

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KADMİYUM (II) VE BAKIR (II) İYON KARIŞIMLARINI
İÇEREN ATIKSULARIN *Pseudomonas putida*' ya
BİYOAKÜMÜLASYONU**

16.9258

Gülden GÜLTEKİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

ELAZIĞ, 2005

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

**KADMİYUM (II) VE BAKIR (II) İYON KARIŞIMLARINI
İÇEREN ATIKSULARIN *Pseudomonas putida*' ya
BİYOAKÜMÜLASYONU**

Gülden GÜLTEKİN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI**

ELAZIĞ, 2005

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KADMİYUM (II) VE BAKIR (II) İYON KARIŞIMLARINI
İÇEREN ATIKSULARIN *Pseudomonas putida*' ya
BİYOAKÜMÜLASYONU**

Gülden GÜLTEKİN

Yüksek Lisans Tezi
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu tez, tarihinde aşağıda belirtilen jüri tarafından oybirliği /oyçokluğu ile başarılı / başarısız olarak değerlendirilmiştir.

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Gülşad USLU

Üye: Doç. Dr. Gülbeyi DURSUN

Üye: Yrd. Doç. Dr. Arzu Y. DURSUN

Üye: Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 22.1.07.2005 tarih ve 2005-23/1 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının planlanıp yürütülmesinde bilgi ve önerilerinden yararlandığım değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Gülşad Uslu' ya, yardımlarını gördüğüm Sayın Uzm. Yakup Cuci' ye teşekkür ederim. Ayrıca çalışmamın gerçekleştirilmesi için maddi destek sağlayan Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Birimi (FÜBAP) çalışanlarına ve ömür boyu manevi desteklerini benden esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER	I
ŞEKİLLER LİSTESİ	IV
TABLolar LİSTESİ	VIII
EKLER LİSTESİ	IX
SİMGELER	X
ÖZET	XI
ABSTRACT	XII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Atık Sular	3
2. 1. 1. Ağır Metal Kirliliği İçeren Atık Sular	6
2.1. 1. 1. Kadmiyum Kirliliği İçeren Atık Sular	7
2. 1. 1. 2. Bakır Kirliliği İçeren Atık Sular	8
2. 2. Ağır Metal Kirliliği İçeren Atık Suların Arıtılmasında Mikroorganizmaların Kullanılması	10
2. 3. Mikroorganizmalar	14
2. 3. 1. Bakteriler	15
2. 3. 1. 1. <i>Pseudomonas putida</i>	17
2. 4. Mikrobiyal Kinetik	18
2. 4. 1. Kesikli Büyüme	19
2. 4. 2. Engellemeli (İnhibisyonlu) Büyüme	22
2. 4. 2. 1. Substrat İnhibisyonu	25
2. 4. 2. 2. Ürün İnhibisyonu	26
2. 4. 2. 3. Toksik Bileşik İnhibisyonu	27
2. 5. Bioakümüilasyon	27
2. 5. 1. Mikrobiyal Büyümeyi Etkileyen Faktörler	28
2. 5. 1. 1. Substrat Konsantrasyonu	28
2. 5. 1. 2. Sıcaklık	29
2. 5. 1. 3. pH	29
2. 5. 1. 4. Oksijen Seviyesi	29
2. 5. 1. 5. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonu Etkisi	30
2. 5. 1. 6. Karıştırma Hızı	30

3. MATERYAL VE METOD	31
3. 1. Genel	31
3. 2. <i>P. putida</i> 'nın Üretilmesi	31
3. 3. Bioakümülyasyonda Kullanılan Mikroorganizma ve Metal Çözeltilerin Hazırlanması	32
3. 3. 1. <i>P. putida</i> Çözeltisinin Hazırlanması	32
3. 3. 2. Metal Çözeltilerinin Hazırlanması	32
3. 4. Kesikli Düzendeki Çalışan Karıştırıcı Kupta Üreme Çalışmaları	32
3. 5. Analiz Yöntemleri	33
4. DENEYSEL BULGULAR	34
4. 1. Kesikli Karıştırıcı Reaktörde <i>P. putida</i> 'nın Üremesi Üzerine Metal İyonların Tek Tek Etkisi	34
4. 1. 1. Kadmiyum (II) İyonunun Etkisi	34
4. 1. 1. 1. Başlangıç pH'ının Etkisi	34
4. 1. 1. 2. Sıcaklığın Etkisi	35
4. 1. 1. 3. Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonunun Etkisi	37
4. 1. 1. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu Etkisi	41
4. 1. 2. Bakır (II) İyonunun Etkisi	44
4. 1. 2. 1. Başlangıç pH'ının Etkisi	44
4. 1. 2. 2. Sıcaklığın Etkisi	45
4. 1. 2. 3. Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonunun Etkisi	47
4. 1. 2. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu Etkisi	51
4. 2. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Birlikte Etkisi	54
4. 2. 1. Başlangıç pH'ının Etkisi	54
4. 2. 2. Sıcaklığın Etkisi	54
4. 2. 3. Başlangıç Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonları Konsantrasyonlarının Birlikte Etkisi	56
4. 2. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu Etkisi	62
5. DENEYSEL BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI	64
5. 1. <i>P. putida</i> 'nın Üremesi Üzerine Metal İyonlarının Tek Tek ve Birlikte Etkisi	64
5. 1. 1. Başlangıç pH'ının Etkisi	64
5. 1. 2. Sıcaklığın Etkisi	65
5. 1. 3. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonu Etkisi	68
5. 1. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu Etkisi	71
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	75
KAYNAKLAR	78

ÖZGEÇMİŞ **82**
EKLER **83**



Şekil 2. 1. <i>Pseudomonas putida</i> Bakterisinin Mikroskopik Görünümü	18
Şekil 2. 2. Mikroorganizmaların Üreme Eğrisi	21
Şekil 4. 1. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyonu Bulunan Üreme Ortamında Üreyen <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun pH İle Değişimi	35
Şekil 4. 2. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyonu Bulunan Üreme Ortamında Üreyen <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Sıcaklık İle Değişimi	36
Şekil 4. 3. Farklı Sıcaklıklarda <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	36
Şekil 4. 4. Sıcaklık Değişiminin Özgül Üreme Hızına Etkisi	37
Şekil 4. 5. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının <i>P. putida</i> 'nın Üremesi Üzerine Etkisi	38
Şekil 4. 6. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarında <i>P. Putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	39
Şekil 4. 7. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının Mikroorganizmanın Özgül Üreme Hızına Etkisi	39
Şekil 4. 8. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarında, Üreme Tamamlandıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonu İle Mikroorganizma Konsantrasyonu Arasındaki İlişki	40
Şekil 4. 9. Mikroorganizma Konsantrasyonu Ve Mikroorganizma Tarafından Adsorplanan Metal İyonu Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	41
Şekil 4. 10. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının Bulunduğu Ortamda Üreyen <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Farklı Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	42
Şekil 4. 11. Farklı Başlangıç Glikoz Konsantrasyonlarında <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	42
Şekil 4. 12. <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızının Başlangıç Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	43
Şekil 4. 13. <i>P. putida</i> 'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	43
Şekil 4. 14. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyonu Bulunan Üreme Ortamında Üreyen <i>P. Putida</i> Konsantrasyonunun pH İle Değişimi	44
Şekil 4. 15. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyonu Bulunan Üreme Ortamında Üreyen <i>P. Putida</i> Konsantrasyonunun Sıcaklık İle Değişimi	46

Şekil 4. 16. Farklı Sıcaklıklarda <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	46
Şekil 4. 17. Sıcaklık Değişiminin Özgül Üreme Hızına Etkisi	47
Şekil 4. 18. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının <i>P. putida</i> 'nın Üremesi Üzerine Etkisi	48
Şekil 4. 19. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında <i>P. Putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	49
Şekil 4. 20. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının Mikroorganizmanın Özgül Üreme Hızına Etkisi	49
Şekil 4. 21. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında, Üreme Tamamlandıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Bakır (II) İyon Konsantrasyonu İle Mikroorganizma Konsantrasyonu Arasındaki İlişki	50
Şekil 4. 22. Mikroorganizma Konsantrasyonu Ve Mikroorganizma Tarafından Adsorplanan Metal İyonu Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	51
Şekil 4. 23. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının Bulunduğu Ortamda Üreyen <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Farklı Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	52
Şekil 4. 24. Farklı Başlangıç Glikoz Konsantrasyonlarında <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	52
Şekil 4. 25. <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızının Başlangıç Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	53
Şekil 4. 26. <i>P. putida</i> 'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	53
Şekil 4. 27. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarda Birlikte Bulunduğu Üreme Ortamında Üreyen <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Sıcaklıkla Değişimi	55
Şekil 4. 28. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarda Birlikte Bulunduğu Üreme Ortamında, Farklı Sıcaklıklarda Üreyen <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi.....	55
Şekil 4. 29. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarda Birlikte Bulunduğu Üreme Ortamında, Sıcaklık Değişiminin Üreyen <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Etkisi	56
Şekil 4. 30. Başlangıç Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarının <i>P. putida</i> Konsantrasyonu Üzerine Etkisi	57
Şekil 4. 31. Eşit Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonları Konsantrasyonlarını İçeren Üreme Ortam <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	58

Şekil 4. 32. Eşit Başlangıç Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonları Konsantrasyonlarının <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Etkisi	58
Şekil 4. 33. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarını Birlikte İçeren Üreme Ortamında <i>P. putida</i> 'nın Üremesini Tamamladıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonu Arasındaki İlişki	60
Şekil 4. 34. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarını Birlikte İçeren Üreme Ortamında <i>P. putida</i> 'nın Üremesini Tamamladıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Bakır (II) İyon Konsantrasyonu İle Mikroorganizma Konsantrasyonu Arasındaki İlişki	60
Şekil 4. 35. Sabit Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının <i>P. putida</i> 'nın Üremesini Üzerine Etkisi	61
Şekil 4. 36. Sabit Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarında Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının <i>P. putida</i> 'nın Üremesini Üzerine Etkisi	61
Şekil 4. 37. Farklı Başlangıç Glikoz Konsantrasyonlarında <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	62
Şekil 4. 38. <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi	63
Şekil 4. 39. <i>P. putida</i> 'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi	63
Şekil 5. 1. Başlangıç pH' sının <i>P. putida</i> 'nın Üremesi Üzerine Etkisi	64
Şekil 5. 2. Sıcaklığın <i>P. putida</i> 'nın Üremesi Üzerine Etkisi	66
Şekil 5. 3. Optimum Sıcaklıklarda <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	66
Şekil 5. 4. Sıcaklığın <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Etkisi	67
Şekil 5. 5. Farklı Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonlarının <i>P. putida</i> Konsantrasyonu Üzerine Etkisi	69
Şekil 5. 6. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonlarında <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi	70
Şekil 5. 7. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonlarının <i>P. Putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Etkisi	70
Şekil 5. 8. Metalli Ve Metalsiz Ortamda Üreyen <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Farklı Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	73
Şekil 5. 9. <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızının Başlangıç Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	73
Şekil 5. 10. <i>P. putida</i> 'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi	74

Şekil E. 2. Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonu Tayini İçin Kullanılan Çalışma

Doğrusu **84**



Tablo 2. 1. Türkiye İçin Kabul Edilen İçme Suyu Standartı	4
Tablo 2. 2. Türk Standartlarına Göre İçme Suyu Ağır Metal Limitleri	5
Tablo 2. 3. Metal İyonları Ve Bazı Standartlar	5
Tablo 2. 4. Metal Endüstrisi Atık Sularında Bulunan Ağır Metaller Ve Miktarları	9
Tablo 2. 5. Ağır Metal Gideriminde Ulaşılabilir Seviyeler	10
Tablo 2. 6. Endüstriyel Atık Sulardan Metal Gideriminde Kullanılan Bazı Mikroorganizmalar	12
Tablo 3. 1. <i>P. putida</i> 'nın Üretilmesinde Kullanılan Bazı Mikroorganizmalar	32
Tablo 5. 1. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Özgül Üreme Hızları, Maksimum Hücre Kuru Ağırlıkları Ve Kuru Ağırlıkları Başına Düşen Metal Birikim Değerlerinin pH İle Değişimi	65
Tablo 5. 2. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Özgül Üreme Hızları, Maksimum Hücre Kuru Ağırlıkları Ve Kuru Ağırlıkları Başına Düşen Metal Birikim Değerlerinin Sıcaklık İle Değişimi	66
Tablo 5. 3. Kadmiyum (II) Ve Bakır (II) İyonlarının Özgül Üreme Hızları, Maksimum Hücre Kuru Ağırlıkları Ve Kuru Ağırlıkları Başına Düşen Metal Birikim Değerleri Ve Maksimum Spesifik Metal Tutma Yüzdelerinin Başlangıç Metal Konsantrasyonu İle Değişimi	71
Tablo 5. 4. <i>P. putida</i> 'nın Maksimum Özgül Üreme Hızları Ve Substrat Doygunluk Konsantrasyon Değerleri	74

EKLER LİSTESİ

Sayfa No

EK 1. <i>P. putida</i> Konsantrasyonunun Belirlenmesi	83
EK 2. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının Tayini	84
EK 3. <i>P. putida</i> 'nın Özgül Üreme Hızının Bulunması	85
EK 4. Üreme Tamamlandıktan Sonra Besiyerinde Adsorplanmadan Kalan Metal Miktarının Belirlenmesi	86
EK 5. Adsorplanan Metal Miktarının Hesaplanması	88
EK 6. Kuru Ağırlık Başına Düşen Metal Birikim ve Yüzde Birikim Değerlerinin Hesaplanması	89



SİMGELER

A	:	Arrhenius sabiti
BOI	:	Biyokimyasal oksijen ihtiyacı (mg/L)
C ₀	:	Başlangıç metal iyon konsantrasyonu (mg/L)
DNA	:	Deoksiribo nükleik asit (Hücre yapı taşı)
E	:	Enzim
E	:	Aktivasyon enerjisi (kcal/mol)
I	:	İnhibitör konsantrasyonu (mol/L)
KH	:	Karıştırma hızı (rpm)
K _i	:	İnhibisyon sabiti
K _m	:	Michaelis sabiti (mol/L)
KOI	:	Kimyasal oksijen ihtiyacı (mg/L)
K _s	:	Substrat doygunluk sabiti- yarı doyma sabiti (mg/L)
K _{si}	:	Substrat inhibisyon sabiti
K _p	:	Ürün inhibisyon sabiti
μ	:	Mikroorganizmanın özgül üreme hızı (1/h)
μ _m	:	Maksimum özgül üreme hızı (1/h)
P	:	Ürün konsantrasyonu
PEG	:	Bakterilerde hücre duvarını çevreleyen polisakkarit ve peptit kompleksinden oluşan yapı
q	:	Ürün oluşum hızı (gS/g hücre.sa)
R	:	Gaz sabiti
S ₀	:	Substrat konsantrasyonu (g/L)
t	:	Zaman (sa)
t _{1/2}	:	İkilenme süresi
T	:	Sıcaklık (°C veya K)
V	:	Enzim hızı (t ⁻¹)
V _{max}	:	Maksimum enzim hızı ((t ⁻¹)
V _R	:	Sıvı hacmi, süspansiyon hacmi (mL)
X	:	Mikroorganizma konsantrasyonu (ghücre/L)
X ₀	:	Başlangıç mikroorganizma konsantrasyonu (ghücre/L)

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyon Karışımlarını İçeren Atıksuların *P. putida*' ya Biyoakümülyasyonu

Gülden Gültekin

Fırat Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

2005, Sayfa : 89

Bu çalışmada; kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını ayrı ayrı ve birlikte içeren üreme ortamında *P. putida*'nın üremesi kesikli karıştırmalı reaktörde başlangıç pH' sı, sıcaklık, başlangıç metal iyon konsantrasyonu ve başlangıç glikoz konsantrasyonu gibi çeşitli üreme parametrelerinin etkileri araştırılmıştır.

Kesikli karıştırmalı reaktörde, kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının tek tek bulundukları ortamda *P. putida* 'nın üretilmesinde optimum başlangıç pH' ları sırayla 4,5 ve 3,0; kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının ikili karışımlarla eşit konsantrasyonlarını içeren ortamda pH=3,5 olarak bulunmuştur. *P. putida*, kadmiyum (II) iyonlarının bulunduğu ortamda 30°C' de, bakır (II) iyonlarının bulunduğu ortamda 25°C' de ve her ikisinin eşit konsantrasyonlarda bulundukları ortamda optimum 30°C' de ürettiği belirlenmiştir. Metal iyonlarının tek tek bulundukları üreme ortamında başlangıç metal iyon konsantrasyonları 50 mg/L olarak; eşit konsantrasyonlarda birlikte bulundukları üreme ortamında ise başlangıç metal iyon konsantrasyonları 5 mg/L olarak alınmıştır. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının tek tek ve birlikte bulundukları koşullarda optimum glikoz konsantrasyonu 20 mg/L olduğu gözlenmiştir. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının tek tek bulundukları ortamda *P. putida* 'nın bu metalleri maksimum giderme verimi sırayla % 67,4 ve % 44,68 olduğu bulunmuşken; metal konsantrasyonunun artmasıyla verimin sırayla % 30,49' a ve % 28,04' e azaldığı; her iki metalin eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu ortamda verimin kadmiyum (II) iyonu için % 30,34'den metal konsantrasyonunun artmasıyla % 10,87' e, bakır (II) iyonu için % 24,12'den % 7,49' a düştüğü görülmüştür.

Anahtar Kelimeler : Bioakümülyasyon, üreme kinetiği, *P. putida*, ağır metal

ABSTRACT

Master Thesis

Bioaccumulation of Cadmium (II) and Copper (II) Ions From Binary Metal Mixtures by *P.putida*

Gülden Gültekin

Fırat University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Environmental Engineering

2005, Page : 89

In this study; the effect of several parameters such as initial pH, temperature, initial metal ion concentration and initial glucose concentration on the growth of *P. putida* were investigated in the growth media containing cadmium and copper ions individually or together in stirred reactor working batch system.

In the growth of *P. putida* media containing cadmium and copper ions individually optimum pH value were 4.5 and 3.0; in the growth media containing with binary mixture cadmium (II) and copper (II)' s equal concentrations pH=3.5 value were found, respectively, in the batch stirred reactor. It was determined that *P. putida* could grow at optimum temperature 30° C in the media containing cadmium (II) ions, at 25° C in the media containing copper ions and at 30° C in the media containing both of them with equal concentrations. In the growth media containing the metal ions individually the initial metal ion concentrations were taken 50 mg/L and in the growth media same where metal ion concentrations were in equal amounts initial metal ion concentrations were taken 5 mg/L. In the conditions containing cadmium (II) and copper (II) ions individually and together, glucose concentration was observed to be 20 mg/L. In the media containing cadmium (II) and copper (II) ions individually, as it was found that the maximum removed results of these metals were % 67.4 ve % 44.68; with increasing metal concentrations the remove results individually decreased to % 30.49 and 28.04; in the media containing with binary mixture cadmium (II) and copper (II)' s equal concentrations it was seen that for cadmium (II) ion with increasing metal concentrations the result decreased from % 30.34 to 10.87 and for copper (II) ion the result decreased from % 24.12 to 7.49.

Keywords : Bioaccumulation, growth kinetics, *P. putida*, heavy metal

1. GİRİŞ

Artan dünya nüfusunun düzensiz yerleşimi ve hızlı kentleşme ile gelişen endüstrinin bir sonucu olarak doğal kaynakları tehdit eden kirlenme olayları, günümüz insanının en önemli sorunlarından biri haline gelmiştir. Sosyal ve ekonomik yönlerden ileri ülkelerde hayat seviyesinin süratle yükselmesi ve her çeşit ihtiyaç malzemesinin üretimi geniş bir endüstriyel faaliyetle mümkün olmaktadır. En az yatırımla daha fazla kar etme isteği, sanayicilerin daha geniş düşünmemesine dolayısıyla da üretim atıklarını işletmeden, uzaklaştırmakla yetinmelerine neden olmuştur. Bu atıklar kirleticiler elemanları oluşturmaktadır. Özellikle hava ve suyun akışkan ortam olmaları nedeniyle oluşan kirlilik, kaynağından çok uzaklara taşınmaktadır. Kirleticilerin en önemlilerinden birkaçı ortamda uzun süre kalıcı ve toksik olan kimyasal maddeler ve türevleridir. Bu kirleticiler belirli düzeyden sonra, normal ortamda yaşayan ekosistem bireylerinin yaşamsal aktivitelerinde olumsuz etkiler oluşturmaktadır.

Son yıllardaki en önemli çevre kirliliği ise sularda görülmektedir. İnsanlar yaşamsal ve ekonomik ihtiyaçları için suyu, su döngüsünden alırlar ve kullandıktan sonra tekrar aynı döngüye verirler. Bu işlemler sırasında, suya karışan maddeler suyun fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerini değiştirmekte ve suyun kalitesinin bozulmasına neden olmaktadır. Su kaynaklarının kullanılmasını bozacak ölçüde organik ve inorganik, biyolojik ve radyoaktif maddelerin suya karışmasına su kirliliği denir. Günümüzde evsel ve endüstriyel atık sularla yaklaşık bir milyon kirleticiler, yüzeysel sulara verilmektedirler. Atık su arıtımındaki temel amaç ise, kent ve endüstride atılan suların kirlilik derecelerinin, kullanım yerlerine göre istenilen düzeye indirilmesidir. Bu kirleticilerin bir kısmı alıcı ortamlarda istenmeyen tat ve koku oluşturmamaya, bir süre sonra mineralize olup zararsız hale gelirken; pestisitler, radyoaktif maddeler ve ağır metaller gibi kirleticiler, canlı hayatı için tehlike oluşturmaktadırlar. Kirleticiler içerisinde yer alan ağır metal deyiimi, doğadaki tüm metalleri ve metalloidleri kapsamaktadır. Ağır metaller, organik kirleticilerin aksine su ekosistemindeki doğal proseslerle elimine olmayarak, dip sedimanlarda birikir ve zamanla mobilize olurlar. Su kirlenmesinde önemli bir yer tutan ağır metal kirliliğinin nedenleri arasında esas olarak madencilik endüstrisi yer almaktadır. Örneğin cevherlerden metallerin kazanılması sırasında meydana gelen atıklar, çoğu kez geçirdikleri işlemlere bağlı olarak aktifleşip, birer kirlilik kaynağı haline gelmektedir.

Zehirleyici özelliklerine rağmen taşıdıkları teknolojik önem nedeniyle, ağır metaller endüstride geniş ölçüde kullanılmakta ve endüstriyel atık sulardan belli miktarlar besin zincirine girmektedir. Ağır metal içeren atık sular, işletmede uygulanan işlemlere, kullanılan suya, işletmenin kapasitesine göre büyük farklılık gösterir. Bu suların kirlilik dereceleri, kullanım

amacına göre istenilen düzeye indirilmeli ya da alt yapı tesislerine bırakılmasında öngörülen standartlar gözetilerek, gerekli arıtım gerçekleştirilmelidir.

Çevre kirlenmesini önlemek ve atıkları işlemek oldukça güç ve pahalı yöntemler gerektirdiğinden, yeni prosesler üzerinde sürekli araştırma ve inceleme yapılmaktadır. Yapılan bu incelemeler ve araştırmalar arasında son yıllarda üzerinde durulan konular mikrobiyolojik işlemlerdir. Bu işlemlerde amaç, mikroorganizmalar aracılığı ile atıkların parçalanması ve yeni ürünler elde edilmesidir. Suda yaşayan birçok mikroorganizma bulundukları ortamdan seçici olarak çözünmüş ağır metal iyonlarını ve radyoaktif elementleri bünyelerine alabilirler. Mikroorganizmaların atık sulardan ağır metal giderimi için kullanılması ile hem biyolojik hem de kimyasal kirlilik giderilebilir.

Bu çalışmada; kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını ayrı ayrı ve birlikte içeren üreme ortamında *Pseudomonas putida* 'nın üremesi kesikli karıştırmalı laboratuvar tipi reaktörde çeşitli üreme parametrelerinin fonksiyonu olarak araştırılmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Atık Sular

Bilimsel açıdan su kirliliği, su kaynağının kimyasal, fiziksel, biyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan ya da dolaylı yoldan biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, su ürünlerinde, su kalitesinde ve suyun diğer amaçlarla kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde veya enerji atıklarının boşaltılması olarak açıklanır. Akarsulara, göllere ve denizlere boşaltılan organik ve toksik maddelerin oldukça fazla olması halinde, sudaki çözünmüş oksijen son derece azalmakta, bunun sonucunda bakteriler ölmekte, dolayısıyla kendi kendini temizleme olayı tamamlanamamakta ve böylece de su kaynakları kirlenmektedir.

Hammer' e (1986) göre su kirliliği, doğal bir su ortamına birden fazla yabancı maddenin karışmasıyla meydana gelen kalite değişimleriyle, suyun bugünkü ve gelecekteki faydalı amaçlar için kullanılabilirliğine zarar verilmesi olayıdır.

Su kirlenmesi sucul ekosistemlerin etkilenmesine, dengelerin bozulmasına ve giderek doğadaki tüm suların sahip oldukları kendi kendini temizleme kapasitesinin azalmasına ya da yok olmasına yol açmaktadır. Su kirlenmesi yalnızca sucul ekosistemleri etkilemekle kalmamakta, aynı zamanda da atmosfer ve toprağı da etkilemekte ve doğal dengenin bozulmasına neden olmaktadır (Uslu, 1991).

