsorpsiyonu, 21, 27-31.
- [17] İlhan S., Nourbakhsh N.M., Kılıçarslan S., Ozdag H., 2004. Removal of Chromium, Lead and Copper İons from Industrial Wastewaters by *Staphylococcus saprophyticus*, Turkish Electro. J. of Biotechnol, 2: 50-57.

- [18] **Karaca M.**, 2008. Sudaki Pb^{2+} , Cd^{2+} ve Ni^{2+} İyonlarının Atomik Spektrometrik Tayini Öncesi *Dunaliella salina*, *Oocystis sp.*, *Porphyridium cruentum* ve *Scenedesmus protuberans* Tarafından Biyosorpsiyonu, Yüksek Lisans Tezi, İzmir İleri Teknoloji Enstitüsü, İzmir.
- [19] **Costa, A.C.A., Duta F.P.**, 2001. Bioaccumulation of Copper, Zinc, Cadmium and Lead by *Bacillus sp.* *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus*, and *Bacillus subtilis*, Braz. J. Microbiol., 32: 876-887.
- [20] **Liu H., Chen B., Lan Y., Cheng Y.**, 2004. Biosorption of Zn(II) and Cu(II) by the Indigenous *Thiobacillus thiooxidans*. Chem. Engineering J. 97, 195–201.
- [21] **www.forumfood.net/biyosorpsiyon-tez-sunumu**
- [22] **Demirel, S.**, 2008. Doğal Ortamdaki Fizikokimyasal Şartların Ağır Metal Biyosorpsiyonuna Etkisi. Doktora Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [23] **www.ekolojimagazin.com**
- [24] **Regine, H.S.F, Volesky, B.**, 2000. Biosorption: A Solution to Pollution, Internatl Microbiol, 3, 17-24.

ÖZGEÇMİŞ

1987 yılında Elazığ'da doğdum. 2004 yılında Elazığ Balak Gazi Lisesi'ni bitirdim. Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2009 yılında mezun oldum. Aynı yıl Fırat Üniversitesi Genel Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansına başladım.