Birbirlerine ayrılmaz bir şekilde bağlı ve biri diğerine sürekli tesir eden toprak, hava ve su yaşadığımız çevreyi oluştururlar. Doğanın bir parçasının herhangi bir sebeple bozulması, diğer parçaları da aynı şekilde etkilemektedir. Yüzeysel sularda meydana gelecek her türlü değişimler, yeni duruma adapte olmuş organizma topluluklarını ve bu topluluğu meydana getiren mikroorganizma türlerini ortaya çıkarmaktadır (Karpuzcu, 1991).

Atık sulardaki kirleticilerin çeşitleri ve konsantrasyonları su kaynağına bağlıdır. Endüstriyel ve evsel atık sular olmak üzere iki tür atık su kaynağı vardır. Ülkenin su kaynakları potansiyelinin korunması, en iyi biçimde kullanılmasının sağlanması ve su kirlenmesinin önlenmesi, ekonomik ve sosyal kalkınma hedefleri ile uyumlu bir biçimde gerçekleştirilmesi için gerekli hukuki ve teknik esasları ortaya koymak amacıyla hazırlanan Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği' nde, su kirliliğinin ülke genelinde yayılmasının önlenmesi ve kirlenmiş su ortamlarının rejenerasyonu ele alınmıştır. Türk Standartlarına (TSE 266) göre içme suyu standartları Tablo 2. 1' de verilmiştir. Ağır metallerin ve arsenik gibi bazı elementlerin hemen hepsi belirli miktarların üzerinde toksik etki gösterdikleri için, önemli bir çevre kirleticisi olan bu elementlerin sularda hangi limitlerde bulunması gerektiği bilinmelidir. Türk Standartlarına

(TSE 266) göre içme suyu ağır metal limitleri Tablo 2. 2' de, metal iyonları ve standartları ise Tablo 2. 3.' de verilmiştir.

Tablo 2. 1. Türkiye İçin Kabul Edilen İçme Suyu Standartı (TSE 266)

Madde İsmi	Birim	Müsaade Edilen Değer	Maksimum
İçilebilirlik özelliğine etki yapan maddeler			
Renk	—	5	50,0
Bulanıklık	—	5	25,0
pH	mg/L	7,0- 8,5	6,5-9,2
Koku- tat	—	kokusuz	kokusuz
Buharlaşıma kal.	mg/L	500,0	1500,0
Demir (Fe)	mg/L	0,3	1,0
Mangan (Mn)	mg/L	0,1	0,5
Bakır (Cu)	mg/L	1,0	1,5
Çinko (Zn)	mg/L	5,0	15,0
Kalsiyum (Ca)	mg/L	75,0	200,0
Magnezyum (Mg)	mg/L	50,0	150,0
Sülfat (SO_4^{2-})	mg/L	200,0	400,0
Klorür (Cl^-)	mg/L	200,0	600,0
Bakiye klor	mg/L	0,1	0,5
Fenolik maddeler	mg/L	—	0,002
Mg+Na ₂ SO ₄	mg/L	500,0	1000,0
Alkil benzen sülf.	mg/L	0,5	1,0
Zehirli maddeler			
Kurşun (Pb)	mg/L	—	0,05
Selenyum (Se)	mg/L	—	0,01
Arsenik (As)	mg/L	—	0,05
Krom (Cr^{+6})	mg/L	—	0,02
Siyanür (CN^-)	mg/L	—	0,01
Sağlığa etki yapan maddeler			
Florür (F^-)	mg/L	1,0	1,50
Nitrat (NO_3^-)	mg/L	—	45,00
Kirlenmeyi belirleyen maddeler			
Top. Org. Madde	mg/L	3,5	—
Nitrit (NO_2^-)	mg/L	—	—
Amonyak (NH_3)	mg/L	—	—

Tablo 2. 2. Türk Standartlarına Göre İçme Suyu Ağır Metal Limitleri (TSE 266)

Ağır Metaller	Tavsiye Edilen Miktar (mg/L)	Müsaade Edilen Max. Miktar (mg/L)
Arsenik	—	0,05
Kadmiyum (II)	—	0,005
Krom (VI)	—	0,05
Bakır (II)	1,0	1,50
Kurşun (II)	—	0,05
Civa (II)	—	—
Selenyum	—	0,01
Gümüş	—	0,05
Çinko	5,0	15,00
Mangan	0,1	0,50
Demir	0,3	1,00
Siyanür	—	0,20

Tablo 2. 3. Metal İyonları ve Bazı Standartlar (İleri, 2000)

Metal İyonu (mg/L)	İçme-Kullanma Suyu (TSE 266 mak.)	Sulama Suyu (SKKY Teknik Usuller Tebliği maks.)	Metal Endüstrisi Direkt Deşarjı (SKKY maks.)
Ag (Gümüş)	0,05	0,1	0,1
Al (Aluminyum)	2,0	5,0	3,0
As (Arsenik)	0,05	0,1	0,5
Cd (Kadmiyum)	0,01	0,01	0,5
Cr ⁺⁶ (Krom)	0,01	0,1	0,5
Cu (Bakır)	1,0	2,0	3,0
Fe (Demir)	0,3	5,0	3,0
Hg (Civa)	0,01	0,01	0,05
Mn (mangan)	0,7	0,7	3,0
Ni (Nikel)	0,5	0,5	3,0
Pb (Kurşun)	0,5	5,0	2,0
Se (Selenyum)	0,01	0,02	0,5
Zn (Çinko)	5,0	2,0	5,0

2. 1. 1. Ağır Metal Kirliliği İçeren Atık Sular

Ağır metaller hem en önemli, hem de en tehlikeli maddelerdir. Kirliliği oluşturan ağır metal iyonları kurşun, krom, bakır, çinko, arsenik, civa, kadmiyum gibi iyonlardır. Metal kirlenmelerinin çoğu sulara toplanır. Sulara toplanma, çözünme şeklinde olabileceği gibi, çözünmeden suların dibinde toplanma şeklinde de olabilir. Bu şekilde bir kirlenme şehir endüstriyel ve zirai atıklardan ileri geldiği gibi, herhangi bir yolla atmosfere verilen metalik maddelerden de gelebilir. Atmosfere verilen metalik maddeler, sonunda yeryüzüne dönerler ve akarsular vasıtasıyla su yataklarına sürüklenirler (Gündüz, 1994; Kılıçarslan vd.,1996).

Bazı araştırmacıların, ağır metal kirlenmesini maruz kaldığımız en ciddi çevre problemi olarak değerlendirmelerinin sebebi, bu elementlerin çoğunun, insanın hiç haberi olmadan gizlice vücuda girmesi (su, gıda zinciri v.b. yol ile) ve orada uzun zaman kalıp, ciddi hastalıklara yol açmasıdır (Muslu, 1985; Eckenfelder, 1989; Gül, 1992; İleri ve Şengörür, 1993).

Ağır metaller, yoğunlukları 5 g /cm³' den büyük olan metallerdir. Atık sulardaki ağır metaller endüstrilerden ve belediyeye ait atıklardan gelir ve bunlar su ve toprak kirliliğinin başlıca sebeplerinden biridir. Ağır metallerin çevreye etkisi ve bunların besin ağına geçmesi verimli ve düşük maliyetli gelişen alternatif atık su arıtma sistemlerinin araştırılmasına neden olmuştur (Hussein vd., 2004).

Toksik ağır metallerle çevrenin kirlenmesi endüstriyel gelişme ile birlikte dünyayı saran bir sorun haline gelmiştir (Dönmez ve Aksu, 2000). Ağır metaller, biyolojik arıtmı zıt olarak etkileyen endüstriyel atık sulara bulunan en önemli toksidantlardır. Ağır metallerin kaynakları genelde endüstriyel deşarjlar ve şehre ait çıkış sularıdır. Ağır metallerin toksiditesi yoğunlukla metallerin çözülebilirliğine bağlıdır. Bu olay pH, atık sudaki kompleksleşme araçlarının konsantrasyonu ve türü, toksidant karışımlarının antagonistik etkileri, metalin oksidasyon seviyesi ve redoks potansiyeli gibi çeşitli faktörler ile kontrol edilir (Bitton, 1994).

Atık suların iz elementleri analiz edildiğinde, bu suların sulamada kullanılması ve deşarj edildiği ortamda hem yaşayan canlılar hem de halk sağlığı açısından önemlidir. Su canlıları, içinde bulundukları ortamda bulunan metal iyonlarını alarak vücutlarında biriktirirler. Birikinti yapan bu metaller her geçen gün artmakta ve belli bir düzeye ulaştıktan sonra toksik etki yaparak, canlıyı öldürmektedir.

Ağır metal iyonları, iyonun çeşidine göre ve bulunduğu ortamdaki diğer koşullara bağlı olarak canlılarda değişen oranda toksik etki göstermektedir. Ağır metallerle kirlenmiş atık sular genel olarak biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ) değeri düşük, asidik, suda yaşayan ve bu suyu kullanan canlılar için çok zehirli ve inorganik karakterli sulardır (Aksu ve Kutsal, 1994; Beyazıt ve Peker, 1998).

Ağır metal kirliliği içeren atık sular, maden endüstrilerinden, metal endüstrilerinden ve çeşitli sanayi kuruluşlarının atık sularından kaynaklanır. Kömür ve diğer maden ocaklarının çalıştırılabilmesi için madenden çıkarılarak atılması gereken asidik maden drenajları yüksek konsantrasyonlarda kalsiyum, magnezyum ve demir iyonlarını, düşük konsantrasyonlarda da alüminyum, mangan ve diğer ağır metal iyonlarını içerir. Bu cevherlerin topraktan çıkarılması ve işlenmesi sırasında oldukça fazla su kullanılır. Kullanma suyuna geçen metaller, su ile birlikte doğaya bırakılır. Metal endüstrilerinin çeşitli fiziksel ve kimyasal proseslerinde oldukça fazla su kullanılır ve dolayısıyla da atık sular çok miktarda metal iyonu içermektedir.

2. 1. 1. 1. Kadmiyum Kirliliği İçeren Atık Sular

Kadmiyum yerkabuğunda nadir olarak bulunan bir elementtir. Genellikle bir sülfür minerali olan grinoksit (CdS) halinde çinko ve kurşun cevherleriyle ve çok düşük oranlarda olmak üzere diğer birçok mineral ile birlikte bulunur (Tulgar, 1974; Ün, 1968). Kadmiyum bileşikler genellikle +2 değerlidir ancak +1 değerlikli olduğu bileşiklerine de rastlamak mümkündür. Cd^{+2} iyonunu aminler, halojenler ve siyanürlü kompleksler oluşturur. Kadmiyum bileşikler ve tuzları zehirlidir.

Kadmiyum çinko fabrikalarından, bakır ve kurşun eritilmesinden ve kadmiyumun elektrolizle oluşturulmasından üretilir. Kadmiyum, metalurjik alaşımlar, seramikler, elektro kaplama, kumaş boyama çalışmaları, pigment yapımı, bazı alaşımların özelliklerinin ıslah edilmesi, katalizör ve batarya üretiminde, tekstil boyama, kimyasal endüstriler ve kurşun madenciliği deşarjlarında bulunmaktadır. Ayrıca kadmiyum metali bazı metallerin korozyona karşı direncini artırmak ve parlak bir görünüm kazandırmak için metal yüzeyine elektrolit olarak kaplanır. Bu şekilde kaplanan ürünler uçak ve otomobil endüstrisinde, radyo ve televizyon parçalarında ve bazı inşaat malzemelerinde kullanılır.

Kadmiyum fazlalığının neden olduğu hastalıklar daha çok dolaşım sistemi ile ilgili olup, hipertansiyon denilen yüksek kan basıncına neden olmaktadır. Kadmiyumun vücutta birikimi daha çok böbrek ve karaciğerde gerçekleşmektedir (Kirk- Othmer,1971). İstatiksel çalışmalar havadaki kadmiyum karışımı ile kalp hastalıkları arasında pozitif bir ilişkinin olduğunu ve kadmiyumun kanserojen olabileceğine dair sonuçlar ortaya koymaktadır (Sitting, 1973). Bu elementin havada müsaade edilen maksimum konsantrasyonu $0,1 \text{ mg/m}^3$ hava, içme suyunda ise $0,01 \text{ mg/L}$ 'dir (Förstner ve Wittmann, 1983).

Kadmiyum atık sulardan genellikle çöktürme ve iyon değişimi yöntemleriyle giderilir. Eğer atık su oldukça konsantre halde ise elektrolitik ve buharlaştırma kazanı prosesleri, başarıyla uygulanabilmektedir (Beyazıt ve Peker, 1998).

Kimyasal çöktürme ile giderim; atık su sistemlerinde bulunan çözünmüş haldeki kadmiyum iyonlarının hidroksit veya sülfür şeklinde çöktürülmesidir. Kadmiyumun çözünmeyen ve yüksek kararlılığa sahip hidroksit şekilleri, bazik pH' lar gerektirir. Etkin kadmiyum hidroksit ($\text{Cd}(\text{OH})_2$) çökmesi pH 9,5- 12,5 aralığındadır. Kadmiyumun hidroksit halinde çöktürülmesini engelleyen bir başka husus ise ortamda siyanür gibi kadmiyumla kuvvetli kompleksler oluşturan iyonların varlığıdır. Bu durumda kadmiyumun kadmiyum hidroksit olarak çöktürülmesi imkansızlaşır. Bu nedenle önce siyanürün bir ön işleme uzaklaştırılması gerekmektedir (Sitting, 1973).

İkincil bir arıtım veya bir çeşit geri kazanım prosesi olarak iyon değişimi düşünülebilir. Bu prosesle çözeltideki bazı iyonlar suda çözünmeyen reçineye bağlı diğer iyonlarla yer değiştirirler. Kadmiyum iyonuna özgü birkaç iyon değiştirici reçine türü vardır (Özer, 1994). İyon değiştirici reçinelerin organik maddeleri adsorblamaya meyilli olma özelliklerinden dolayı, iyon değiştirici uygulanacak atık sudan organik maddelerin uzaklaştırılması da gerekmektedir (Uslu vd. , 1996).

Bu klasik yöntemler ekonomik ve pratik olmamakla birlikte, atık sulardaki aşırı metal kirliliğini kabul edilebilir seviyelere azaltmak için kullanılır. Ancak endüstriyel atık suların içerdikleri metallerin ekonomik olarak geri kazanılması, kullanımda bu metaller için ikincil bir kaynak oluşturabilir. Metal iyonlarının mikroorganizmalara bağlanması ve su arıtımında kullanılması hızla gelişen bir alandır.

2. 1. 1. 2. Bakır Kirliliği İçeren Atık Sular

Bakır, ağır metal kirlenmesi olarak çevrede çok bulunan, mikroorganizma, bitki, hayvan ve insanlara belirli konsantrasyonların üzerinde zehirlilik etkisi gösteren ağır metallerden biridir (Dunn ve Bull, 1983; İleri vd., 1994). Bakır madenleri, bakır ve pirinç kaplama sanayi, bakır-amonyum reyon fabrikaları, kağıt, petrol ve boya endüstrileri atık suları bakır içerir. Metal temizleme ve kaplama banyo ve çalkalama atık suları 120 mg/L' ye kadar bakır (II) kirliliği içerir. Bakır işleme endüstrisi atık sularındaki bakır ise 400 mg/L' ye kadar çıkmaktadır. Standartlara göre içme sularındaki maksimum bakır (II) iyon konsantrasyonları 1,0- 1,5 mg/L, sulama sularında ise 0,2- 5,0 mg/L' yi aşmamalıdır. Bakırın küçük miktarları sağlığa zararlı değildir ancak içme suyunda istenmeyen tat yapar. Vücutta biriken aşırı bakır ise, karaciğerde tahribe neden olur (Aksu vd., 1995). Bakır atık sulardan çöktürme, iyon değişimi, buharlaştırma, elektro diyaliz proseslerinin de dahil olduğu geri kazanım ile giderilir. İyon değişimi ve aktif karbon prosesleri 200 mg/L' den daha az konsantrasyonlarda bakır içeren atık suların arıtımı için oldukça uygun bir yöntemdir.

Canlı veya cansız mikroorganizmanın kullanılmasına bağılı olan biyolojik arıtım, metal miktarlarını çevreye uygun ve etkili yöntemlerle kabul edilebilir seviyelere düşürür (Volesky, 2001). Tablo 2. 4. ' de metal endüstrisi atık sularında bulunan ağır metal ve miktarları verilmiştir. Biyosorpsiyon ve biyoakümülyasyon ağır metal giderimine uygun biyolojik metotlardır. Bu metotların önemli avantajları az işletme masrafı, bertaraf edilecek kimyasal ve/veya biyolojik çamur hacmini minimize edilebilmesi ile çalışma şartlarının normal basınç ve sıcaklık şartları olmasıdır (Kadukova ve Vircikova, 2004). Tablo 2. 5 ' de ise ağır metal gideriminde ulaşılabilir seviyeler verilmiştir.

Tablo 2. 4. Metal Endüstrisi Atık Sularında Bulunan Ağır Metaller Ve Miktarları

AĞIR METALLER	DEĞERLER (mg/L)
Toplam Krom	2,0
Kurşun (II)	0,5
Bakır (II)	23,0
Nikel (II)	3,0
Kadmiyum (II)	0,5
Toplam Siyanür	0,1-1,0
Civa	0,0-0,5

Tablo 2. 5. Ağır Metal Gideriminde Ulaşılabilir Seviyeler (Patterson, 1985).

Metal	Çıkış Konsantrasyonu (mg/L)	Arıtma Teknolojisi
Arsenik	0,05	Sülfid çöktürmesi-filtrasyon
	0,06	Karbon adsorpsiyonu
	0,005	Demir hidroksitle çöktürme
Kadmiyum	0,05	Hidroksit çöktürmesi (pH 10)
	0,05	Demir hidroksitle çöktürme
	0,008	Sülfid çöktürmesi
Bakır	0,02-0,07	Hidroksit çöktürmesi
	0,01-0,02	Sülfid çöktürmesi
Civa	0,01-0,02	Sülfid çöktürmesi
	0,001-0,01	Alumle çöktürme
	0,0005-0,005	Demir hidroksitle çöktürme
	0,001-0,005	İyon değişimi
Nikel	0,12	Hidroksit çöktürmesi (pH 10)
Çinko	0,10	Hidroksit çöktürmesi (pH 11)

2. 2. Ağır Metal Kirliliği İçeren Atık Suların Arıtılmasında Mikroorganizmaların Kullanılması

Kalıcı kirleticiler olarak nitelendirilen ve bir organizmadan diğerine besin zinciri ile geçerek, yüksek yapılı organizmalarda birikme özelliğine sahip olan ağır metalleri içeren atık suların kullanım amacı ve su standartlarına göre kontrolünün yapılması ve bu iyonların atık sudaki miktarlarının mutlaka istenen seviyelere düşürülmesi gereklidir. Atık sulardaki diğer organik kirleticiler, biyolojik bozulmayla zararsız hale gelebildikleri halde, ağır metallerin bu yolla zararsız bileşimlere dönüşmeleri söz konusu değildir. Bu özelliğinden dolayı ağır metal kirliliğini içeren atık sular insan ve çevre sağlığı için oldukça tehlikeli olmaktadır ve sulardan uzaklaştırılmaları zorunludur (Denizli ve Salih, 1995).

Ağır metal kirliliği içeren atık sular, işletmede uygulanan işlemlere, kullanılan suya, işletmenin kapasitesine göre büyük farklılık gösterir. Bu atık suların kirlilik dereceleri, kullanım amacına göre istenilen düzeye indirilmelidir. Bu atık suların arıtılması genelde işletmenin kapasitesine, atık suyun debisi ve özelliklerine, işletmedeki arıtma tesisi ile kullanılan yöntem ve malzemeye bağlı olmakla beraber; temeli kimyasal olarak metal iyonunun çökebilene bir

bileşiği şekline dönüştürülmesine dayanır. Daha ileri arıtımlar için, aktif karbon adsorpsiyonu, iyon değişimi, ters osmoz gibi farklı fizikokimyasal yöntemler kullanılır. Pahalı ve çok verimli olmayan bu yöntemlere alternatif olarak, mikroorganizmaların metal iyonlarını adsorblama yeteneğinden faydalanılarak, atık su arıtımında kullanımı düşünülmüştür ( zer vd., 1994).

Metal iyonlarının mikroorganizmalara bağlanması ve bunun su arıtımında kullanılması hızla gelişen bir alandır. Ağır metallerin biyosorpsiyonunda yaşayan ya da yaşamayan mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Bu canlılar mantarlar, bakteriler ve mayalardır. Canlı hücrelerin çevrelerinden metal iyonlarını alarak, hücre içinde biriktirmeleri bilinen bir özelliktir. Mikroorganizmaların ise ağır metal iyonlarına karşı özel bir ilgilerinin olduğu ve seçimli olarak biriktirdikleri gözlenmiştir. Metallerin hücre yapısına girmesindeki ilk işlem, hücre duvarı veya zarı ile metal iyonu arasındaki etkileşimdir. Mikroorganizma zarlarının dış yüzeyleri metal iyonlarının adsorblanabileceği değişik karbonhidrat ve proteinlerinden oluşmuştur (Aksu vd., 1995).

Canlı organizmaların yaşam proseslerinde metaller de rol oynar. Bazı metaller (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na, Ni, Zn gibi) besin maddesi olarak, redoks proseslerinde, elektrostatik çekimlere karşı molekülleri stabilize etmek için, çeşitli enzimlerin bileşenleri olarak ve osmotik basıncın ayarlanmasında kullanılabilirler ve gereklidirler. Diğer çoğu metaller (Ag, Al, Au, Pb, Cd, Hg gibi) biyolojik rolleri yoktur ve gerekli değillerdir. Tüm canlı veya  l  mikrobiyal hücreler, metallerin ayrı ayrı parçacıklı formları için iyi derecede verimli biyoak m lat r olabilirler. Bütün mikroorganizmaların hücre yüzeyleri, sahip oldukları değişik aniyonik yapılarından ötürü negatif y kl lerdir. Bu, mikroorganizmaya metal katyonlarını bağlama özelliği sağlar (Hussein, vd., 2004). Hücre yüzeyi sorpsiyon mekanizması, hücre metabolizmasından bağımsızdır ve hücre duvarı ile metal arasındaki fizikokimyasal etkileşime bağlıdır. Mikroorganizmanın hücre duvarı başlıca polisakkarit, yağ ve proteinleri içerir ki bunların çoğu metaller için bağlayıcı özelliktedir. Bu prosesin metabolizmadan bağımsız olmasıyla birlikte, metallerin bağlanması çok kısa sürer ve çoğunlukla tersinirdir (Kadukova ve Vircikova, 2004). Çeşitli mikroorganizma türlerinin, kirlenmiş çıkış sularından çeşitli ağır metallerin biyoak m lasyonunda gerçekten verimli olduğu görülmüştür. Tablo 2. 6 'da endüstriyel atık sulardan metal gideriminde kullanılan bazı mikroorganizmalar verilmiştir.

Tablo 2. 6. Endüstriyel Atık Sulardan Metal Gideriminde Kullanılan Bazı Mikroorganizmalar (Eccles ve Hunt, 1986).

Mikroorganizma	Metal
<i>Zooglea ramigera</i>	Bakır
<i>Saccharamyces cerevisiae</i>	Uranyum ve diğer metaller
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Uranyum
<i>Chlorella vulgaris</i>	Altın, çinko, bakır, civa
<i>Aspergillus arhizae</i>	Kadmiyum
<i>Aspergillus niger</i>	Bakır, kadmiyum, çinko
<i>Pecicillium spinulosum</i>	Bakır, kadmiyum, çinko
<i>Trichoderma viride</i>	Bakır

Polikarkov (1966) yaptığı bir çalışmada, denizde yaşayan mikroorganizmaların radyoaktif elementleri sudan direkt olarak adsorpladığını ve bu özelliğin canlı hücreler için olduğu gibi ölü hücreler için de geçerli olduğunu göstermiştir.

Tezuka 1968 yılında yaptığı bir çalışmada çözeltideki aktif çamur bakterisi üzerindeki negatif yüklü hücre yüzeyleri ile metal iyonları arasında iyonik bağ köprülerinin oluşarak, metal adsorpsiyonunun gerçekleştiğini ileri sürmüştür (Volesky, 1986).

Norberg ve Persson (1984), *Zooglea ramigera* biyokütlesinin her gramına 0,17 grama kadar bakır iyonlarını akümüle edebildiğini bulmuştur. Kuhn ve Pfister (1990), tarafından yapılan bir çalışmada aynı bakterinin alginat içinde tutuklandığında 250 mg/L gibi yüksek kadmiyum çözeltilerinin kadmiyum (II) iyonlarını akümüle edebildiğini göstermiştir.

Norberg ve Rydin (1984), sürekli sistemde *Z. ramigera* 'ya bakır adsorpsiyonunu çalışarak, kesikli ve sürekli sistemleri karşılaştırmış ve kesikli sistemlerde mikroorganizmanın adsorpsiyon kapasitesinin daha yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır.

Wang ve Kwok (1992), elektro kaplamacılık atığından izole ettikleri bir bakteri türü ile atıkta bulunan nikel (II) iyonlarını büyük oranlarda uzaklaştırmayı başarmışlardır. Ayrıca poliakrilamide tutukladıkları bakteri hücrelerinin en yüksek nikel iyonlarını uzaklaştırma kapasitesi ve verimliliğini, bakteri hücrelerinin üreme koşullarını ve biyoreaktörün işletme koşullarını optimize ederek elde etmişlerdir.

Stoll ve Duncan (1996), yaptıkları bir çalışmada; canlı *S. cerevisiae* ile elektrolizlenmiş üç çıkış suyundan bakır (II), krom (VI), nikel (II) ve çinko (II) iyonlarının biyolojik birikimi ve

glikoz miktarının birikme üzerindeki etkisini araştırarak, glikozun maya çıkış suyu solisyonuna direkt ilavesi, biriken metal miktarı üzerinde etkili olmadığını ortaya koymuşlardır.

Uslu, vd., (1996), yaptıkları bir çalışmada üreme ortamında eklenen kadmiyum (II) iyonu konsantrasyonunun *R. arrhizus*'un üremesine etkisi ve adsorpsiyonu kesikli bir kapta araştırmışlardır. Farklı başlangıç kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarında, üreme ortamında bulunan kadmiyum miktarının artmasıyla birlikte üreyen *R. arrhizus* miktarının azaldığı gözlenmiştir. 1996 yılında ise *R. arrhizus* 'un üreme hızı üzerine kurşun (II) ve kadmiyum (II) iyonlarının birlikte etkisi incelenmiş ve farklı başlangıç kurşun (II) ve kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarında, üreme ortamında bulunan metal miktarının artmasıyla birlikte üreyen *R. arrhizus* miktarının azaldığı, düşük başlangıç kurşun (II), kadmiyum (II) ve kurşun (II) + kadmiyum (II) iyonlarının birlikte bulunduğu ortamda zamanla üreyen mikroorganizma konsantrasyonunun arttığı görülmüştür (Uslu, 1999).

Wang ve Shen (1996) 'nın yaptığı bir çalışmada üç farklı bakteri türü olan *Bacillus sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Escherichia coli* 'nin krom (VI) redüksiyonu incelenmiştir.

Aksu ve Dönmez (2000), bakır (II) içeren atık suda melas (şeker tortusu) kullanılması ve *Kluyveromyces marxianus* 'un bakır (II) bioakümüilasyon özellikleri ve büyüme üzerine etkileri incelenmiş, bira mayası hücrelerinin ağır metalleri akümüle etmeye yetenekli olduğu, büyüme ortamında melasın kullanılmasıyla metal tutulmasının arttığı, bakır (II) akümüilasyonunun pH ve her iki başlangıç sakkaroz ve bakır (II) konsantrasyonuna bağlı olduğu, *Kluyveromyces marxianus* 'un bakıra karşı toleranslı olması nedeniyle atık sudan bakır iyonları gideriminde kullanılabileceği görülmüştür.

Dönmez ve Aksu (2000), yaptıkları bir diğer çalışmada adapte olmuş ve olmamış büyüyen *Candida sp.* ile bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının bioakümüilasyonunu incelemişlerdir. *Candida sp* 'nin adapte edilmiş hücrelerinin daha yüksek metal iyonu konsantrasyonlarında bioakümüilasyonunun ve ağır metale dayanıklılığının, adapte edilmemiş hücrelerden daha iyi olduğu bulunmuştur. Her iki hücre türü için maksimum metal biriktirme kapasiteleri logaritmik büyüme fazının sonunda bulunmuştur.

Aksu (2001), biosorbent olarak bir yeni alg türü olan *C. vulgaris* 'i kadmiyum (II) iyonlarını gidermek için kullanılmıştır. Kullanılan algin kadmiyum (II) iyonlarını giderme kapasitesinin büyük ölçüde pH 'ya bağlı olduğu gözlenmiştir.

Srinath, vd., 'nin (2001) yılında yaptıkları bir çalışma, kromata dayanıklı bakteri kullanarak krom (VI) iyonlarının biyosorpsiyonu ve bioakümüilasyonu üzerinedir. Bu amaç için çalışılan birçok canlı türünden *Myxococcus anthus* ve *Saccharomyces cerevisia* 'nın krom dahil birçok ağır metal giderimi için en iyi performansı gösterdiği ve *Bacillus* izolasyonlarının krom (VI) 'yı çok iyi derecede biyoakümüle etme yeteneğine sahip olduğu görülmüştür.

Hussein, vd., (2004), tarafından yapılan bir çalışmada *Pseudomonas* türünün ağır metalleri tutmaları ve toleransları araştırılmıştır. Biyolojik sistemlerde krom (VI) dirençli *P. fluorescens* bakterisi ile hücre büyümesine en yüksek inhibisyon etkisi yaptığı görülmüştür. Bakıra dirençli *P. putida* 'nın bakır konsantrasyonunun 3 mmol 'e kadar, nikel konsantrasyonunun 5 mmol'e kadar olduğu ortamlarda üreyebildiği izlenmiştir. Bakteriyel büyüme üzerine bakırın toksik etkisinin kadmiyum ve kroma göre düşük olduğu, bakır varlığında nikelin akümüülasyonunun çok fazla etkilenmediği halde, kadmiyumun nikel akümüülasyonunu etkileyen önemli bir faktör olduğu ve diğer taraftan kromun nikel dirençli canlı büyümesinde güçlü bir inhibisyon etkisine sahip olduğu ispat edilmiştir.

Kadukova ve Vircikova (2004), yaptıkları bir çalışmada, bakır akümüülasyonu ve biosorpsiyonu *Chlorella kessleri* mikroorganizması ile karşılaştırılmıştır. Her ikisinde de çözeltiden bakırın alınması çok kısa sürmüştür, en iyi bakır konsantrasyonu azalması ilk bir saatte gerçekleşmiştir. Ardı ardına oluşan canlı hücre yıkımları, düşük proses kapasiteleri biyokütlenin tekrar kullanılabilmesine engel olduğundan, ayrıca sorpsiyon kolonlarında gerekli olan porozite, sertlik, mekaniksel dayanıklılık gibi faktörlerden dolayı ölü biyokütlenin bazı açılardan daha avantajlı olabileceğini savunmuşlardır.

2. 3. Mikroorganizmalar

Mikroskop altında görülebilen ve genellikle tek hücreli olan canlılara mikroorganizma denir. Mikroorganizmalar doğada geniş ölçüde yayılmış olup, toprakta, suda, havada, çeşitli gıda maddelerinde, insan ve hayvanların bağırsaklarında, çürüten organik maddelerde ve hemen hemen her yerde bulunurlar. Sulardaki mikroorganizma sayısı ise kirlilikle birlikte artmaktadır. Mikroorganizmalar, yüksek yapıli organizmalarda görülmeyen bazı ortak özellikleriyle birbirlerine benzerler. Mikroorganizmaları inceleyen bilim dalına ise mikrobiyoloji denir.

Dünyanın en eski, en yaşayan ve en küçük canlıları olan mikroorganizmalar, insanlara hem yararlı hem de zararlı birçok olaylara sebep olmakta ve hızla gelişen biyoteknolojide büyük önem kazanmaktadır (Unat, 1993).

Mikroorganizmalar büyüme ve üreme için karbon, azot, kükürt, fosfor ihtiyaçlarını farklı yollarla karşılarlar. Karbon ihtiyacını CO₂ ' den sağlayan mikroorganizmalara ototrof, organik bileşiklerden sağlayanlara heterotrof denir. Yaşamsal aktivitelerini havalı ortamda sürdürenlere aerobik, havasız ortamda sürdürenlere anaerobik mikroorganizma denir.

Mikroorganizmaların gelişmesi için gerekli veya gelişmeyi teşvik eden maddeleri içeren ortama besiyeri denir. Mikroorganizmaları, laboratuvar şartlarında geliştirebilmek için besin

ihtiyaçlarını iyi bilmek gerekir. Besin ihtiyaçları sahip oldukları enzim sistemine göre değişir (zelik, 1996).

Bütün organizmalar karbon, azot, oksijen, hidrojen, fosfor, kükürt ve minerallerden oluşmuşlardır. Hücrelerin bileşimi, organizmanın cinsine ve ortam şartlarına bağlı olarak değişir.

Mikroorganizmaların gelişmesi için su gereklidir. Mikroorganizma hücresinin yapısında % 77- 85 su vardır. Çözücü ortam olarak su, organik ve inorganik besin maddelerinin hücreye alınması ve taşınması için gereklidir. Besin maddelerinin hücreye alınması ve metabolizma atıklarının hücreden atılması su ile olur. Su, sahip olduğu ısı kapasitesi sayesinde, hücrenin ısı durumunu ayarlar (Pekin, 1982; Kargı, 1993; zelik, 1996).

Mikroorganizmaların çoğu enerji kaynağı olarak organik bileşikleri (zellikle karbonhidratları) kullanırken, mavi-yeşil algler bu amaçla ışık enerjisinden, kemotrof mikroorganizmalar ise inorganik bileşiklerden yararlanırlar. Azot kaynağı olarak organik azotlu maddelerden, amonyum veya nitrat tuzlarından yararlanırlar. Proteinler, aminoasitler, üre ve ürik asit de azot kaynağı olarak kullanılabilir. Azot, hücre bileşiminin kuru ağırlık bazında % 10- 15 'ini teşkil eder. Ayrıca mikroorganizmaların gelişmeleri ve üremeleri için fosfor, kükürt, potasyum, magnezyum, kalsiyum ve sodyum gibi mineral maddeler ile demir, bakır, çinko, mangan, molibden, bor, kobalt, nikel, silisyum, vanadyum ve klorür gibi eser miktardaki elementlere de ihtiyaç duyarlar. Fosfor, hücre ağırlığının yaklaşık % 8'ini; kükürt ise % 1'ini teşkil eder (Pekin,1982).

Mikroorganizmaların gelişme ve çoğalmaları yeterli besin maddelerinin yanında, uygun evre şartlarına da bağlıdır. Nem, sıcaklık, pH, moleküler oksijen, osmotik basınç ve ışık mikroorganizmaların çoğalma ve gelişmelerini etkileyen önemli faktörlerdir. Mikroorganizmaların her türü, gelişme ve çoğalması için evre şartları uygun olduğu sürece varlığını srdrtr. Besin maddelerinin azalması, sıcaklık, nem, pH v.b. evre faktörleri, mikrobiyal populasyon üzerinde seçici etkiye sahiptir. Mikroorganizma türünün canlı kalması ve gelişebilmesi için, değişen evre şartlarına uyum sağlaması gerekmektedir.

2. 3. 1. Bakteriler

Monera alemini oluşturan, prokaryot canlının en yaygın ve en çok bilinen grubu bakterilerdir. Bakterilerin bulunmadığı yer yoktur. Besin ve fermentasyon endstisinde, katı atıkların ve atık suların arıtılmasında önemli rol oynarlar.

Bakteriler atık su arıtma ünitelerinde oldukça yaygın olarak bulunurlar ve karbon, azot, fosfor ve kükürt bileşiklerinin giderilmesinde kullanılırlar. Bakteri hücre büyüklükleri 0,5- 3 m

(10^{-6} m) arasında değişir ve şekillerine göre çubuk, yuvarlak, spiral, virgül gibi değişik isimler alırlar. Prokaryot olduklarından çekirdek zarları yoktur, hücreleri cansız bir çeperle sarılıdır. Bakteri hücreleri stoplazma içinde ribozomlar (protein sentezleme üniteleri), depolama parçacıkları (kükürt, yağ, glukojen), sporlar (sıcaklığa ve zararlı maddelere karşı korunma üniteleri) ve volutin (polimetafosfat parçacıkları) bulunur.

Suda bakteri üremesi, bakterilerin meydana getirdiğı tepkimelerde elektronların vericilerinden alıcılara akması sonucu olmaktadır. Arıtımı gerçekleştiren bakteriler açık bir sistem olduklarından, tepkimeler sırasında ortaya çıkan enerjinin sadece bir kısmı üremede kullanılmakta, gerisi çevreye ısı kaybı olarak verilmektedir. Bakterilerin gerçekleştirdiğı tepkimelerin kimyasal tepkimelerden en farklı yanı, bakteriyel tepkimelerde bazı termodinamik kuralların geçerli olmadığıdır.

Bakteriler atık sularda ve atık suların tasfiye işlemlerinde bulunan organizmaların en önemli grubudur. Çünkü atık suda bulunan organik maddelerin stabilizasyonundan ve biyolojik yumaklaşmadan çok büyük oranda sorumludurlar. Çok hızlı olarak çoğalabilen bakterilerin boyutlarının son derece küçük olması, yüzey alanlarının ise muazzam derecede büyük olması kendilerine yaşadıkları ortamı süratle değiştirebilme imkanı verir. 5 µm çaplarında olanları varsa da çoğunlukla 0,2- 1,5 µm çapındadır. Büyük çoğunluğu 1- 10 µm kadardır. Bakterilerin boyutları çok küçük olduğu için en çok 1000- 1500 defa büyüten ışık mikroskopunda incelenebilirler ve bu büyütme ile sadece hücrenin dış şekli ve dış boyutları görülebilir. Tek başlarına veya gruplar halinde yaşayabilirler. Bazı bakteriler, kapsül denilen jelatine benzer bir madde ifraz ederler. Bunlar birbiri ile birleşince, aktifleştirilmiş çamur yumaklarında ve damlatmalı filtre yataklarında biyofilm içinde bulunan canlı topluluklarını meydana getirirler.

Diğer mikroskobik canlılarda olduğu gibi bakterilerin hayatlarında sıcaklık ve pH önemlidir. pH değeri bakterilerin gelişmesi üzerine tesir eden önemli çevre faktörlerinden biridir. Organizmaların 9,5' dan büyük veya 4,0' dan küçük pH değerlerine tahammülleri yoktur. Genel olarak optimum büyüme için optimum pH değeri 6,5- 7,5 arasındır. En iyi fonksiyon yapabilecekleri sıcaklık bölgelerine göre; psikrofil (düşük sıcaklıklarda 12- 18° C büyüeyebilenler), mezofilik (orta sıcaklıklarda 25- 45° C büyüeyebilenler), termofilik (yüksek sıcaklıklarda 55- 65° C büyüeyebilenler) olarak sınıflandırılabilirler.

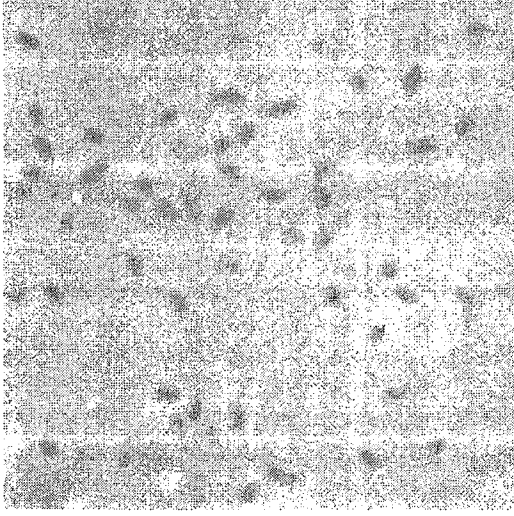
Amonyak ve nitritler gibi inorganik azot bileşiklerinden enerjilerini alan bakterilere nitrifikasyon bakterileri (Nitrosomonas, Nitrobakter); hidrojen, sülfür, kükürt ve tiyo sülfat gibi basit inorganik kükürt bileşiklerinin oksitlenmesinden enerjilerini temin eden bakterilere kükürt bakterileri (Beggiatoa, Thiotrix gibi); iki değerli demir bileşikleri gibi demirin indirgenmiş inorganik şekillerinin oksitlenmesinden enerji alanlara demir bakterileri (Crenothrix, Heptothrix, Spirohyllum ve Sideramonas gibi) denir (İleri, 2000).

Çevre mühendisliğinde önemli olan başlıca bakteri sınıfları *Pseudomonadales*, *Chlamylobacteriales*, *Eubacteriales*, *Baggiotoale* ve *Spirochaetales* ' dir. Bu sınıflara ait türler arıtma sistemlerinde farklı görevler üstlenirler. Protein ağırlıklı madde ortamında daha ziyade *Alcaligenes*, *Flauoacterium* ve *Bacillus* gibi türler, karbonhidrat ve hidrokarbon atıklarının bulunduğu ortamda ise bunlarla birlikte *Pseudomonas*, *Arthrobacter* türleri yer alabilir. Yine *Zoogloea ramigera*, *Acinobacter*, *Nitrosamonas*, *Nitrobacter*, *Cytophaga* ve diğer bütün bakteri türleri az veya çok sayıda aktif çamur yumağında yer alabilirler. Oksidasyon havuzlarına hakim bakteri türlerinden *Pseudomonas*, *Flavobakterium* ve *Alcaligenes* başta gelmektedir. Koliform bakterileri oksidasyon havuzlarında çok çabuk yok olmaktadır. Damlatmalı filtreler aerobik olarak kabul edilse de tam olarak aerobik değildir. Bu yüzden sisteme hakim olan mikroorganizmalar aerobik, fakültatif ve anaerobiktir. Biyolojik katmanın üst kısımlarında *Bacillus* türleri hakim durumdadır. Sistemde genellikle *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobakterium*, *Micrococcus*, *Enterobacteriaceae* gibi fakültatif organizmalar çoğunluktadır. Altta bulunan anaerobik tabakada ise genellikle *Desulfovibrio* türüne rastlanmaktadır (İleri, 2000).

Bakterilerin pek çok ciddi hastalığa sebep olmadaki rolleri tıpta bakteriyoloji ilminin doğmasına vesile olmuştur. 1854 yılında, bakteriyologlar dikkatlerini sulara çevirmişlerdir. O zamandan beri, bakteri ve diğer hastalıkların taşınmasında suyun önemi takdir edilmektedir.

2. 3. 1. 1. *Pseudomonas putida*

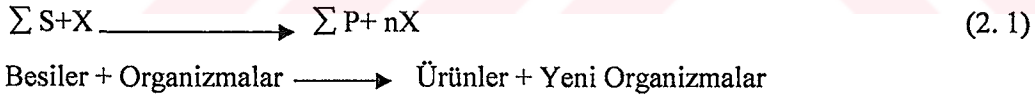
P. putida toprak veya suda serbest yaşayan *Pseudomonas* ailesine ait bir bakteridir. Bunlar biyodegradasyon, karbon-azot vb. döngülerinde önemli rol oynarlar. Karbon kaynaklarını parçalayabildikleri için kirlilik gideriminde kullanılabilirler. Boyutları 0,5- 1,0 µm, 1,5- 4,0 µm arasında değişir. Mezofilik olduklarından optimum üreme sıcaklığı 25- 30° C' dir. Gram negatif olup, sporsuz ve çubuk şeklindedirler. Aerobik metabolizmalı, bir veya daha çok kamçıyla hareket edebilen ve geniş bir organik madde çeşitliliğinde büyüeyebilen canlılardır, özellikle düşük molekül ağırlıklı organik bileşikleri kullanabilirler. Üç büyük yapısal bileşenden oluşur. Bunlar; lipopolisakkarid, protein ve fosfolipitten oluşan dış zar, fosfolipit ve proteinden oluşan iç zar ve polisakkarit ile peptitlerin çapraz bağlı kompleksi olup, hücre zarlarını çevreleyen peptidoglycan (PEG) tabakasıdır. Gram-negatif bakterilerde ince bir tabaka halinde olan PEG tabakası, kimyasalların parçalanmasından, organizmanın iç yapısını korumaya yeteneklidir. *P. putida* yapısal bu özellikleri sayesinde ağır metalleri biriktirme özelliğine sahiptir (Prescott, vd., 2002). Şekil 2. 1 ' de *P. putida* bakterisinin mikroskopik görünüşü verilmiştir.



Şekil 2. 1. *Pseudomonas putida* Bakterisinin Mikroskopik Görünüşü

2. 4. Mikrobiyal Kinetik

Organizmalar bulundukları ortamdan besin maddeleri alarak hücresel bileşiklere dönüştürürler ve bölünerek ya da birleşerek çoğalırlar. Çoğalma ya organizmaların sayısal artışı ya da kütsel artışı şeklinde olur (Kargı, 1993). Mikrobiyal populasyon büyümesi sayı olarak artma veya mikrobiyal kütledeki artış olarak tanımlanır. Mikrobiyal hücre veya kütledeki artış büyüme hızını belirler (Bitton, 1994). Çoğalma aşağıdaki denklemle ifade edilebilir;



Mikroorganizmalar büyüme ortamlarına konduklarında, ortamdaki besin maddelerini kullanarak büyürler ve mikroorganizmaların kesikli üretimleri sırasında birçok biyokimyasal reaksiyon katalizlenerek çeşitli ürünler oluşmaktadır.

Belirli bir besin ortamında ve bilinen koşullarda mikroorganizmaların zamanla çoğalması olayları ve bu olaylarla ilgili matematiksel bağıntıların türetilmesi mikrobiyal kinetiğin içine girer. Kültüre alınan mikroorganizmaların sabit pH, sıcaklık, iyon kuvveti ve basınç gibi dış koşullar altında belirli substrat konsantrasyonlarında gelişme ve üremeleri çeşitli evrelerden geçer.

Organizmaların büyümesi otokatalitik tepkimelere iyi bir örnektir. Organizmalar biyokatalizörler olduklarından büyüdükçe konsantrasyonları ve dolayısıyla büyüme ve besin giderme hızları artar.

Özgül büyüme hızı aşağıdaki denklemle ifade edilir;

$$\mu = \frac{1}{x} \frac{dx}{dt} \quad (2.2.)$$

Bu eşitlikte, μ , özgül büyüme hızı; X , organizma konsantrasyonu (g hücre/ L) ve t (sa) zamandır. Benzer şekilde özgül substrat (BOİ) giderme ve ürün oluşum hızları da tanımlanabilir.

$$q = \frac{1}{x} \frac{dS}{dt} \quad (\text{g S / g hücre. sa}) \quad (2.3.)$$

Substrat ve ürün birden fazla olabilir. Bu durumda her substrat / ürün için yukarıdaki eşitlikler yazılabilir. Ortamdaki organizma konsantrasyonu ya hücre sayarak ya da ağırlık ölçerek belirlenir. Bazı durumlarda ortamın absorbansı spektrometre ile ölçülerek ya da protein / DNA konsantrasyonları ölçülerek saptanabilir. Ortamın özelliklerine göre bu yöntemlerden biri kullanılır. Substrat giderilmesi ve ürün oluşumu da büyümenin bir ölçütü olabilir.

2. 4. 1. Kesikli Büyüme

Organizmalar büyüme ortamına konduklarında ortamdaki besi maddelerini (C, N, O, H, P, S, mineral vb.) kullanarak büyürler. Kesikli büyümede genellikle beş dönem gözlenir. Organizmanın kesikli büyüme eğrisi Şekil 2. 1' de gösterilmiştir (İleri, 2000).

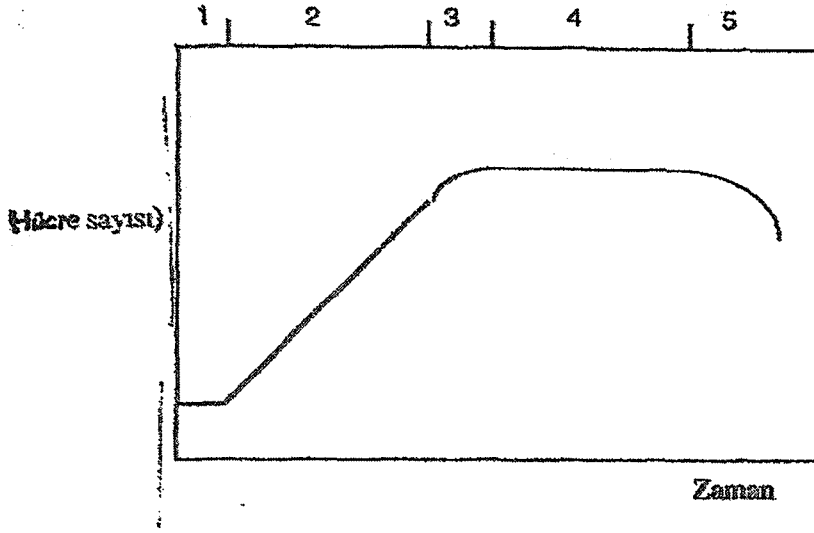
a- Gelişme evresi (Lag Fazı- Adaptasyon Evresi): Belirli besin ortamına ekilen mikroorganizmalar, yeni ortama uyum gösterip çoğalmaya başlayınca kadar belirli bir süre geçer. Bu sırada hücre ağırlığı çok az artsa dahi hücre sayısında hemen hemen hiçbir artış gözlenmez. Bu evrede, besi ortamının bileşimine ve şartlara göre organizmaların iç yapısında bazı değişiklikler olur. Yeni enzimler üretilir, bazı enzimlerin üretimi durdurulur. Mikrobiyal teknolojide bu sürenin kısaltılması ekonomik yönden büyük yararlar sağlar. Bu sürenin kısaltılabilmesi için aşı organizmalar, biyolojik reaktörlerin koşullarına uygun biçimde hazırlanmalı ayrıca mikroorganizmaların bu evrenin büyük bir kısmını laboratuvar kültüründe geçirmeleri ve kültür genişletme işlemleri ile de mikroorganizmaların reaktör koşullarına uyumları sağlanmalıdır. Büyüme ortamı, adaptasyon dönemini minimize, büyüme hızını maksimize edecek şekilde optimize edilmelidir (Jawetz vd., 1989; Kargı, 1993; Pekin, 1983).

b- Ekponansiyel (Logaritmik) Evre: Ortama adapte olan mikroorganizmalar, bu evrede maksimum hızla büyürler ve bütün hücre bileşenleri aynı hızla büyüdüklerinden ortalama hücre bileşimi sabit kalır. Hücrelerin kütlesi zamanla ekspanansiyel olarak artar ve büyüme hızı besi maddesi konsantrasyonundan bağımsızdır. Bu evrede mikroorganizmaların canlı olduğu kabul edilip, ölümleri yok sayıldığı için kinetik bağıntılar türetilirken bu faktör göz önüne alınmaz (Kargı, 1993). Ekspanansiyel evre maksimum substrat giderim oranını temsil eder. Atık su arıtımında amaç, substratın mümkün olduğunca hızlı giderilmesidir (Horan, 1990).

c- Duraklama Evresi: Bu evrede gelişme ve üreme hızı azalırken, ölüm hızı az da olsa artmaktadır. Bu dönemde bir ya da birden fazla besi maddesi limitleyici rol oynadığından ya da toksik ürün ortamda biriktiğinden büyüme yavaşlar ve büyüme hızı besi maddesi konsantrasyonuna bağlı olarak düşer (Pekin, 1980; Kargı, 1993).

d- Sabit (Statik) Evre: Bu evrede hücre konsantrasyonu sabit kalır. Net büyüme hızının sıfır olduğu bu dönemde, büyüme hızı ölüm hızına eşittir. Hücreler metabolik olarak aktif olup, ikincil ürünleri üretirler. Bu ürünler büyüme ile ilişkisi olmayan ürünlerdir. Ayrıca hücre kütlesi sabit kalmakla beraber, canlı ve aktif hücre derişimi düşer. Dış ortamda yeteri kadar besin maddesi kalmadığından, mikroorganizmalar hücre içi kaynağı tüketirler. Bu fazda bir taraftan bir miktar hücre çoğalması sürdürülürken bir taraftan da bazı hücreler ortam koşullarına dayanamayarak ölürlür. Ancak üreme sayısı ölüm sayısına eşit olduğundan herhangi bir büyüme olmaz. Bu nedenle bu döneme statik dönem denir (Kargı, 1993; Pekin, 1980).

e- Ölüm ya da Göçüş Evresi: Bu evrede ölüm hızı büyüme hızından büyüktür ve hücre konsantrasyonu zamanla düşer. Bu evrede mikroorganizmaların dışa salgıladıkları enzimlerden ötürü hücre zarlarında hidroliz ve parçalanma olayları belirgin bir hal alır. Bu duruma hücrenin kendi kendini sindirmesi veya otoliz denir. Otolizin sonucu hücrelerden ortama bazı besleyici maddeler geçerek, bazı canlı hücrelere besin oluşturulur. Böylelikle bazı hücreler bir süre daha bu dönem içinde büyümelerini sürdürürler. Ancak bu dönemde ortamdaki enerji ve zengin besin maddeleri tükendiğinden ölenlerin sayısı çoğalanların sayısından daha yüksektir (Jawetz vd., 1989; Öner, 1992).



- 1- Gelişme veya gecikme evresi
- 2- Logaritmik veya üstel üreme evresi
- 3- Duraklama evresi
- 4- Sabit evre
- 5- Ölüm evresi

Şekil 2. 2. Mikroorganizmaların Üreme Eğrisi

Substrat konsantrasyonunun kısıtlayıcı etken olduğu kesikli sistemlerde özgül büyüme hızı (μ) Monod eşitliği ile tanımlanır.

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (2. 4.)$$

Burada; μ_m , maksimum özgül büyüme hızı, K_s , substrat doygunluk sabiti, S ise substrat konsantrasyonunu vermektedir.

Monod eşitliğinin tersi alınırsa;

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s}{\mu_m} \frac{1}{S} + \frac{1}{\mu_m} \quad (2. 5.)$$

eşitliği elde edilir. Bu eşitliğe göre; $1/S$ 'ye karşı $1/\mu$ grafiğe geçirildiğinde eğimi K_s/μ_m , kayması $1/\mu_m$ olan bir doğru elde edilir.

Mikroorganizma konsantrasyonunun (X) zamanla değişimi;

$$dx / dt = \mu x \quad (2. 6.)$$

şeklindedir.

Bu eşitliğin integrasyonundan;

$$\ln x / x_0 = \mu t \quad (2. 7.)$$

elde edilir.

Mikroorganizma konsantrasyonunun iki katına çıkması için geçen süre, ikilenme süresi olup,

$$t_{1/2} = \ln 2 / \mu \quad (2. 8.)$$

bağıntısı ile hesaplanır.

Monod eşitliği bir tek besi maddesi büyüme hızını sınırladığı durumlarda geçerlidir.

2. 4. 2. Engellemeli (İnhibisyonlu) Büyüme

Bir reaksiyonun gerçekleşmesinin herhangi bir etki ile engellenmesi veya gerçekleşmesi hızının yavaşlatılması olayına inhibisyon, bu duruma yol açan etkilere de inhibitör adı verilir. Besin ve enerji kaynakları kadar biyolojik gelişme için etkili olan bir madde, belirli konsantrasyonları aşıldığında inhibitör etki gösterebilir.

Biyolojik arıtma sistemleri biyokimyasal reaksiyonlara dayanmaktadır. Mikroorganizmaların yaşam faaliyetlerini sürdürebilmeleri ve çoğalmaları için gerçekleştirdikleri birbirine bağlı biyokimyasal reaksiyonların oluşumunda, reaksiyon hızlarının bazı faktörlerden olumlu veya olumsuz etkilendiği bilinmektedir. Biyokimyasal reaksiyonlar, organizmanın yaşadığı ortamdaki pH, sıcaklık, basınç gibi fiziksel ve kimyasal faktörlere bağlı olarak meydana gelebilir. Reaksiyonların gerçekleşmesinde etkili olan bu faktörler aynı ortamda bulunan besin ve enerji kaynaklarının konsantrasyonları da olabilir. Optimum çevre şartları, mikroorganizma gruplarının kapasitesinden en yüksek düzeyde yararlanabilmek için gereklidir.

Küçük boyutları, büyük yüzey alanı-hacim oranları ve kısa difüzyon yolu uzunlukları mikroorganizmaların metabolik hızlarının yüksek olmasını sağlar fakat bu durum aynı zamanda onları sıcaklık değişikliklerine ve ortamın bileşiminin değişimine karşı aşırı derecede duyarlı yapar (Mulchandani ve Luong, 1989).

Özellikle atık su gideriminde, ortamda zehirli (toksik) ve engelleyici (inhibitör) bileşikler mevcut olabilir. Bu bileşikler organizmaların büyümesini ve BOİ/KOİ giderimini yavaşlatır. Ayrıca yüksek besi maddesi konsantrasyonları BOİ/KOİ ve ürün konsantrasyonlarını da engellemeye neden olur. Bu durumlarda hız eşitliği, engelleme (inhibisyon) terimini içerir (İleri, 2000).

Mikroorganizmalar arasındaki yapısal farklılıklardan dolayı, her tür mikroorganizmanın belirli bir inhibitör karşısındaki davranışı farklı olmaktadır. Örneğin belirli bir inhibitör bazı türlerin yaşamlarını tamamen durdururken, diğer türler üzerinde çok az etkili olmakta veya hiç etki göstermemektedir. Ayrıca, mikroorganizmanın inhibitörler karşısında davranışı inhibitör konsantrasyonuna bağlı olabildiği gibi, inhibisyon derecesi ortamdaki koşullardan da etkilenebilmektedir. Tüm koşulların aynı olmasında bile, aynı mikroorganizma fizyolojik durumuna bağlı olarak belirli konsantrasyondaki bir inhibitörden farklı şekil ve derecede etkilenebilmektedir (Öztürk, 1999).

Substratın mikroorganizmalarca ayrıştırılması sırasında inhibisyon etkileri, herhangi bir şekilde substratın, hücre fonksiyonlarının, ürünlerin, hücre yapısındaki maddelerin, enzim sistemlerinin etkilenmesi gibi çeşitli şekillerde ortaya çıkabilir. Bunlar arasında en çok rastlanan ve inhibisyon etkilerini en iyi karakterize eden biyokimyasal reaksiyonları katalizleyen enzimlerin aktivitelerinin inhibitörlerce düşürülmesidir. Enzimler hayvan, bitki ve mikrobiyal hücrelerde biyokimyasal reaksiyonların katalizleri olarak görev yapan protein molekülleridir. Enzimler kimyasal reaksiyona katıldıklarında yapısal değişikliğe uğramazlar ve bu nedenle tekrar tekrar kullanılabilirler. Biyokimyasal reaksiyonların aktivasyon enerjilerini düşürürler ve hızını artırır. Bazı protein dışı gruplar veya kofaktörler, enzim molekülleri ile ilişkili hale gelebilirler ve enzimlerin katalitik aktivitesine katkıda bulunabilirler. Bunlar koenzimleri (nikotinamid adenin dinükleotit, koenzim A ve flavin mononükleotit gibi) ve metalik aktivatörleri (K, Mg, Fe, Co, Cu, Zn, Mn, Mo gibi) içerir (Bitton, 1994).

Bir protein olan enzimler özelliklerini ısı, kuvvetli asit ve bazlar, organik çözücüler vb. karşısında kaybederler. Enzimler, intrasellüler (hücre içi) ya da ekstrasellüler (hücre dışı) olabilirler ve genellikle substratları için oldukça spesifikler (Bitton, 1994). Substratlar, spesifik reaksiyonlarda katalizör görevi yapan enzimlerin aktif bölgelerine bağlanır. Bu aktif bölgeler, amin asitler veya reaksiyonların oluşmasını sağlayan asitler veya bazlar, elektron alıcı veya verici görevi yapabilen diğer fonksiyonel gruplardan oluşmaktadır (Grady ve diğ. 1999).

Substrat enzim molekülünün aktif kısmı ile birleşerek bir enzim-substrat kompleksi (ES) oluşturur. Bunun sonunda yeni bir ürün (P) oluşur ve değişmemiş olan enzim (E), substrat (S) ile tekrar reaksiyona girmek için hazırır.



Biyokimyasal reaksiyonda hız kısıtlayıcı adım, substratın enzim ile yaptığı ES kompleksidir. Enzim üzerinde ortamda bulunan maddelerden bazıları, enzim aktif bölgelerini örtmekte ve substrat olmasa dahi, aynı substrat gibi enzim ile kompleks yaparak enzim aktivitesini düşürmektedir. Bu kompleks tersinir veya tersinir olmayan bir şekilde bağlanan inhibitörler enzimin substrat ile yapması gereken komplekse engel olur.

Yapısal olarak enzimlerle birleşen birçok madde bulunmaktadır. Bu maddelerin hepsi substrat olarak işlenemez ve bir kısım enzimlerin kataliz mekanizmasını önemli ölçüde etkiler. Enzimlerin kataliz mekanizmasını etkileyen maddeler inhibitördür. İnorganik veya organik yapıda olabilen inhibitörler en yaygın olarak üç farklı şekilde inhibisyon etkisi gösterirler:

1- Kompetetiv (Rekabetli) İnhibisyon: Ortamdaki substrat konsantrasyonundan etkilenen inhibisyondur. İnhibitör (I) ve substrat (S) enzimde aynı aktif bölge için rekabet halindedirler. Rekabetli inhibitör (I)'nın varlığında, reaksiyon hızı (V) şu eşitlikle verilmiştir:

$$V = \frac{V_{\max}(S)}{(S) + Km(1 + (I) / K_i)} \quad (2. 10.)$$

S, substrat konsantrasyonu mol/L

I, inhibitör konsantrasyonu mol/L

K_i, inhibisyon sabiti

K_m, Michaelis sabiti mol/L

V_{max}, maksimum enzim reaksiyon hızı (t⁻¹)

Bu eşitliğin tersi alınırsa;

$$1/V = \frac{Km}{V_{\max}}(1+(I)/K_i) \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{\max}} \quad (2. 11.)$$

K_m değeri (1+[I]/K_i) faktörü ile artarken, rekabetli inhibisyonda V_{max} etkilenmez.

2-Non- kompetetiv (Tersinir Olmayan) İnhibisyon: Ortamdaki substrat konsantrasyonundan etkilenmeyen inhibisyondur. İnhibitör I, her iki enzim E ile ES kompleksine bağlanabilir. Reaksiyon hızı;

$$V = \frac{V_{\max}(S)}{(K_m + (S))(1 + (I)/K_i)} \quad (2. 12.)$$

Tersi alınırsa;

$$1/V = \frac{K_m}{V_{\max}} \left(1 + (I)/K_i\right) \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + (I)/K_i\right) \quad (2. 13.)$$

İnhibitör varlığında $V_{\max}$ azalırken, iki kez tersi alınan ifadenin grafiğinin eğimi artar, K_m ise değişmeden kalır.

3-Un-Kompetetiv İnhibisyon: Substrat konsantrasyonuna değil enzim- substrat kompleksi konsantrasyonuna bağlı olarak etki gösteren inhibisyonudur. İnhibitör enzim-substrat kompleksine bağlanır fakat serbest enzime bağlanmaz. Reaksiyon hızı;

$$V = \frac{V_{\max}(S)}{K_m + (S)(1 + (I)/K_i)} \quad (2. 14.)$$

Tersi alınırsa:

$$1/V = \frac{K_m}{V_{\max}} \frac{1}{(S)} + \frac{1}{V_{\max}} (1 + (I)/K_i) \quad (2. 15.)$$

İnhibitör varlığında eğim aynı kalır fakat $V_{\max}$ ile K_m inhibitör konsantrasyonundan etkilenir.

2. 4. 2. 1. Substrat İnhibisyonu

Substrat inhibisyonu aktif çamurda ayrışan substratın konsantrasyonunun artmasıyla kendi kendinin ayrışma hızını düşürmesidir. Biyolojik arıtma sistemlerinde giriş konsantrasyonu mikrobiyal çoğalmayı etkiler. Düşük substrat konsantrasyonlarında, spesifik çoğalma hızı sıfıra çok yakındır, bu da mikrobiyal popülasyonda ihmal edilebilir bir değişikliği gösterir. Substrat konsantrasyonu verilen bir eşik sınırının üstüne çıktığında, spesifik çoğalma hızı substrat düzeyindeki artışla orantılıdır ve maksimum değere yaklaşır. Substrat konsantrasyonunda bunu izleyen bir artış, sonunda spesifik çoğalma hızında bir azalmaya neden olacaktır. Bu inhibisyon türü, substrat inhibisyonu olarak adlandırılır ve biyolojik atık arıtımı ile endüstriyel fermentasyonda sıklıkla görülür (Mulchandani ve Luong, 1989).

Rekabetsiz inhibisyon ;

$$\mu = \frac{\mu_m}{(1 + \frac{K_s}{S})(1 + \frac{S}{K_{si}})} \quad (2. 16.)$$

$K_1 \gg K_s$ ise

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S + S^2 / K_{si}} \quad (2. 17.)$$

Rekabetli inhibisyon;

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s(1 + \frac{S}{K_{si}}) + S} \quad (2. 18.)$$

denklemleri ifade edilebilir.

Besi inhibisyonu, besinin ortama yavaş yavaş ilavesi ile (yarı kesikli) giderilebilir.

2. 4. 2. 2. Ürün İnhibisyonu

Substrat inhibisyonu kadar karşılaşılan durumlardan biri de ara veya son ürün/ürünlerin oluşturduğu inhibisyonudur. Örneğin fermentasyon sırasında oluşan etanol, butanol, laktik asit vb. son ürünlerin ortamda birikmesi spesifik çoğalma ve ürün oluşum hızlarını düşürür, yeterince yüksek ürün konsantrasyonlarında hücrenin bütün metabolik aktiviteleri tamamen durur. Yapılan araştırmalar sonunda, son ürün tarafından mikrobiyal hücre aktivitesinin inhibisyon mekanizmasının karmaşık olduğu ve hala tam olarak anlaşılamadığı görülmektedir. Önerilen kinetik modellerin birçoğu karmaşıklığa bağlı olarak yapılandırılmamıştır ve ampriktir.

Rekabetsiz inhibisyon;

$$\mu = \frac{\mu_m S}{(K_s + S)(1 + \frac{P}{K_p})} \quad (2. 19.)$$

Rekabetli inhibisyon;

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s(1 + \frac{P}{K_p}) + S} \quad (2. 20.)$$

denklemleriyle ifade edilir.

Bu durumda daha çok rekabetsiz inhibisyon ifadesi kullanılır.

2. 4. 2. 3. Toksik Bileşik İnhibisyonu

Rekabetsiz inhibisyon;

$$\mu = \frac{\mu_m}{(1 + \frac{K_s}{S})(1 + \frac{I}{K_i})} \quad (2. 21.)$$

Rekabetli inhibisyon;

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s(1 + \frac{I}{K_i}) + S} \quad (2. 22.)$$

Kısmi rekabetli inhibisyon

$$\mu = \frac{\frac{\mu_m S}{(1 + \frac{I}{K_i})}}{\frac{K_s}{(1 + \frac{I}{K_i})} + S} \quad (2. 23.)$$

2. 5. Bioakümülyasyon

Mikroorganizma kullanılarak ağır metallerin biyolojik olarak giderimi sadece bilimsel bir yenilik olarak değil, aynı zamanda endüstride potansiyel olarak uygulamak için yakın zamanlarda bir hayli dikkat çekmiştir. Metal akümülyasyon prosesleri genel olarak ölü biyokütle

ürünleri ile olan pasif birikim ve canlı hücreler ile olan biyoakümülyasyon olarak iki katagoriden oluşur (Dönmez ve Aksu, 2000).

Adsorpsiyon, çözelti ile temas halindeki katı bir yüzeysel adsorbent üzerinde çözeltide çözünmüş olarak mevcut maddelerin tutulması işlemi olup, genellikle faz yüzeylerinde oluşan bir ayırma işlemidir (Cooney vd., 1992; Treybal,1981; Mc Cobe vd., 1985).

Canlı mikroorganizmalarla yapılan adsorpsiyon işlemine “ biyoakümülyasyon ” denir. Canlı ve ölü hücrelerle yapılan adsorpsiyon işleminin, düşük konsantrasyonlu ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılabilmesi önemli bir avantajdır (İleri, 1992). Ölü mikroorganizmalar, aktif organizmalara kıyasla oldukça yüksek, metal uzaklaştırma kapasitesine sahiptir. Fakat ölü mikroorganizmalarla çalışılırken, mikroorganizmanın ayrı bir yerde üretilip, daha sonra da öldürülmesi gibi bir takım zorlukları vardır. Bu zorluğu kaldırmak için de, uzaklaştırılması istenen kirliliğin bulunduğu ortamda mikroorganizma üretilerek, o ortama alıştırmak için mikroorganizma üremesi üzerine ağır metal iyonlarının etkisini ortaya koymak için çalışmalar yapılmıştır (Uslu vd., 1996).

Biyoakümülyasyon hücre içinde metal akümülyasyonudur. Bu proses hücresel bileşikler üzerindeki metal bağlayıcıları, iç hücresel çöktürmeyi ve diğer mekanizmaları içerir. Hücre metabolizmasına bağlı olduğu için enerji kaynağı eksikliği ve düşük sıcaklık gibi metabolik inhibitörler tarafından inhibe edilebilir. Biyoakümülyasyon için gerekli aktivasyon enerjisi 63 kJ/mol’ dır. Biyoakümülyasyon nutrient bağımlı ve yavaş bir prosestir (Kadukova ve Vircikova, 2004).

2. 5. 1. Mikrobiyal Büyümeyi Etkileyen Faktörler

2. 5. 1. 1. Substrat Konsantrasyonu

Spesifik büyüme hızı μ ile substrat konsantrasyonu S arasındaki ilişki monod eşitliği ile verilmiştir.

$$\mu = \frac{\mu_m}{K_s} \frac{S}{1 + \frac{S}{K_s}} \quad (2. 24.)$$

μ_{max} , maximum spesifik büyüme hızı

S, substrat konsantrasyonu (mg/L)

K_s , yarı doyma sabiti (mg/L)

Ks, spesifik büyüme hızının $\mu_{max} / 2K_s$ 'ye eşit olduğu zamanki substrat konsantrasyonudur ve substrat için mikroorganizmanın eğilimini temsil eder. μ_{max} ve Ks sıcaklık, karbon kaynağı türü ve diğer faktörlerden etkilenir. Ks değerleri atık suda tek kimyasallar için 0,1 ile 1,0 mg/L arasındadır (Bitton, 1994).

2. 5. 1. 2. Sıcaklık

Sıcaklık mikrobiyal büyüme veya hayatta kalmayı etkileyen önemli faktörlerden biridir. Mikroorganizma büyümesi, 100° C donma sıcaklığının altındaki değişen sıcaklıklarda meydana gelir. Optimum sıcaklığa bağlı olarak mikroorganizmalar mezofil, psikofil, termofil olarak sınıflandırılmıştır. Mikroorganizma büyüme hızı sıcaklığa bağlı olarak Arrhenius eşitliği ile verilir;

$$\mu = Ae^{-E/RT} \quad (2. 25.)$$

A= sabit

E= aktivasyon enerjisi (kcal / mol)

R= gaz sabiti

T= mutlak sıcaklık (K)

2. 5. 1. 3. pH

Atık suyun biyolojik arıtımı genelde nötr pH ' da gerçekleşir. Bakteri büyümesi için optimum pH asidofilik olanları için (Thiobacillus, Sulfolabus gibi) 2' nin altında olmasına rağmen 7' dir. Funguslar, asidik ortamı tercih eder ($pH \leq 5$). Cynabakteri ise 7' den yüksek pH değerlerinde büyür. Bakteriyel büyüme genelde asidik metabolitlerin (organik asitler, H_2SO_4 gibi) serbest kalmasıyla ortam pH 'ının düşüşüyle sonuçlanır. pH mikrobiyal enzim aktivitesini, kimyasalların iyonizasyonunu etkiler ve bundan dolayı nutrientlerin ve hücre içine toksik kimyasalların taşınımı üzerine rol oynar (Bitton, 1994).

2. 5. 1. 4. Oksijen Seviyesi

Mikroorganizmalar oksijen varlığında veya yokluğunda büyüyebilirler. Tam aeroblar, fakültatif aeroblar (oksijen varlığında veya yokluğunda büyüyebilenler) ve tam anaeroblar olarak sınıflandırılırlar. Aerobik mikroorganizmalar oksijeni son elektron alıcısı olarak

kullanılır. Anaeroblar sülfat, nitrat veya CO₂ gibi diğer elektron alıcılarını kullanırlar. Bazı mikroorganizmalar mikroaerofiliktir ve büyümek için oksijenin düşük miktarlarına ihtiyaç duyarlar. Oksijen redüksiyonu sonucunda oksijen superoksid (O₂⁻), hidrojen peroksid (H₂O₂) veya hidroksil radikaller gibi toksik ürünlere dönüşür. Daha sonra H₂ O₂ kataliz ve peroksidaz enzimleri tarafından bozulur ki O₂⁻ yine enzimlerle etkisizleştirilsin (Bitton, 1994).



2. 5. 1. 5. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonu Etkisi

Bütün metal iyonlarının mikroorganizmayla giderilmesinde başlangıç metal iyonu konsantrasyonunun giderim hızı ve verimliliğini oldukça etkileyen bir parametre olduğu saptanmıştır. Sabit sıcaklık ve optimum pH değerlerinde farklı başlangıç metal iyonu konsantrasyonlarında yapılan bir seri deney sonucunda, artan metal iyonu konsantrasyonu ile adsorpsiyon hızının arttığı ve en yüksek adsorpsiyon hızına ulaşıldığı gözlenmiştir (Aksu vd., 1995). Daha yüksek başlangıç konsantrasyonların değerlerinde ise, adsorpsiyon verimi düşer. Bu da, başlangıç metal konsantrasyonuna ulaşıldığının ve metal inhibisyonunun başladığının bir göstergesidir (Özen vd., 1996).

2. 5. 1. 6. Karıştırma Hızı

Karıştırma hızının artması, kayma geriliminin artmasına, bu da hücre ile ağır metalin temasının güçleşmesine sebep olmaktadır. Düşük karıştırma hızlarında, daha iyi adsorpsiyon değerleri gözlenmiştir (Özen vd., 1996).

3. MATERYAL VE METOD

3. 1. Genel

Mikroorganizmaların bulundukları ortamdan ağır metalleri seçici olarak biriktirebilme özelliklerinden faydalanarak, atık su arıtımında kullanılması düşünülerek; kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının *P. putida*'nın üremesi üzerine etkisi ve üreme kinetikleri araştırılmıştır. Hem labaratuarda üretilmeye, hem de yüzeyde üremeye yatkınlığı nedeniyle mikroorganizma olarak *P. putida* seçilmiştir. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının seçiminde ise mikroorganizmanın seçicilik özelliğinden yararlanılmıştır.

Bu çalışmada; kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının tek tek ve birlikte eşit konsantrasyonlarda bulundukları üreme ortamında *P. putida*'nın üremesi kesikli karıştırmalı reaktörde gerçekleştirilmiştir ve üreme kinetikleri belirlenmiştir.

3. 2. *P. putida*'nın Üretilmesi

Bu çalışmada American Type Culture Collection (A. T. C. C) 'den NRRL B- 252 koduyla getirilen *Pseudomonas putida* bakterisi kullanılmıştır. Bu bakterinin üretilmesinde kullanılan sıvı besi yeri bileşimi Tablo 3. 1. 'de verilmiştir. Tablodaki bileşime sahip besi yerinden 250 mL' lik erlenlere 100 mL ilave edilerek, erlenlerin ağızları pamuk tıkaç ve alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Bu şekilde hazırlanan besi yeri 121° C 'de 45 dakika süre ile otoklavda steril lenmiştir. Sterillenerek üretime hazırlanan besi yerine *P. putida* ekimi yapılmıştır. Daha sonra 30° C sıcaklık ve 150 rpm karıştırma hızında çalışan orbital inkübatörde 72 saat süre ile bekletilerek, *P. putida*'nın üremesi gerçekleştirilmiştir.

Metal içeren üreme ortamı hazırlanırken; hacim 100 mL olacak şekilde besi yeri, metal çözeltisi ve saf su ilave edilerek, erlenlerin ağzı alüminyum folyo ile kapatılıp, otoklavda steril lenmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra üreme ortamına steril koşullarda *P. putida* ilave edilerek, orbital inkübatörde 100 rpm karıştırma hızında 24 saat süre ile bekletilmiştir.

Tablo 3. 1. *P. putida* 'nın Üretilmesinde Kullanılan Sıvı Besiyerinin Bileşimi

Madde	Konsantrasyon, g/L
Glikoz	10,00
Maya özütü	2,0
Pepton	2,0
K ₂ HPO ₄	1,0
KH ₂ PO ₄	1,0
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
MgSO ₄ . 7H ₂ O	0,05

3. 3. Biyoakümülyasyonda Kullanılan Mikroorganizma ve Metal Çözeltilerinin Hazırlanması

3. 3. 1. *P. putida* Çözeltisinin Hazırlanması

P. putida Tablo 3. 1. 'de verilen miktarları içeren sıvı besi yerinde steril koşullarda 30° C sıcaklık ve 100 rpm karıştırma hızında çalışan orbital inkübatörde 24 saat süre ile bekletilerek üretilmiştir. Üretilen mikroorganizma daha sonra biyoakümülyasyon deneylerinin yapıldığı metal iyonlarını içeren besin ortamına aktarılmıştır.

3. 3. 2. Metal Çözeltilerinin Hazırlanması

Biyoakümülyasyon deneylerinde kullanılacak kadmiyum (II) iyonlarının 1 g/L'lik stok çözeltisi CdCl₂' den, bakır (II) iyonlarının 1 g/L'lik stok çözeltisi ise Cu(NO₃)₂' den belli miktar tartılarak sulu asidik ortamda hazırlanmıştır. Deneyler sırasında belli konsantrasyonlardaki kadmiyum ve bakır çözeltisi, stok kadmiyum ve bakır çözeltisinde gerekli seyreltmeler yapılarak hazırlanmıştır. Besin ortamının pH' sı seyreltik H₂SO₄ ve NaOH ile ayarlanmıştır.

3. 4. Kesikli Düzendeki Çalışan Karıştırmalı Kupta Üreme Çalışmaları

Farklı başlangıçlardaki kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarında (0- 100 mg/L) bir seri çözelti hazırlanıp, 50 mL besiyeri, 10 mL mikroorganizma ve belli konsantrasyonlardaki metal çözeltileri ile çalışma hacmi 100 mL' ye tamamlanmıştır. Mikroorganizma konsantrasyonu hariç, hazırlanan çözeltilerin pH' ları ayrı ayrı

ayarlanarak, başlangıç metal iyon konsantrasyonunun tayini için örnek alınıp, buzdolabına konulmuştur. pH 'ı ayrı ayrı ayarlanan hem metal içeren hem de metal içermeyen üreme ortamı 121° C 'de 45 dakika süre ile otoklavda sterillemiştir. Sterillenerek üretime hazırlanan metalli ve metalsiz besiyerine 10 mL *P. putida* ekimi yapıp, sabit sıcaklık ve karıştırma hızında orbital inkübatörde 72 saat süre ile bekletilmiştir. Aynı işlemler bakır (II) iyonları için de tekrarlanmıştır. Optimum pH, sıcaklık, mikroorganizma konsantrasyonu, metal iyonu konsantrasyonu, başlangıç substrat konsantrasyonu ve karıştırma hızı her bir metal iyonu için ayrı ayrı belirlenmiştir. Hem kadmiyum (II), hem de bakır (II) iyonlarının birlikte bulunduğu koşullarda ise, her iki metalin tek tek bulunduğu koşullara uygunluğu açısından optimum pH ve sıcaklık şartları belirlenmiştir. Üreme sonunda santrifüjlenen mikroorganizma sıvı kısmından ayrılarak, 60° C' de 16 saat süre ile kuru hava sterilizatöründe bekletilerek, kuru mikroorganizma konsantrasyonu belirlenmiştir.

3. 5. Analiz Yöntemleri

Ortamda kalan kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının konsantrasyonları Unicam 929 model atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile absorbans okunarak tayin edilmiştir. Kuru mikroorganizma konsantrasyonları ise mikroorganizma paletlerinin 60° C'de 16 saat süre ile kurutulup tartılmasıyla g / L olarak tespit edilmiştir.

4. DENEYSEL BULGULAR

Bu çalışmada; ağır metallere kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını *P. putida* 'nın üremesi üzerine ayrı ayrı ve birleştirilmiş etkileri başlangıç pH' sı, sıcaklık, başlangıç metal iyonu konsantrasyonu ve başlangıç glikoz konsantrasyonunun fonksiyonu olarak kesikli karıştırmalı reaktörde araştırılmıştır.

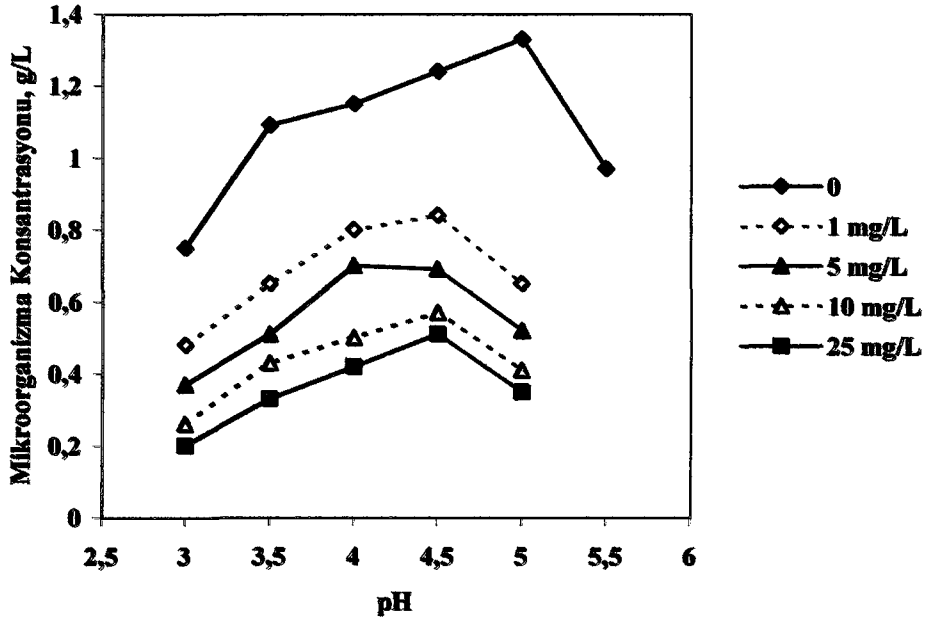
4. 1. Kesikli Karıştırmalı Reaktörde *P. putida* 'nın Üremesi Üzerine Metal İyonlarının Tek Tek Etkisi

4. 1. 1. Kadmiyum (II) İyonunun Etkisi

4. 1. 1. 1. Başlangıç pH' sının Etkisi

Kadmiyum (II) iyonu içeren üreme ortamında *P. putida* 'nın üremesi üzerine başlangıç pH' sı önemli bir parametredir. Hidrojen iyon konsantrasyonu mikroorganizmaların aktivitelerini ve büyümelerini önemli ölçüde etkiler. Her mikroorganizmanın maksimum aktivite gösterdiği optimum bir pH aralığı vardır. Organizmaların aktivitelerini maksimize edebilmek için ortamın pH 'ının optimum değerde kontrol edilmesi gerekmektedir.

Karıştırma hızı, sıcaklık, başlangıç glikoz konsantrasyonu ve metal konsantrasyonu sabit tutularak farklı başlangıç pH değerlerinde (pH= 3- 5) mikroorganizma konsantrasyonunun değişimi Şekil 4. 1'de görülmektedir. Metalsiz ortamda da pH aralığı 3- 5 olarak seçilmiştir. Maksimum üreme, metalsiz ortamda pH= 5'de, farklı başlangıç metal iyon konsantrasyonları içeren ortamda pH= 4,5 'da elde edilmiştir. Metalsiz ortamda pH= 5 değerinden, farklı başlangıç metal iyon konsantrasyonları içeren ortamda ise, pH= 4,5 'dan daha yüksek pH değerlerinde üremede azalma gözlenmiştir. Ayrıca hem metal iyonu bulunan hem de metal iyonu bulunmayan ortamlarda düşük pH değerlerinde *P. putida* 'nın üremesi üzerinde inhibe edici etki gösterdiği ve bu etkinin pH= 4,5 'dan daha yüksek pH değerinde de geçerli olduğu gözlenmiştir. *P. putida* 'nın ilk 64 saatte logaritmik fazda ürerken, daha sonra sabit faza geçmiştir. Farklı başlangıç metal iyonu konsantrasyonlarında pH= 5 değerinden daha yüksek değerlerde metal iyonları çöktüğü için üreme çalışmaları yapılamamıştır.



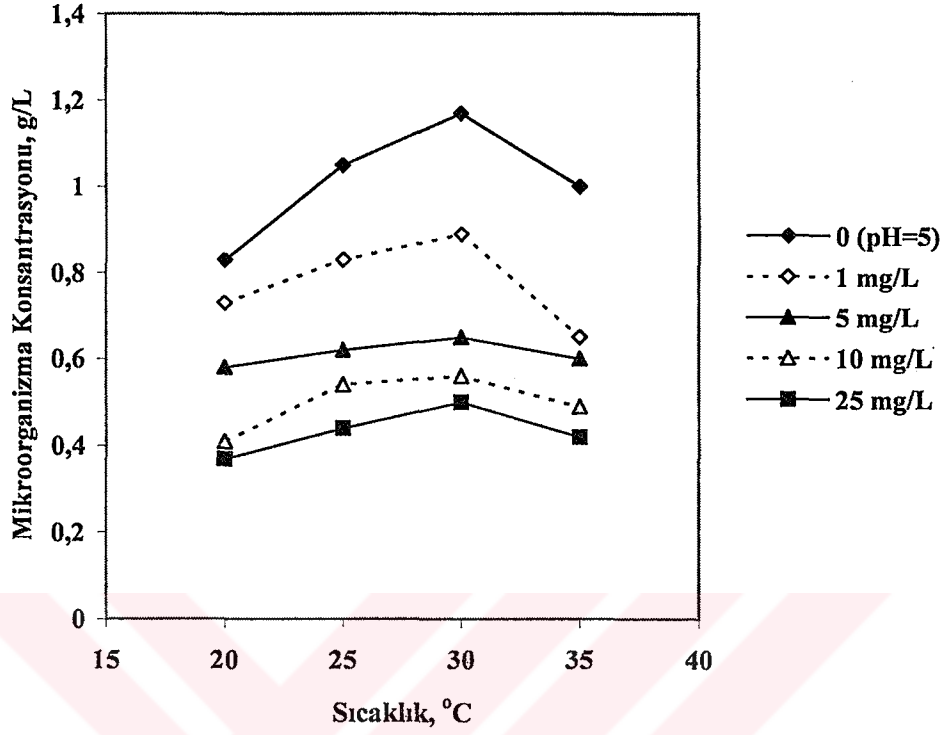
Şekil 4. 1. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyonu Bulunan Üreme Ortamında Üreyen *P. putida* Konsantrasyonunun pH ile Değişimi ($T=30^{\circ}\text{C}$; $S_0=10 \text{ g/L}$; $V_R=100 \text{ mL}$; $KH=150 \text{ rpm}$)

4. 1. 1. 2. Sıcaklığın Etkisi

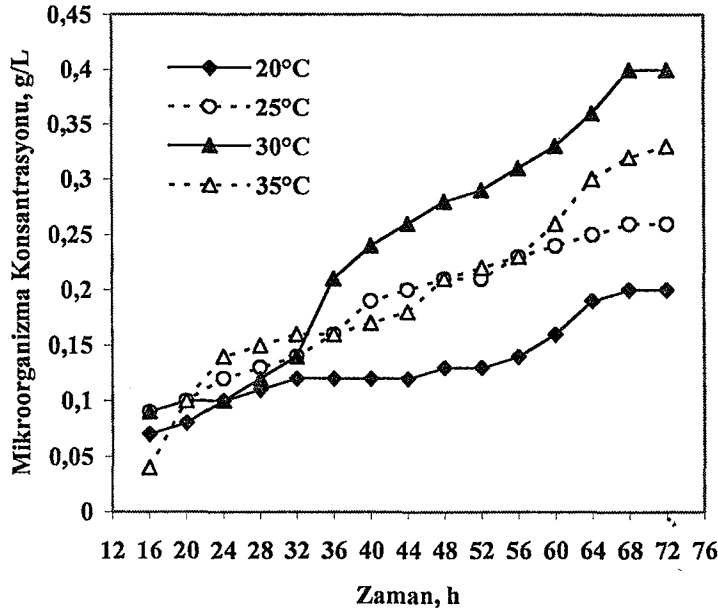
Kadmiyum (II) iyonu içeren üreme ortamında *P. putida* 'nın üremesi üzerine sıcaklığın etkisi $20-35^{\circ}\text{C}$ aralığında araştırılmıştır. Mikroorganizma konsantrasyonunun sıcaklığa bağlı olarak değişimi Şekil 4. 2' de görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi sıcaklığın *P. putida* 'nın üremesi üzerindeki etkisi önemlidir. *P. putida*, kadmiyum (II) iyonu içeren ortamda optimum 30°C 'de üremektedir. Sıcaklık, özellikle mikroorganizmaların enzim sistemleri üzerinde etkilidir. Düşük sıcaklıklar *P. putida* 'nın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yaparken, yüksek sıcaklıklar mikroorganizmanın enzim sistemini bozmaktadır. Optimum sıcaklığın üzerinde büyüme, sıcaklığın artışıyla birlikte düşer ve ölüm görülür. Böylece *P. putida* 'nın üremesi sırasında kadmiyum (II) iyonlarını akümüle yeteneği de düşer.

P. putida 'nın farklı konsantrasyonlarda kadmiyum (II) iyonu içeren üreme ortamında, farklı sıcaklıklarda ilk 68 saatte logaritmik fazda ürettiği, daha sonra ise mikroorganizma konsantrasyonunun sabit kaldığı Şekil 4. 3 'de görülmektedir. *P. putida* 'nın ilk 68 saatlik logaritmik fazda üremesinden elde edilen lineer doğrunun eğiminden özgül üreme hızları bulunmuştur. Sıcaklığın 30°C 'ye kadar artmasıyla birlikte hem mikroorganizma konsantrasyonu hem de özgül üreme hızı artmaktadır (Şekil 4. 4.). Optimum sıcaklığa kadar bu artış sürerken, optimum sıcaklıktan daha yüksek sıcaklıklarda özgül üreme hızında önemli

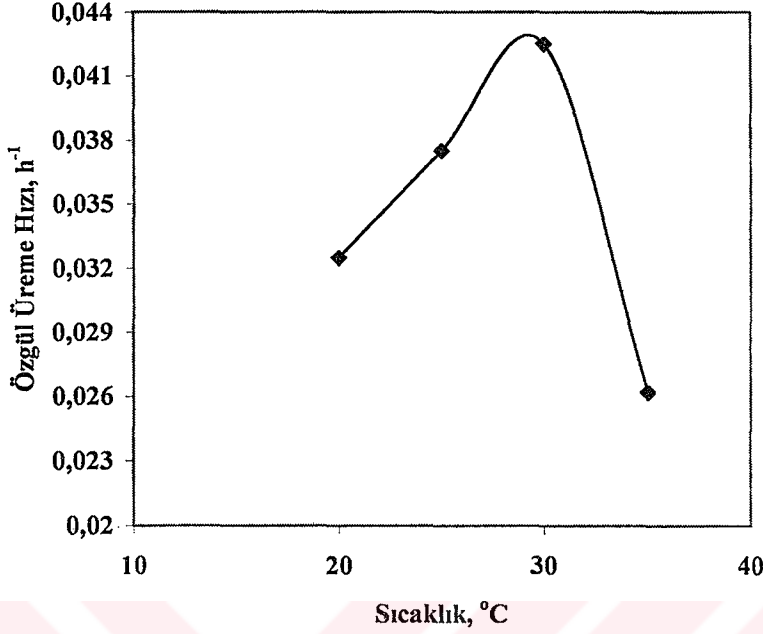
ölçüde azalma izlenmiştir. *P. putida*, optimum sıcaklıkta ortam şartlarını en ideal şekilde kullanıp, hücre konsantrasyonunu artırmak için aktivite göstermektedir.



Şekil 4. 2. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyonu Bulunan Ortamda Üreyen Mikroorganizma Konsantrasyonunun Sıcaklıkla Değişimi (pH = 4,5; $S_0=10$ g/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)



Şekil 4. 3. Farklı Sıcaklıklarda *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 4,5; $S_0=10$ g/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

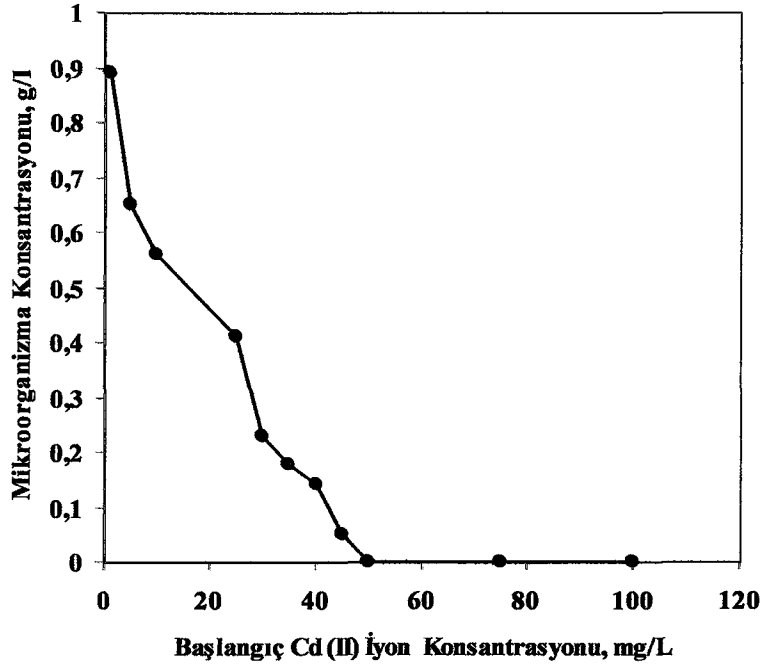


Şekil 4. 4. Sıcaklık Değişiminin Özgül Üreme Hızına Etkisi (pH = 4,5; $S_0=10$ g/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

4. 1. 1. 3. Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonunun Etkisi

Başlangıç metal iyon konsantrasyonu, *P. putida* 'nın üremesini etkileyen önemli bir parametredir. Daha önce verilen optimum pH ve sıcaklık değerlerinde, farklı başlangıç kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarında bir seri deney yapılarak *P. putida* 'nın üremesi üzerine metal iyon konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır.

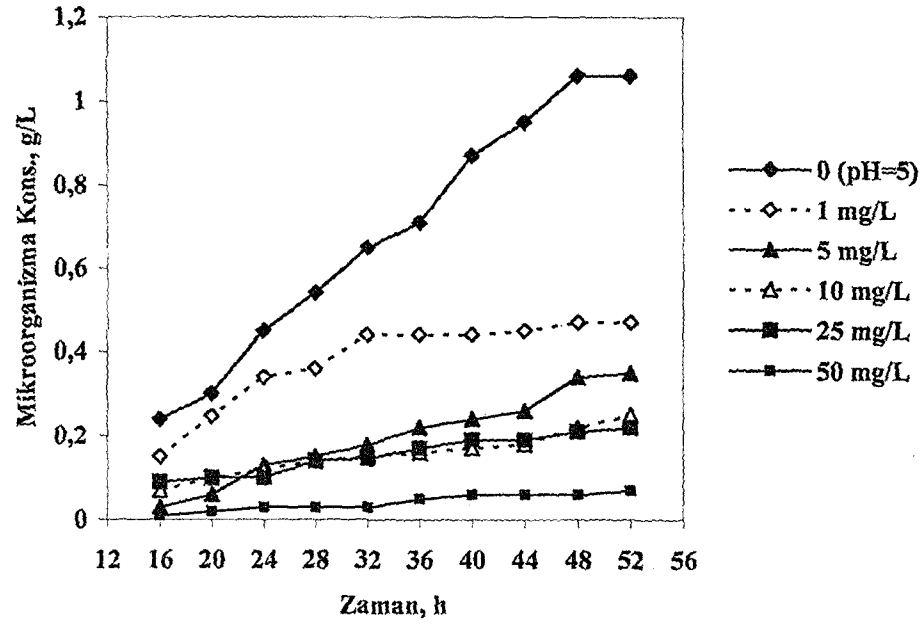
Kadmiyum (II) iyonunun farklı başlangıç konsantrasyonlarında, üreme ortamında bulunan kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarının artmasıyla birlikte üreyen *P. putida* miktarının azaldığı saptanmıştır. Düşük başlangıç kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarından başlayarak kadmiyum miktarının 50 mg/L değerine kadar bu azalmanın devam ettiği, daha yüksek konsantrasyonlarda ise üremenin olmadığı Şekil 4. 5 'de görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi, kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarının artması mikroorganizmanın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yapmaktadır. Böylece hücre yüzeyi metal iyonlarınca doygunluğa ulaşmaktadır.



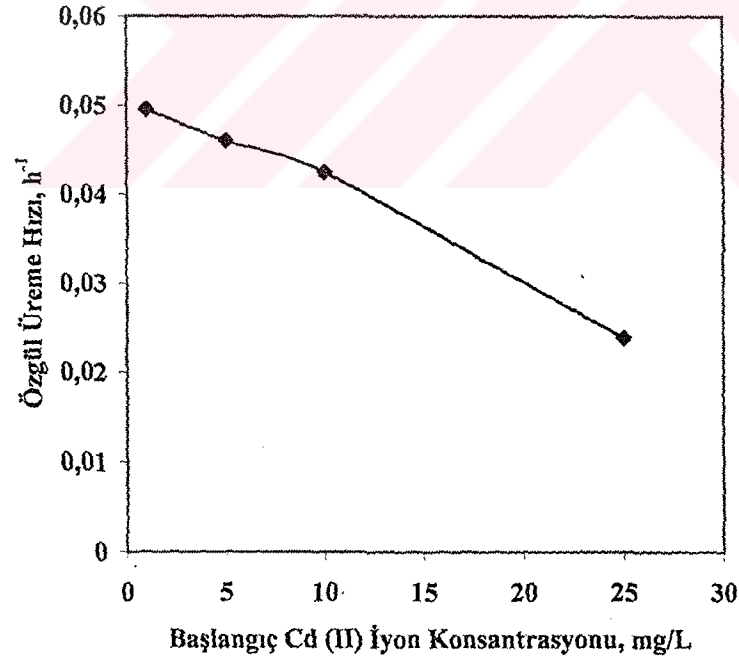
Şekil 4. 5. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının *P. putida*'nın Üremesi Üzerine Etkisi (pH = 4,5; S_0 =10 g/L; T=30° C; V_R =100 mL; KH=150 rpm)

P. putida 'nın metal iyonu içermeyen ortamında ilk 16 saatte adaptasyon fazda, 48 saatte ise logaritmik fazda ürediği; kadmiyum (II) içeren üreme ortamında ilk 20 saat adaptasyon fazda, 44 saatte ise logaritmik fazda ürediği Şekil 4. 6'da görülmektedir. Adaptasyon fazının uzun sürmesi mikroorganizmaların metal iyonlarının bulunduğu ortama uyumları ile ilgilidir. Üremenin kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarının artması ile azalması, kadmiyum (II) iyonlarının *P. putida* 'nın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yapmasından kaynaklanmaktadır.

Üreme ortamında bulunan kadmiyum (II) iyon konsantrasyonları arttıkça özgül üreme hızı azalmaktadır (Şekil 4. 7). Kadmiyum (II) iyon konsantrasyonları *P. putida* 'nın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yapmaktadır. Bunun sonucu olarak da, düşük metal iyon konsantrasyonlarında mikroorganizma konsantrasyonu daha fazla olurken, metal konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma konsantrasyonu azalmakta ve dolayısıyla da özgül üreme hızı da azalmaktadır.

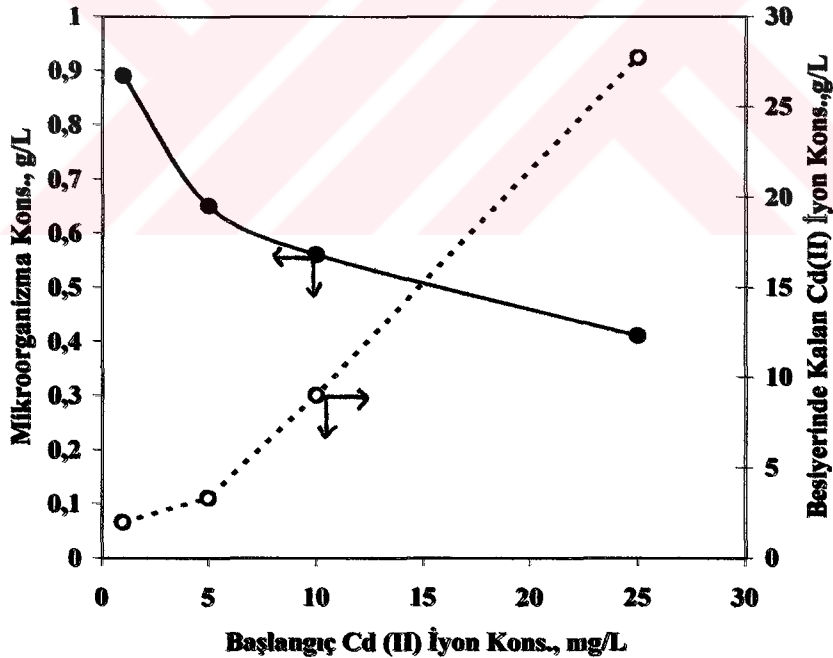


Şekil 4. 6. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarında *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 4,5; $S_0=10$ g/L; $T=30^\circ$ C; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

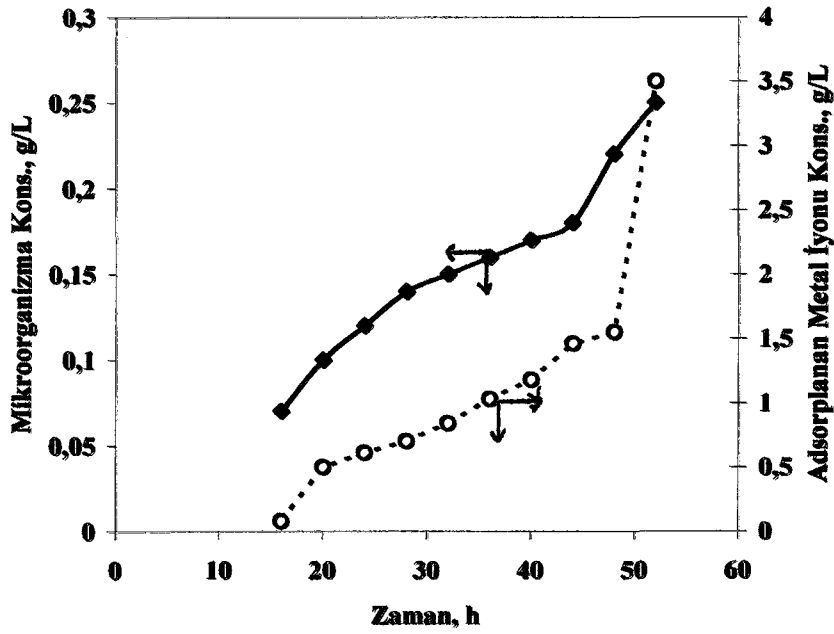


Şekil 4. 7. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının Mikroorganizmanın Özgül Üreme Hızına Etkisi (pH = 4,5; $S_0=10$ g/L; $T=30^\circ$ C; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

Farklı başlangıç kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarında *P. putida* 'nın üremesi tamamlandıktan sonra, üreme ortamında kalan kadmiyum (II) iyon konsantrasyonu ile mikroorganizma konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4. 8' de görülmektedir. Farklı başlangıç kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarında; metal iyon konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma konsantrasyonu azalmakta ve mikroorganizma konsantrasyonu azaldıkça üreme ortamında kalan metal iyon miktarı artmaktadır. Çünkü *P. putida* 'nın üremesi sırasında ortamda bulunan metal iyonunu ya adsorplayarak uzaklaştırmakta ya da üremesi sırasında kullanmaktadır. Metal iyonları bulunan ortamda mikroorganizma konsantrasyonunun artması adsorplanan metal miktarının da arttığını göstermektedir. Oysa metal iyonunun yüksek olduğu ortamlarda mikroorganizma konsantrasyonu az olduğu için mikroorganizma tarafından adsorplanan kadmiyum iyon miktarı azalmaktadır. Yani üreme ortamında kalan kadmiyum (II) konsantrasyonu mikroorganizma konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Zamanla mikroorganizma konsantrasyonu artarken, mikroorganizma tarafından adsorplanan metal miktarının da arttığı Şekil 4. 9 'da verilmiştir.



Şekil 4. 8. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarında, Üreme Tamamlandıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonu İle Mikroorganizma Konsantrasyonu Arasındaki İlişki (pH = 4,5; S_0 =10 g/L; T=30° C; V_R =100 mL; KH=150 rpm)



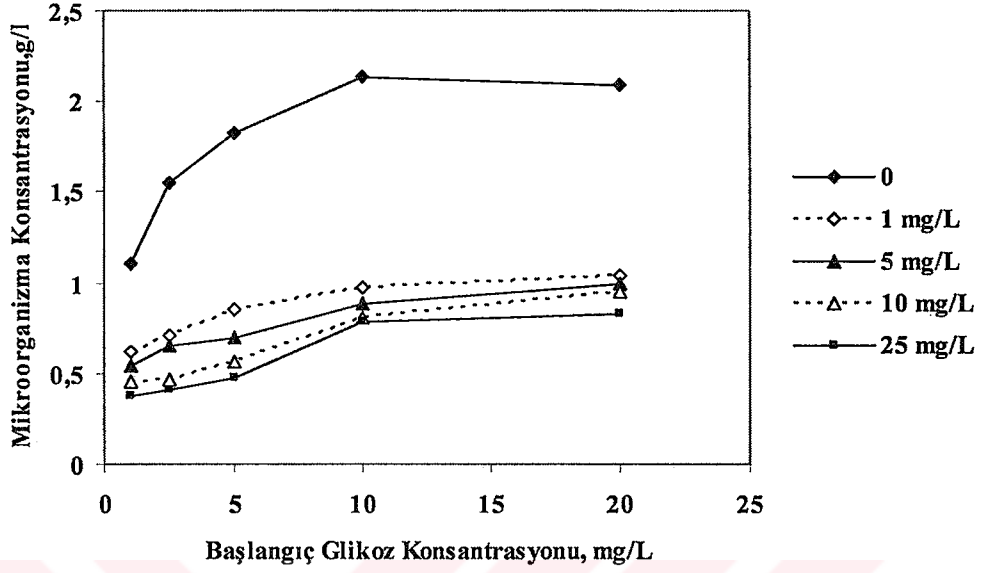
Şekil 4. 9. Mikroorganizma Konsantrasyonu ve Mikroorganizma Tarafından Adsorplanan Metal İyonu Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 4,5; $S_0=10$ g/L; $T=30^\circ$ C; $C_0=10$ mg/L; $V_R=100$ mL; $KH=150$ rpm).

4. 1. 1. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu Etkisi

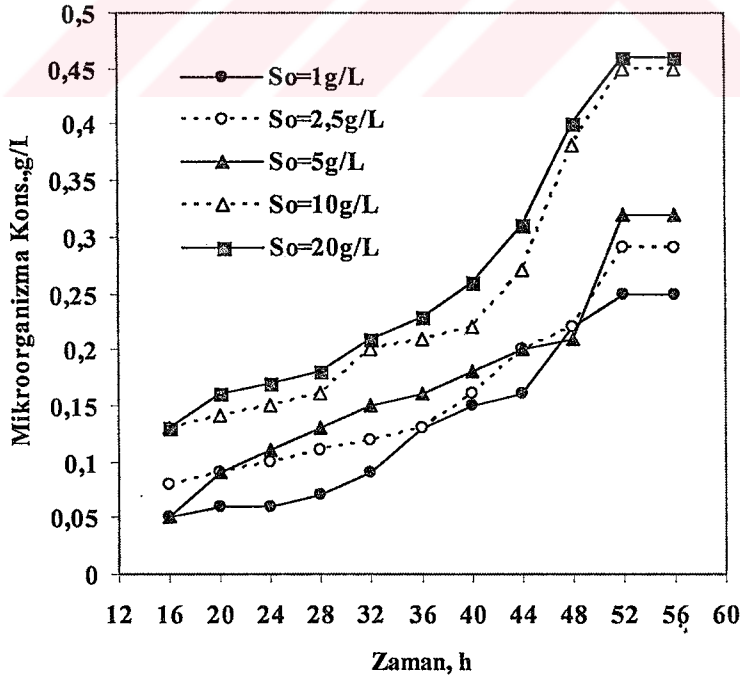
Besi maddesi konsantrasyonu mikroorganizmaların büyümelerini en az sıcaklık, pH ve başlangıç metal iyon konsantrasyonu kadar etkilemektedir. Üreme ortamında besi maddesi konsantrasyonlarının belli değerler arasında olması gerekmektedir. Düşük konsantrasyonlar, mikroorganizmaların üremeleri üzerine sınırlama, yüksek konsantrasyonlar ise inhibisyon etkisi yapmaktadır. Bu tip inhibisyon genellikle rekabetsiz inhibisyonudur. Farklı glikoz konsantrasyonlarında, glikoz miktarı arttıkça, *P. putida* konsantrasyonu da artmaktadır. Glikoz miktarının aynı olmadığı koşullarda ise metali ortama alıştırılmadan ve metali ortama alıştırılarak üretilen *P. putida* konsantrasyonu, metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azalmaktadır (Şekil 4. 10).

Farklı başlangıç glikoz konsantrasyonlarında mikroorganizma konsantrasyonunun ilk 52 saatte lineer değiştiği daha sonra ise yaklaşık olarak sabitlendiği gözlenmiştir (Şekil 4. 11). Lineer bölgede elde edilen özgül üreme hızlarının başlangıç glikoz konsantrasyonu ile değişiminde; ortamda bulunan glikozun düşük konsantrasyonlarında hızların düşük olduğu, glikoz konsantrasyonunun artırılması ile hızların arttığı ve 20 g/L' den sonra hızların azalmaya başladığı Şekil 4. 12' de görülmektedir. *P. putida*' nın maksimum özgül üreme hızı (μ_m) ve

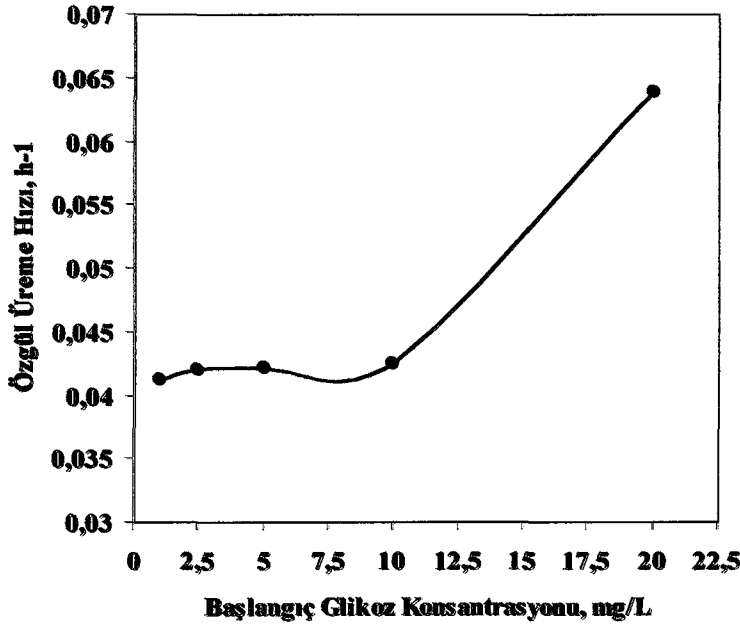
substrat doygunluk konsantrasyonu (K_s) değerleri, Monod eşitliğinin tersi alınıp, $1/\mu'$ ye karşı $1/S_0$ grafiğe geçirilerek bulunmuştur. $R^2=0,86$, $\mu_m=0,0567 \text{ h}^{-1}$ ve $K_s=0,8337 \text{ g/L}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 10. Farklı Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının Bulunduğu Ortamda Üreyen *P. putida* Konsantrasyonunun Farklı Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi (pH = 4,5; T=30° C; $V_R=100\text{mL}$; KH=150 rpm)

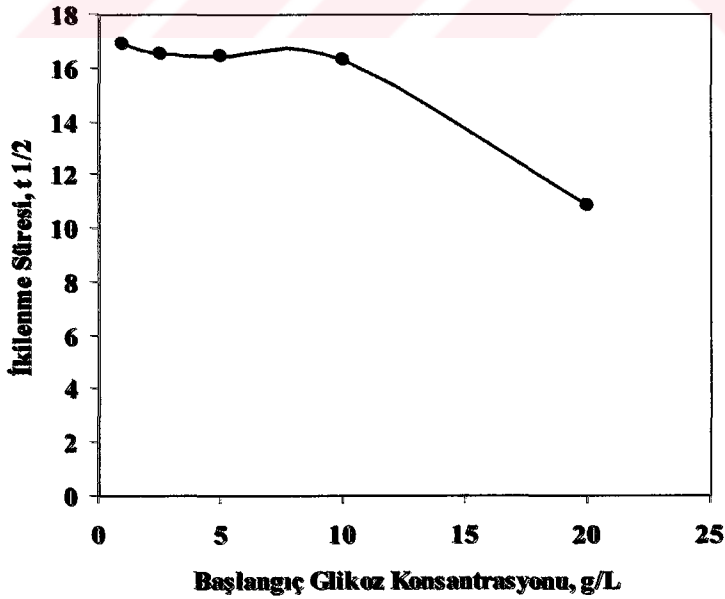


Şekil 4. 11. Farklı Başlangıç Glikoz Konsantrasyonlarında *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 4,5; T=30° C; $C_0=10 \text{ mg/L}$; $V_R=100\text{mL}$; KH=150 rpm).



Şekil 4. 12. *P. putida*'nın Özgül Üreme Hızının Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi (pH = 4,5; T=30°; C₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)

Glikozun başlangıç konsantrasyonuna bağlı olarak, ikilenme süresinin ($t_{1/2}$) değişimi Şekil 4. 13'de görülmektedir. Özgül üreme hızının tersine, ikilenme süresi glikoz konsantrasyonunun artmasıyla azalmıştır.

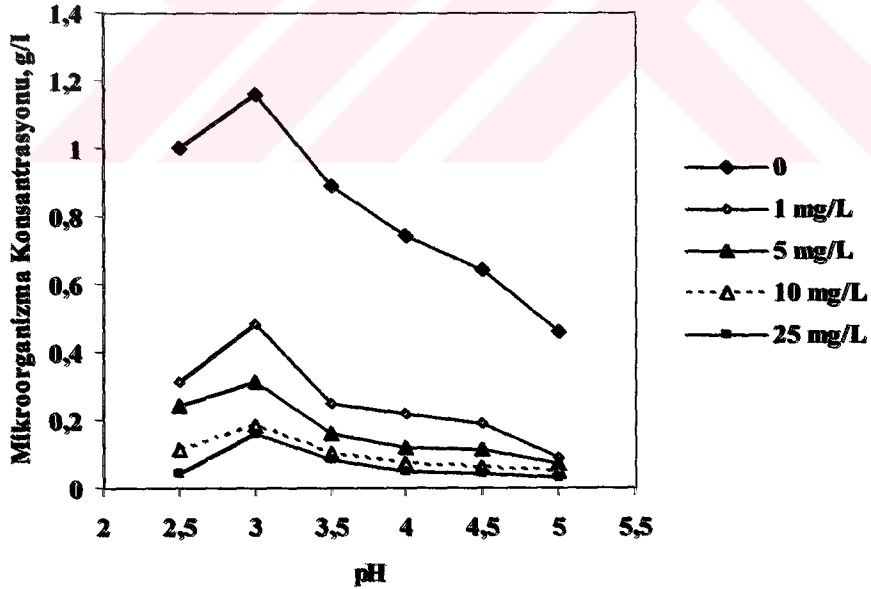


Şekil 4. 13. *P. putida*'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi (pH = 4,5; T=30°C; C₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)

4. 1. 2. Bakır (II) İyonunun Etkisi

4. 1. 2. 1. Başlangıç pH'sının Etkisi

Bakır (II) iyonu içeren üreme ortamında *P. putida* 'nın üremesi üzerine başlangıç pH'ının etkisi büyüktür. Karıştırma hızı, sıcaklık, glikoz konsantrasyonu ve metal konsantrasyonu sabit tutularak farklı başlangıç pH değerlerinde (pH= 3- 5) mikroorganizma konsantrasyonu değişimi Şekil 4. 14 'de verilmiştir. Metal iyonu bulunmayan ortamda da pH aralığı 3- 5 olarak seçilmiştir. Maksimum üreme metal iyonu bulunmayan ortamda pH= 5' de, farklı başlangıç metal iyonu konsantrasyonları içeren ortamda pH= 3' de elde edilmiştir. Farklı başlangıç metal iyonu konsantrasyonları içeren ortamda pH= 3 'den daha yüksek pH değerlerinde üremede azalma gözlenmiştir. Ayrıca hem metal iyonu bulunan hem de metal iyonu bulunmayan ortamlarda düşük pH değerlerinin *P. putida* 'nın üremesi üzerinde inhibe edici etki gösterdiği ve bu etkinin pH= 4,5' dan daha yüksek pH değerinde de geçerli olduğu gözlenmiştir. *P. putida* 'nın ilk 68 saatte logaritmik fazda ürerken, daha sonra sabit faza geçtiği gözlenmiştir. Farklı başlangıç metal iyonu konsantrasyonlarında pH= 5 değerinden daha yüksek değerlerde metal iyonları çöktüğü için üreme çalışmaları yapılamamıştır.

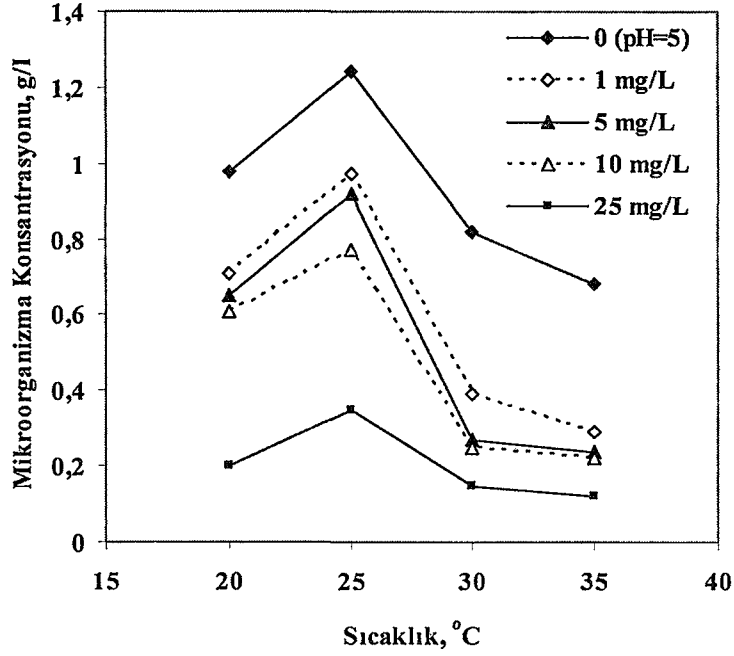


Şekil 4. 14. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında Bulunan Ortamda Üreyen *P. putida* Konsantrasyonunun pH ile Değişimi (T=25°C; S₀=10 g/L; V_R=100mL; KH=150 rpm).

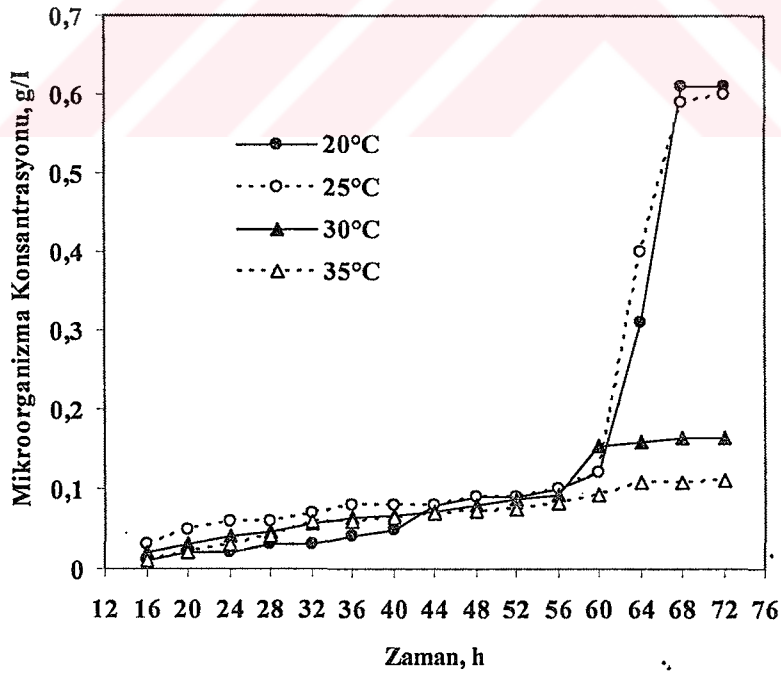
4. 1. 2. 2. Sıcaklığın Etkisi

Bakır (II) iyonu içeren üreme ortamında *P. putida* 'nın üremesi üzerine sıcaklığın etkisi 20- 35° C aralığında araştırılmıştır. Mikroorganizma konsantrasyonunun sıcaklığa bağlı olarak değişimi Şekil 4. 15' de görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi sıcaklığın *P. putida* 'nın üremesi üzerindeki etkisi önemlidir. *P. putida*, bakır (II) iyonu içeren ortamda optimum 25° C' de üremektedir. Sıcaklık, özellikle mikroorganizmaların enzim sistemleri üzerinde etkilidir. Düşük sıcaklıklar *P. putida* 'nın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yaparken, yüksek sıcaklıklar mikroorganizmanın enzim sistemini bozmaktadır. Optimum sıcaklığın üzerinde büyüme, sıcaklığın artışıyla birlikte düşer ve ölüm görülür. Böylece *P. putida* 'nın üremesi sırasında bakır (II) iyonlarını adsorplama yeteneği de düşer.

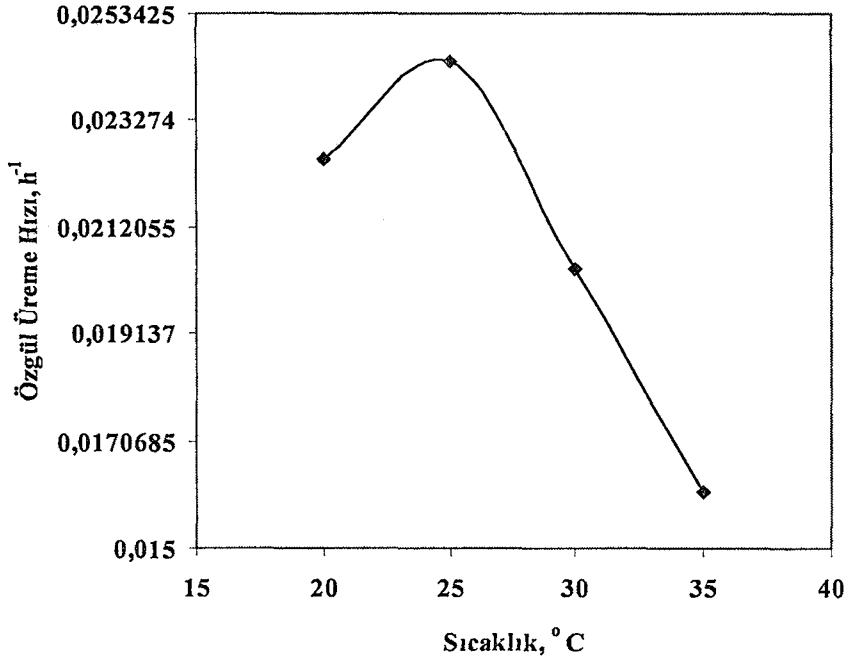
P. putida 'nın farklı konsantrasyonlarda bakır (II) iyonu içeren üreme ortamında, farklı sıcaklıklarda ilk 68 saatte logaritmik fazda ürediği, daha sonra ise mikroorganizma konsantrasyonunun sabit kaldığı şekil 4. 16' da görülmektedir. *P. putida* 'nın ilk 68 saatlik logaritmik fazda üremesinden elde edilen lineer doğrunun eğiminden özgül üreme hızları bulunmuştur. Sıcaklık arttıkça mikroorganizma konsantrasyonu artarken, özgül üreme hızı da artmaktadır ve optimum sıcaklıkta en yüksek özgül üreme hızı elde edilmiştir (Şekil 4. 17). Optimum sıcaklıktan daha yüksek sıcaklıklarda özgül üreme hızında önemli ölçüde azalma izlenmiştir. *P. putida*, optimum sıcaklıkta ortam şartlarını en ideal şekilde kullanıp, hücre konsantrasyonunu artırmak için aktivite göstermektedir.



Şekil 4. 15. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında Bulunan Ortamda Üreyen *P.putida* Konsantrasyonunun Sıcaklık ile Değişimi (pH=3,0; $S_0=10$ g/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm).



Şekil 4. 16. Farklı Sıcaklıklarda *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 3; $S_0=10$ g/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

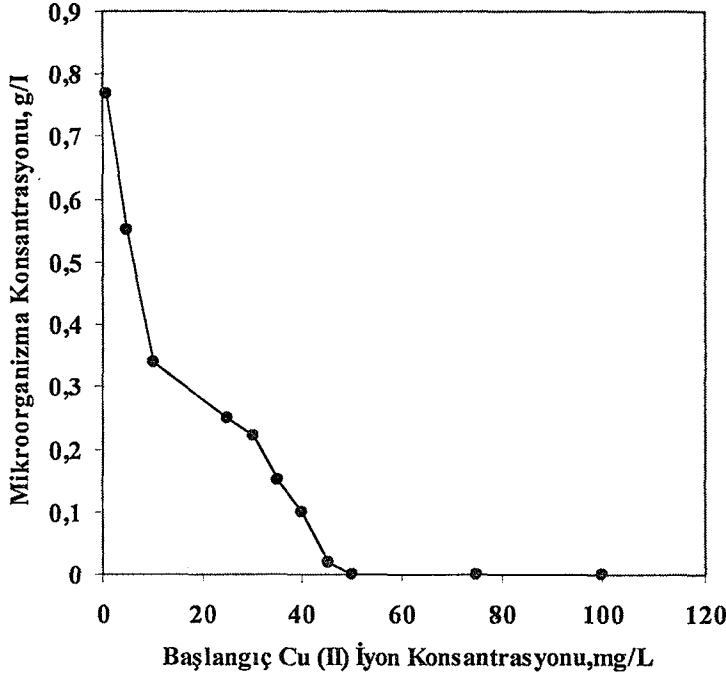


Şekil 4. 17. Sıcaklık Değişiminin Özgül Üreme Hızına Etkisi (pH = 3; S₀=10 g/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)

4. 1. 2. 3. Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonu Etkisi

Başlangıç metal iyon konsantrasyonu, *P. putida* 'nın üremesini etkileyen önemli bir parametredir. Daha önce verilen optimum pH ve sıcaklık değerlerinde, farklı başlangıç bakır (II) iyon konsantrasyonlarında bir seri deney yapılarak *P. putida* 'nın üremesi üzerine metal iyon konsantrasyonunun etkisi araştırılmıştır.

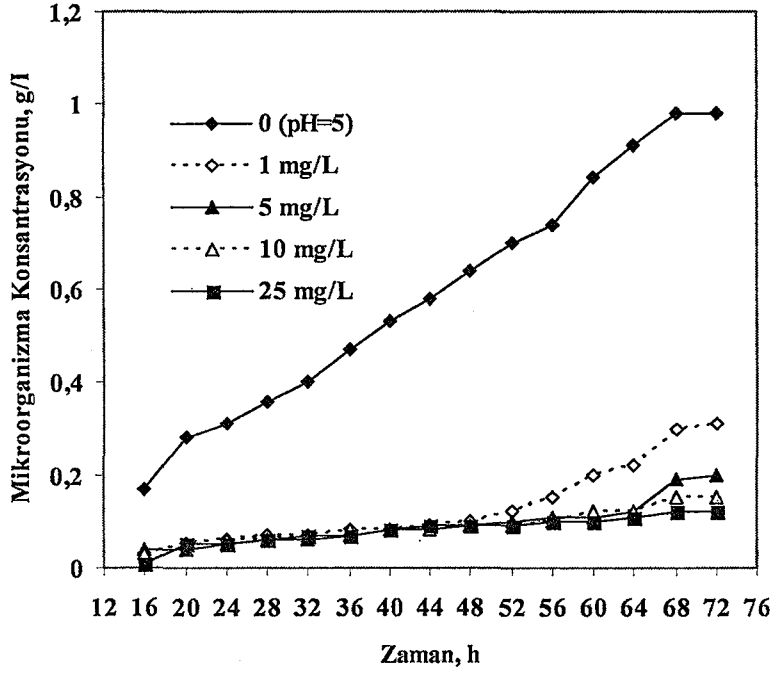
Bakır (II) iyonunun farklı başlangıç konsantrasyonlarında, üreme ortamında bulunan bakır (II) iyon konsantrasyonlarının artmasıyla birlikte üreyen *P. putida* miktarının azaldığı saptanmıştır. Düşük başlangıç bakır (II) iyon konsantrasyonlarından başlayarak bakır miktarının 50 mg/L değerine kadar bu azalmanın devam ettiği, daha yüksek konsantrasyonlarda ise üremenin olmadığı Şekil 4. 18 'de görülmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi bakır (II) iyon konsantrasyonları artması mikroorganizmayı inhibe etmektedir ve hücre yüzeyi metal iyonlarınca doygunluğa ulaşmaktadır.



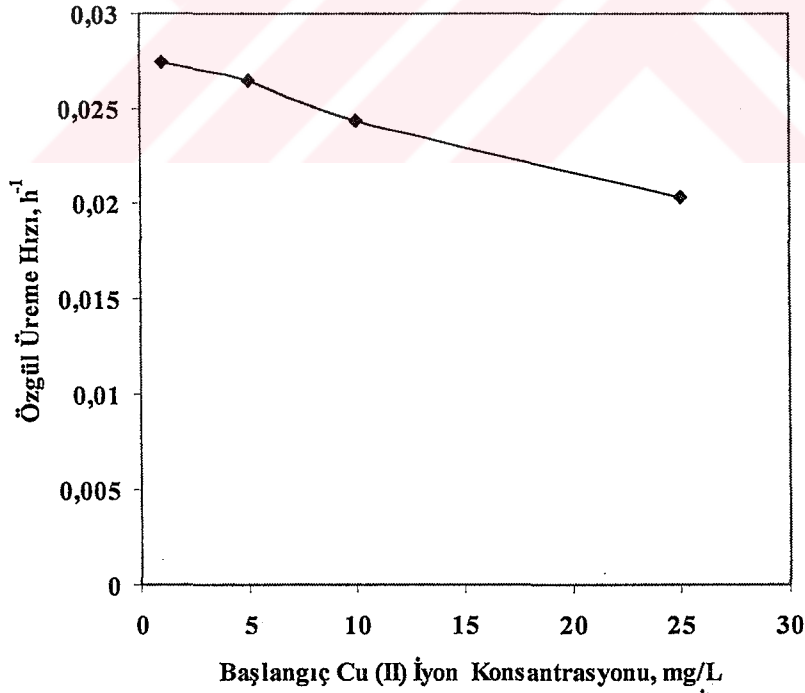
Şekil 4. 18. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının *P. putida* 'nın Üremesi Üzerine Etkisi (pH =3; S_0 =10 g/L; T=25° C; V_R =100mL; KH=150 rpm)

P. putida 'nın metal iyonu içermeyen ortamında ilk 16 saatte adaptasyon fazda, 68 saatte ise logaritmik fazda ürettiği; bakır (II) içeren üreme ortamında ilk 20 saat adaptasyon fazda, 60 saatte ise logaritmik fazda ürettiği Şekil 4. 19' da görülmektedir. Adaptasyon fazının metal iyonlarının bulunduğu ortamda daha uzun sürmesi, mikroorganizmaların metal iyonlarının bulunduğu ortama uyumunun daha zor olması ile ilgilidir. Üremenin bakır (II) iyon konsantrasyonlarının artması ile azalması, bakır (II) iyonlarının *P. putida* 'nın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yapmasından kaynaklanmaktadır.

Üreme ortamında bulunan bakır (II) iyon konsantrasyonları arttıkça özgül üreme hızı azalmaktadır (Şekil 4. 20). Bakır (II) iyon konsantrasyonları *P. putida* 'nın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yapmaktadır. Bu nedenle, mikroorganizma yüksek metal iyon konsantrasyonlarında kütlelerini artırmak yerine, tüm aktivitesini logaritmik evreyi hızlı bir şekilde tamamlamak için kullanmaktadır. Bunun sonucu olarak da, düşük metal iyon konsantrasyonlarında mikroorganizma konsantrasyonu daha fazla olurken, metal konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma konsantrasyonu azalmakta ve dolayısıyla da özgül üreme hızı da azalmaktadır.

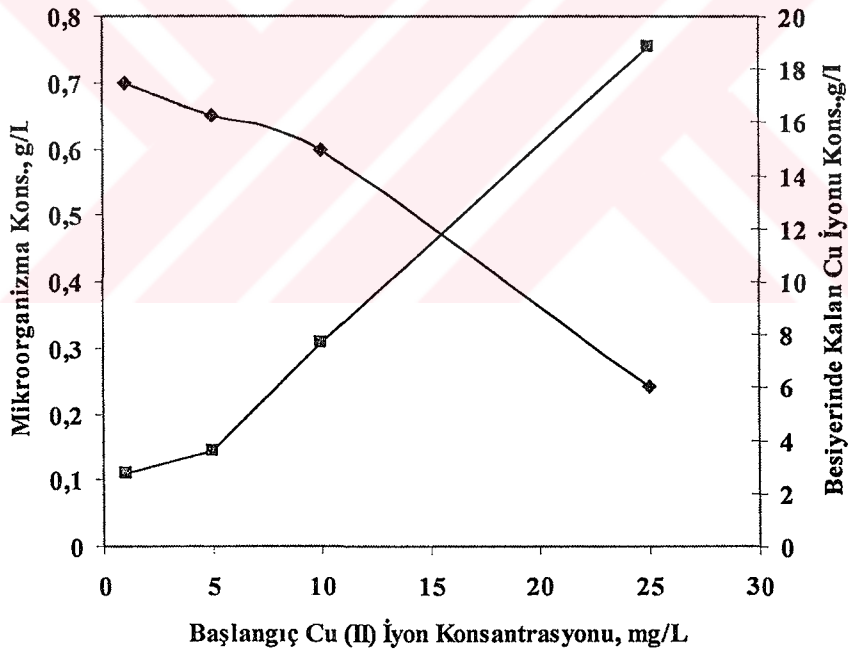


Şekil 4. 19. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 3,0; $S_0=10$ g/L; $T=25^\circ$ C; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

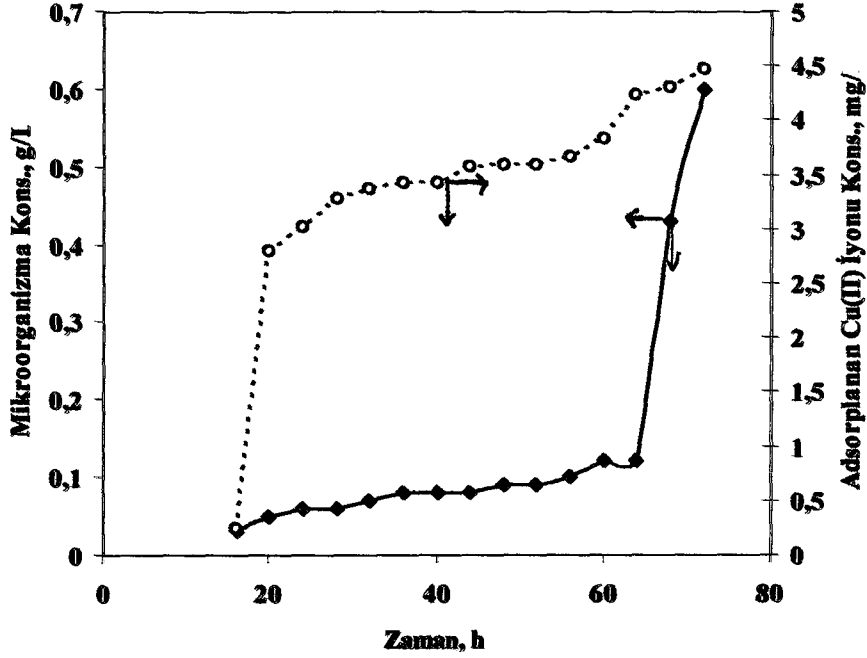


Şekil 4. 20. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının Mikroorganizmanın Özgül Üreme Hızına Etkisi (pH = 3,0; $S_0=10$ g/L; $T=25^\circ$ C; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

Bakır (II) 'nin farklı başlangıç konsantrasyonlarında *P. putida* 'nın üremesi tamamlandıktan sonra, üreme ortamında kalan bakır (II) konsantrasyonu ile mikroorganizma konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4. 21' de görülmektedir. Bakır (II) 'nin farklı başlangıç konsantrasyonlarında; metal iyon konsantrasyonu arttıkça mikroorganizma konsantrasyonu azalmaktadır ve mikroorganizma konsantrasyonu azaldıkça üreme ortamında kalan metal iyon miktarı artmaktadır. Çünkü *P. putida* 'nın üremesi sırasında ortamda bulunan metal iyonunu ya adsorplayarak uzaklaştırmakta ya da üremesi sırasında kullanmaktadır. Metal iyonları bulunan ortamda mikroorganizma konsantrasyonunun artması adsorplanan metal miktarının da arttığını göstermektedir. Oysa metal iyonunun yüksek olduğu ortamlarda mikroorganizma konsantrasyonu az olduğu için mikroorganizma tarafından adsorplanan bakır iyon miktarı azalmaktadır. Yani üreme ortamında kalan bakır (II) konsantrasyonu mikroorganizma konsantrasyonuna bağlı olarak değişmektedir. Zamanla mikroorganizma konsantrasyonu artarken, mikroorganizma tarafından adsorplanan metal miktarının da arttığı Şekil 4.22'de verilmiştir.



Şekil 4. 21. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında, Üreme Tamamlandıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Bakır (II) İyon Konsantrasyonu İle Mikroorganizma Konsantrasyonu Arasındaki İlişki (pH = 3; $S_0=10$ g/L; $T=25^\circ$ C; $V_R=100$ mL; $KH=150$ rpm)



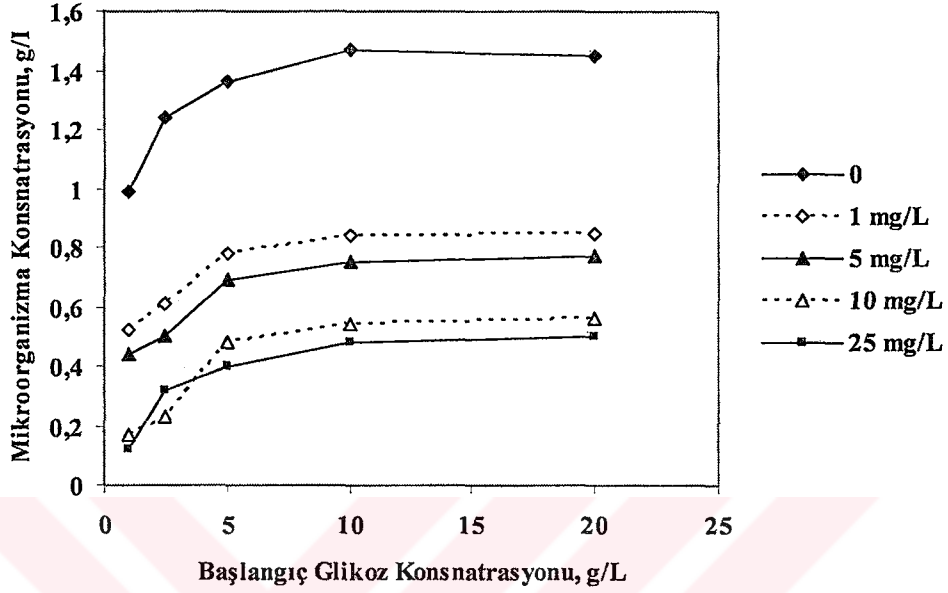
Şekil 4. 22. Mikroorganizma Konsantrasyonu ve Mikroorganizma Tarafından Adsorplanan Metal İyonu Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH=3; $S_0=10$ g/L; $T=25^\circ$ C; $C_0=10$ mg/L; $V_R=100$ mL; $KH=150$ rpm)

4. 1. 2. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu Etkisi

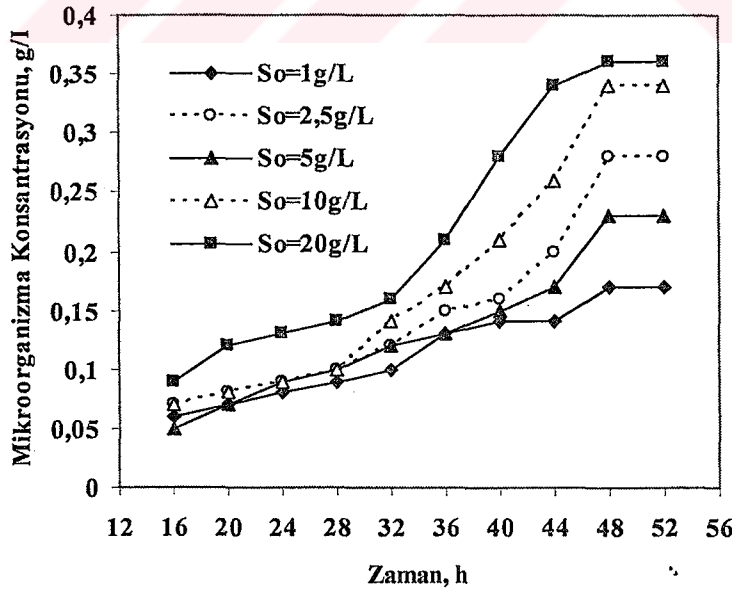
Besi maddesi konsantrasyonu mikroorganizmaların büyümelerini en az sıcaklık, pH ve başlangıç metal iyon konsantrasyonu kadar etkilemektedir. Üreme ortamında besi maddesi konsantrasyonlarının belli değerler arasında olması gerekmektedir. Düşük konsantrasyonlar, mikroorganizmaların üremeleri üzerine sınırlama, yüksek konsantrasyonlar ise inhibisyon etkisi yapmaktadır. Farklı glikoz konsantrasyonlarında, glikoz miktarı arttıkça, *P. putida* konsantrasyonu da artmaktadır. Glikoz miktarının aynı olmadığı koşullarda ise metalli ortama alıştırılmadan ve metalli ortama alıştırılarak üretilen *P. putida* konsantrasyonu, metal konsantrasyonunun artışıyla azalmaktadır (Şekil 4. 23).

Farklı başlangıç glikoz konsantrasyonlarında mikroorganizma konsantrasyonunun ilk 48 saatte lineer değiştiği daha sonra ise yaklaşık olarak sabitlendiği gözlenmiştir (Şekil 4. 24). Lineer bölgede elde edilen özgül üreme hızlarının başlangıç glikoz konsantrasyonu ile değişiminde; ortamda bulunan glikozun düşük konsantrasyonlarında hızların düşük olduğu, glikoz konsantrasyonunun artırılması ile hızların arttığı ve 20 g/L' den sonra hızların azalmaya başladığı şekil 4. 25' de görülmektedir. Özgül üreme hızının aksine ikilenme süresi başlangıç glikoz konsantrasyonunun artmasıyla azalmıştır (Şekil 4. 26). *P. putida*' nın maksimum özgül

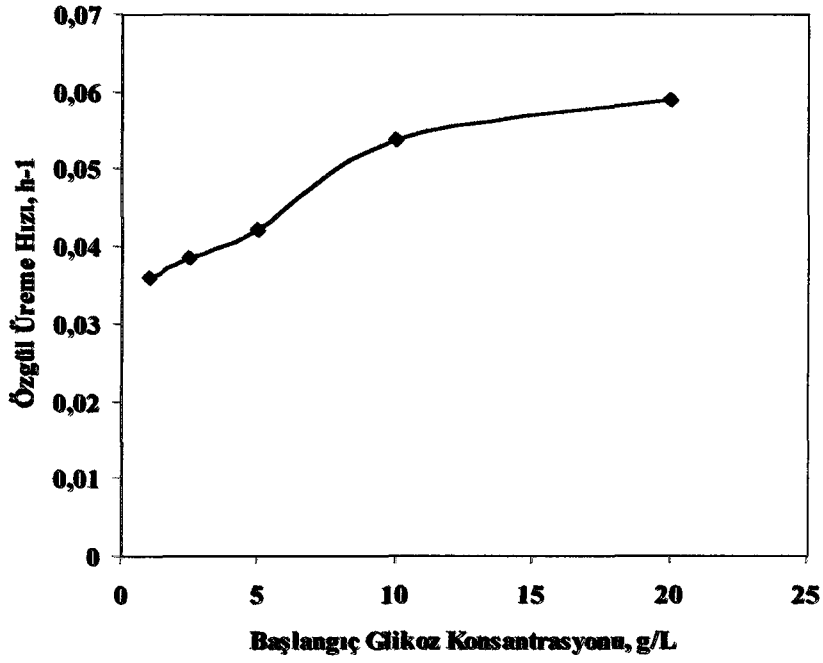
üreme hızı (μ_m) ve substrat doygunluk konsantrasyonu (K_s) değerleri, Monod eşitliğinin tersi alınıp, $1/\mu'$ ye karşı $1/S_0$ grafiğe geçirilerek bulunmuştur. $R^2= 0,94$, $\mu_m=0,0519 \text{ h}^{-1}$ ve $K_s=0,3919 \text{ g/L}$ olarak hesaplanmıştır.



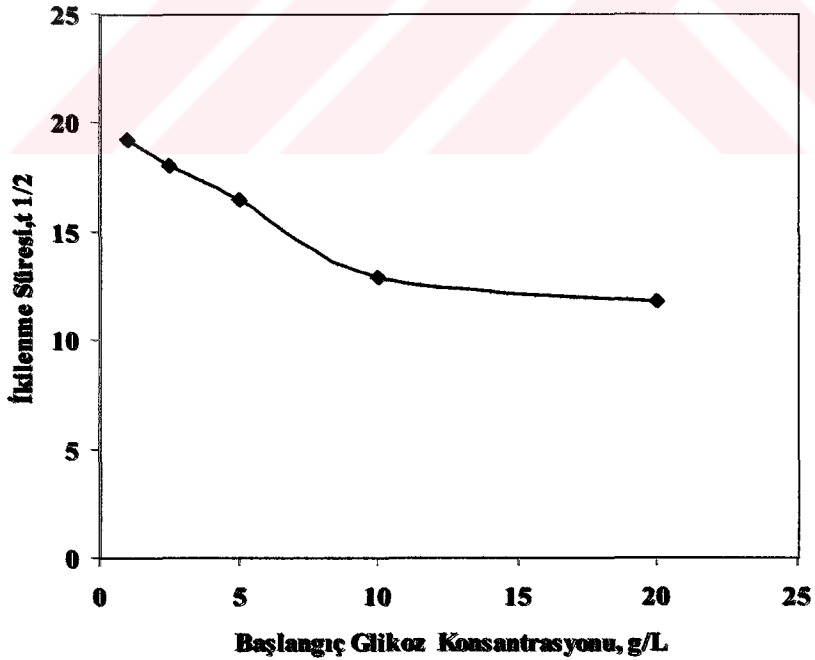
Şekil 4. 23. Farklı Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının Bulunduğu Ortamda Üreyen *P. Putida* Konsantrasyonunun Farklı Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi (pH = 3; T=25° C; $V_R=100\text{mL}$; KH=150 rpm)



Şekil 4. 24. Farklı Başlangıç Glikoz Konsantrasyonlarında *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 3; T=30° C; $C_0=10 \text{ mg/L}$; $V_R=100\text{mL}$; KH=150 rpm)



Şekil 4. 25. *P. putida*'nın Özgütl Üreme Hızının Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi (pH = 3; T=25°C; C₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)



Şekil 4. 26. *P. putida*'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi (pH = 3; T=25° C; C₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)

4. 2. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Birlikte Etkisi

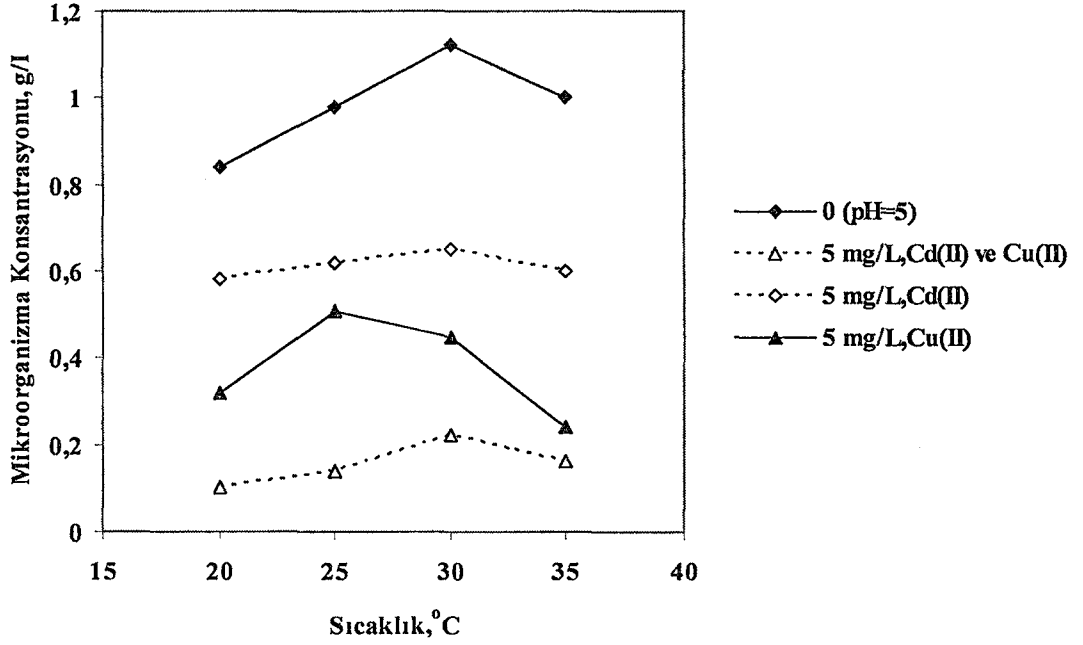
4. 2. 1. Başlangıç pH' ının Etkisi

Karıştırma hızı, sıcaklık, metal konsantrasyonu ve glikoz konsantrasyonu sabit tutularak; farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan deneylerde, kadmiyum (II) iyonu için pH= 4,5 (Şekil 4. 1), bakır (II) iyonu için ise pH= 3 (Şekil 4. 14)' de maksimum üreme elde edilmiştir. Hem kadmiyum (II) hem de bakır (II) iyonlarının birlikte bulunduğu koşullarda ise her iki metalin tek tek bulunduğu koşullara uygunluğu açısından pH= 3,5 değerinde çalışılmıştır.

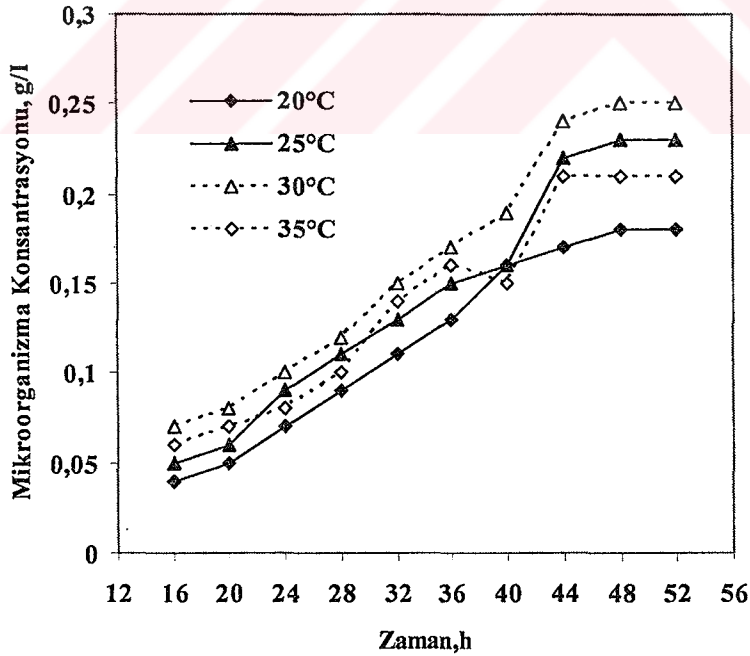
4. 2. 2. Sıcaklığın Etkisi

Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarını (5 mg/L Cd (II) ve 5 mg/L Cu (II) iyonu) içeren üreme ortamında *P. putida*' nın üremesi üzerine sıcaklığın etkisi 20-35° C aralığında araştırılmıştır. Hem metalsiz hem de her iki metalin eşit konsantrasyonlarının birlikte bulunduğu ortamda maksimum üreme T= 30° C değerinde elde edilmiştir (Şekil 4. 27).

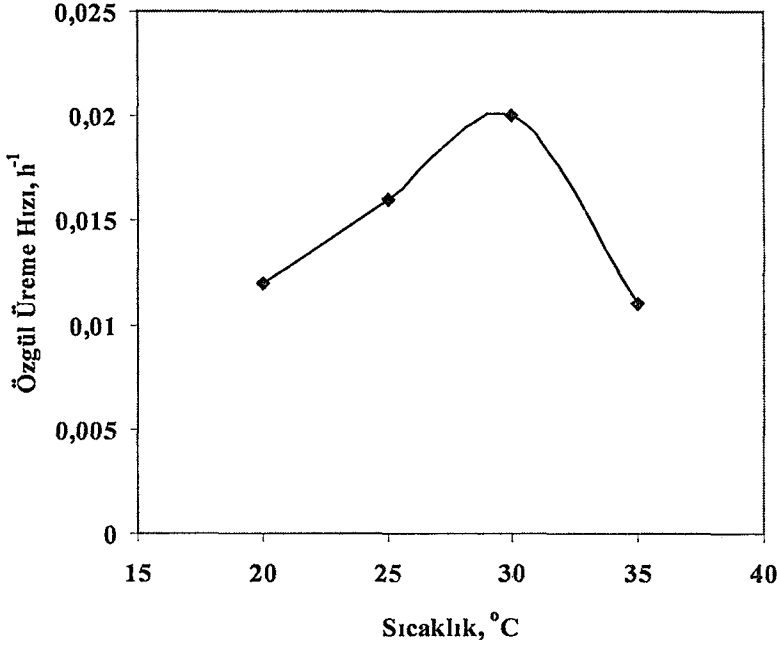
P. putida' nın kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarını içeren üreme ortamında; ilk 24 saatte adaptasyon fazında, 48 saatte logaritmik fazda sonra ise sabit fazda ürediği Şekil 4. 28' den görülmektedir. Ağır metal iyonlarının her birinin ayrı ayrı bulunduğu üreme ortamında mikroorganizma logaritmik faza 20 saatten sonra ulaşmaktadır. Her iki metalin birlikte bulunduğu koşullarda adaptasyon fazı daha uzun olmaktadır. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu koşullarda; *P. putida*' nın logaritmik fazda üremesinden elde edilen lineer doğrunun eğiminden özgül üreme hızları bulunmuştur (Şekil 4. 29).



Şekil 4. 27. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu üreme ortamında üreyen *P. putida* konsantrasyonunun sıcaklıkla değişimi (pH = 3,5; $S_0=10$ mg/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)



Şekil 4. 28. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu üreme ortamında, farklı sıcaklıklarda üreyen *P. putida* konsantrasyonunun zamanla değişimi (pH = 3,5; $S_0=10$ mg/L; $C_{(Cd)}=5$ mg/L; $C_{(Cu)}=5$ mg/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)



Şekil 4. 29. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarda Birlikte Bulunduğu Üreme Ortamında, Sıcaklık Değişiminin Üreyen *P. putida*'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Etkisi (pH = 3,5; $S_0=10$ mg/L; $C_{(Cd)}=5$ mg/L; $C_{(Cu)}=5$ mg/L; $V_R=100$ mL; KH=150 rpm)

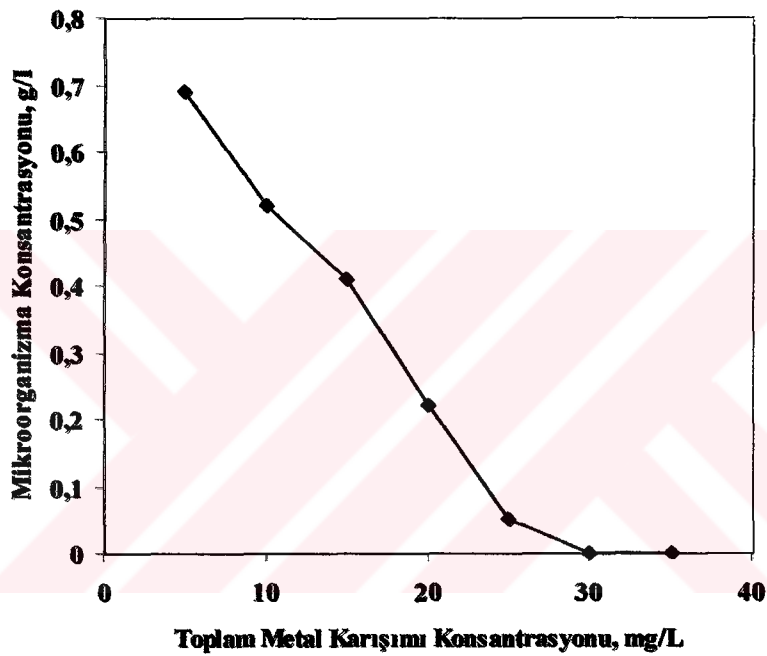
4. 2. 3. Başlangıç Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonları Konsantrasyonlarının Birlikte Etkisi

Başlangıç kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu üreme ortamında; kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarının artmasıyla birlikte üreyen *P. putida* miktarı azalmaktadır. Düşük başlangıç kadmiyum (II) ve bakır (II) iyon konsantrasyonlarından başlayarak 25 mg/L değerine kadar bu azalmanın devam ettiği, daha yüksek konsantrasyonlarda ise üremenin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4. 30). Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının tek tek bulunduğu üreme ortamında ise 50 mg/L değerine kadar üreme azalırken, daha yüksek konsantrasyonlarda ise üremenin olmadığı gözlenmiştir. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarını içeren üreme ortamında *P. putida*'nın üremesinin her iki metal iyon konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak azalması, her iki metal iyonlarının *P. putida* üzerindeki inhibisyon etkisinin sonucudur.

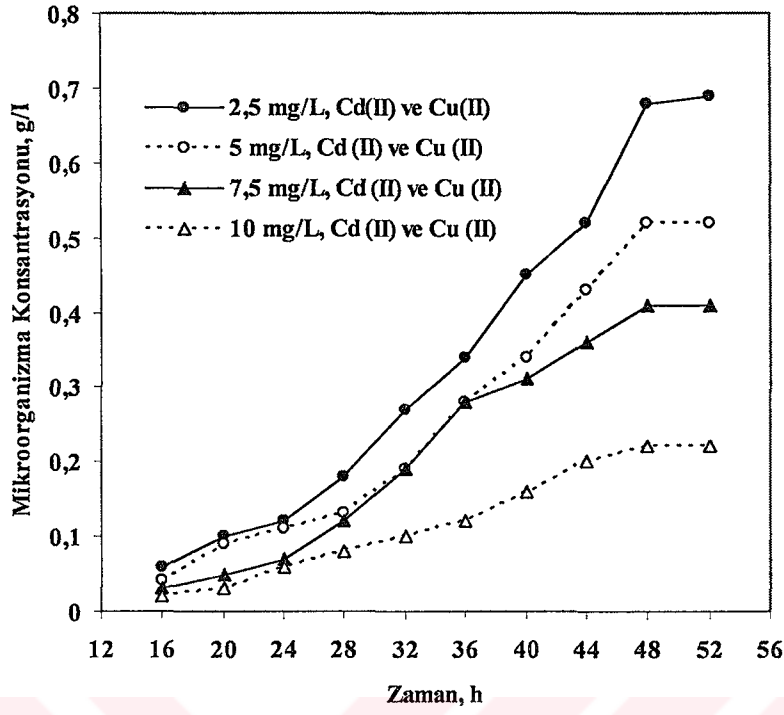
P. putida, kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını eşit konsantrasyonlarda içeren üreme ortamında ilk 24 saatte adaptasyon fazda, 24- 44 saatte ise logaritmik fazda üremektedir (Şekil 4. 31). İki metalin eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu koşullarda adaptasyon fazının,

metalleri tek tek içeren üreme ortamından daha uzun sürmesi *P. putida*'nın, her iki metal iyonlarının eşit konsantrasyonlarında birlikte bulunduğu üreme ortamına uyumunun daha zor olduğunu göstermektedir.

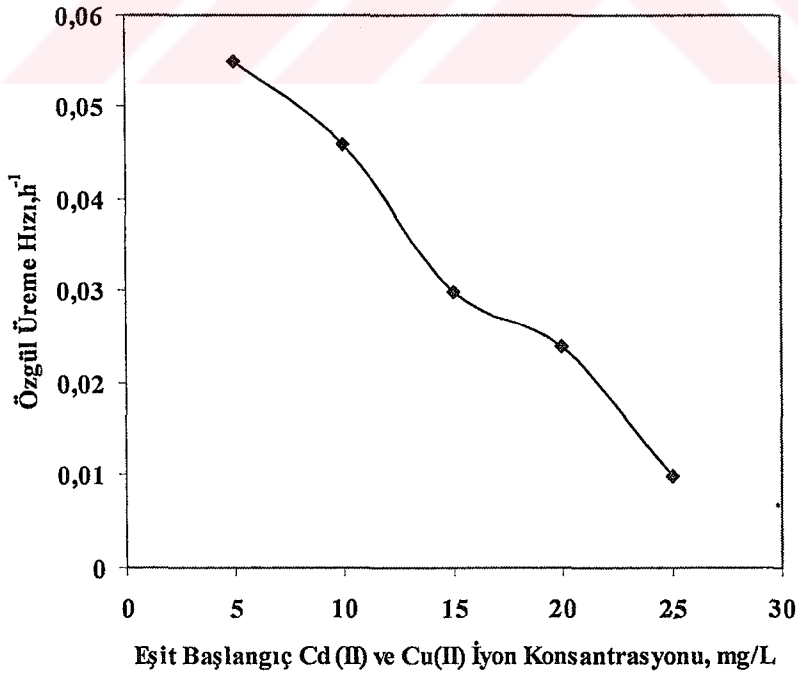
P. putida'nın kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını eşit konsantrasyonlarda içeren üreme ortamında logaritmik fazda üremesinden elde edilen lineer doğrunun eğiminden özgül üreme hızları bulunmuştur. Üreme ortamında eşit konsantrasyonlarda bulunan kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının düşük konsantrasyonlarında özgül üreme hızı artarken, metal konsantrasyonlarının artırılması ile özgül üreme hızı azalmıştır (Şekil 4. 32).



Şekil 4. 30. Başlangıç Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarının *P. putida* Konsantrasyonu Üzerine Etkisi (pH = 3,5; T=30° C; S₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)



Şekil 4. 31. Eşit Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Konsantrasyonlarını İçeren Üreme Ortamında *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 3,5; T=30° C; S₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)



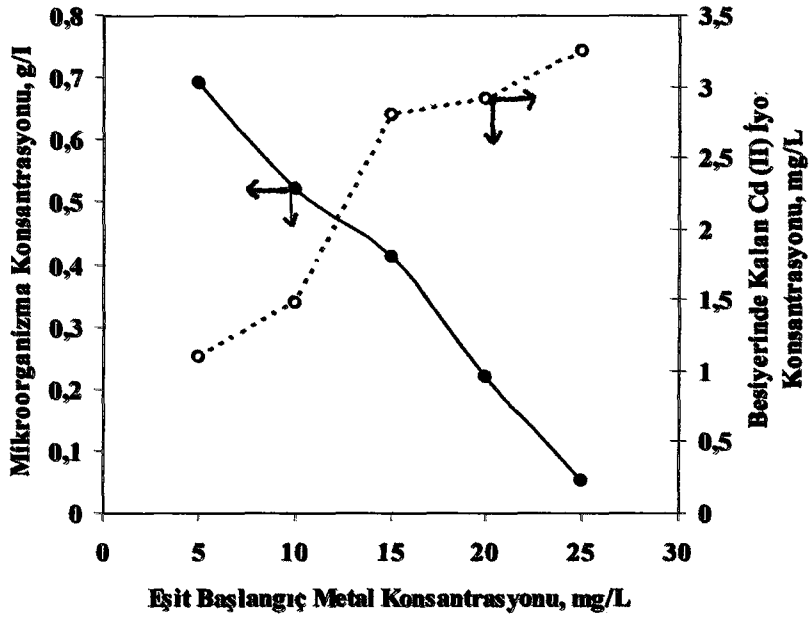
Şekil 4. 32. Eşit Başlangıç Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Konsantrasyonlarının *P. putida*'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Etkisi (pH = 3,5; T=30° C; S₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)

Farklı başlangıç kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarını içeren üreme ortamında, *P. putida*'nın üremesini tamamladıktan sonra, üreme ortamında kalan kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonları konsantrasyonlarını ile mikroorganizma konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4. 33 ve Şekil 4. 34'de görülmektedir. Farklı başlangıç metal iyon konsantrasyonlarında; metal arttıkça mikroorganizma konsantrasyonu azalmakta ve mikroorganizma konsantrasyonu azaldıkça üreme ortamında kalan metal miktarı da artmaktadır. Metalli ortamda mikroorganizma konsantrasyonunun artması adsorplanan metal miktarının da arttığını göstermektedir. Buna bağlı olarak metal konsantrasyonlarının yüksek olduğu üreme ortamlarında mikroorganizma konsantrasyonu az olduğundan, mikroorganizma tarafından adsorplanan metal miktarı da azalmaktadır. Yani üreme ortamında kalan kadmiyum (II) ve bakır (II) iyon konsantrasyonları mikroorganizma konsantrasyonlarına bağlı olarak değişmektedir. Üreme ortamında metallerin tek tek bulunduğu koşullarda da bu durumun geçerli olduğu daha önce de verilmiştir. *P. putida* üreme ortamında metaller tek tek bulundukları koşullarda, eşit konsantrasyonlarda birlikte bulundukları koşullara göre ağırlıkça daha fazla büyüdüğü için ortamda bulunan metalleri de daha fazla adsorplamaktadır.

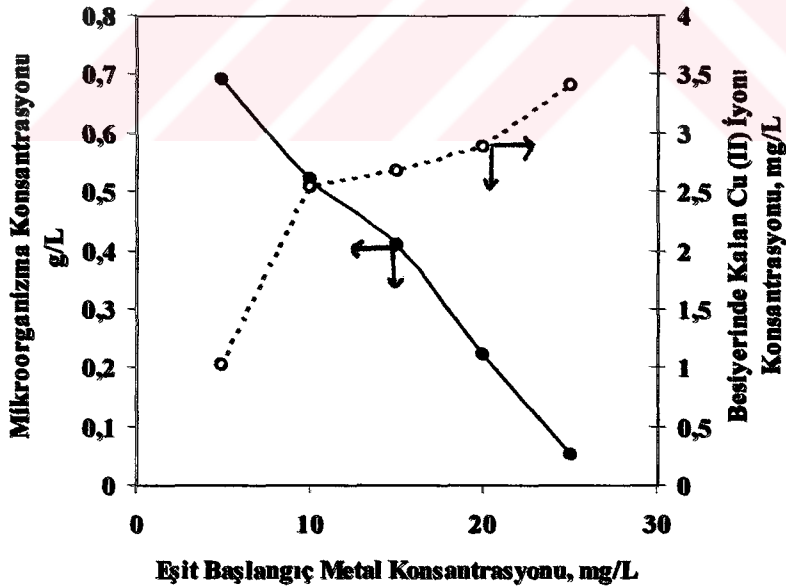
Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını eşit konsantrasyonlarda birlikte içeren üreme ortamında *P. putida*'nın üremesini tamamladıktan sonra üreme ortamında kalan kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonları konsantrasyonları ile başlangıçtaki metal konsantrasyonlarını incelediğimiz zaman *P. putida*'nın kadmiyumu seçici olarak akümüle etmesine karşın, bakırı da akümüle ettiği görülmektedir.

Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu üreme ortamında metallerin birbirleri üzerine etkisini anlamak zor olduğu için metallerden birinin konsantrasyonunu sabit tutup, diğer metalin konsantrasyonu değiştirilerek metallerin birbirleri ve mikroorganizma konsantrasyonları üzerine etkisi araştırılmıştır.

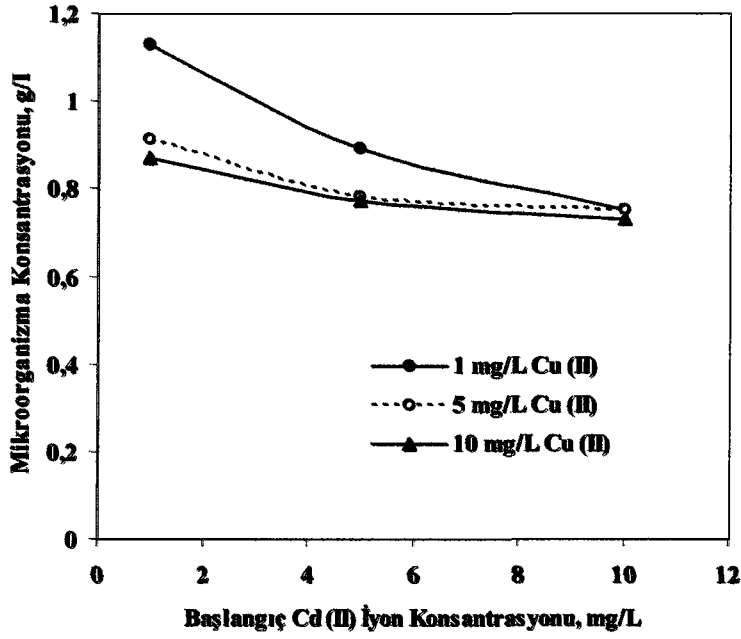
Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını birlikte içeren ikili metal iyonu karışım deneylerinde; başlangıç kadmiyum (II) iyon konsantrasyonu 1- 10 mg/L aralığında değiştirilirken, bakır (II) iyon konsantrasyonu her deney seti için sabit tutulmuştur. Daha sonra hazırlanan deney setinde ise; başlangıç bakır (II) iyon konsantrasyonu 1- 10 mg/L aralığında değiştirilirken, kadmiyum (II) iyon konsantrasyonu her deney seti için sabit tutulmuştur. Sabit bakır (II) iyon konsantrasyonlarında başlangıç kadmiyum (II) iyon konsantrasyonunun *P. putida*'nın üremesi üzerine etkisi Şekil 4. 35' den; sabit kadmiyum (II) iyon konsantrasyonlarında başlangıç bakır (II) iyon konsantrasyonunun *P. putida*'nın üremesi üzerine etkisi Şekil 4. 36' den görülmektedir.



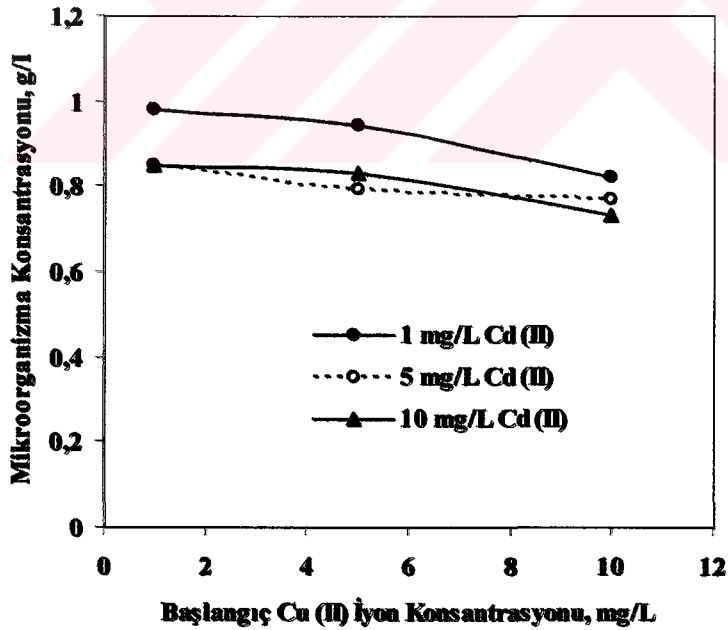
Şekil 4. 33. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarını Birlikte İçeren Üreme Ortamında *P. putida*' nın Üremesi Tamamlandıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonu İle Mikroorganizma Konsantrasyonu Arasındaki İlişki (pH = 3,5; T=30° C; S₀=10 mg/L; C_(Cd)=5 mg/L; C_(Cu)=5 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)



Şekil 4. 34. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Eşit Konsantrasyonlarını Birlikte İçeren Üreme Ortamında *P. putida*' nın Üremesi Tamamlandıktan Sonra Üreme Ortamında Kalan Bakır (II) İyon Konsantrasyonu İle Mikroorganizma Konsantrasyonu Arasındaki İlişki (pH = 3,5; T=30° C; S₀=10 mg/L; C_(Cd)=5 mg/L; C_(Cu)=5 mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)



Şekil 4. 35. Sabit Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarında Başlangıç Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarının *P. putida*'nın Üremesi Üzerine Etkisi (pH = 3,5; T=30° C; S₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150rpm)

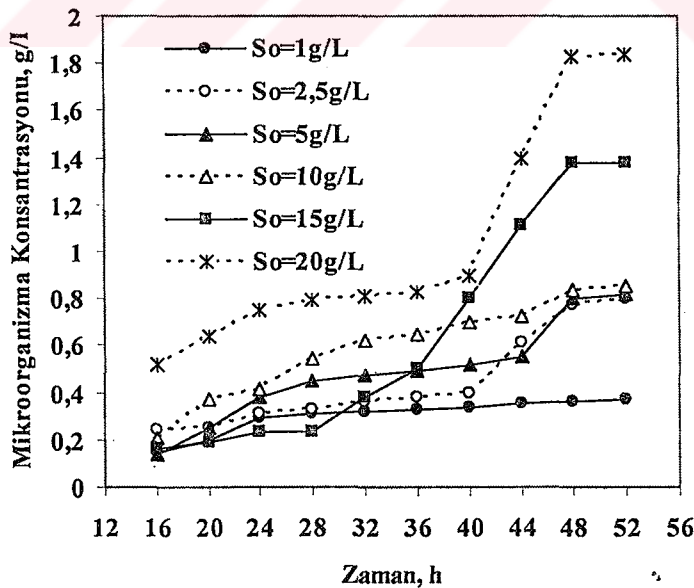


Şekil 4. 36. Sabit Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonlarında Başlangıç Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının *P. putida*'nın Üremesi Üzerine Etkisi (pH = 3,5; T=30° C; S₀=10 mg/L; V_R=100mL; KH=150rpm)

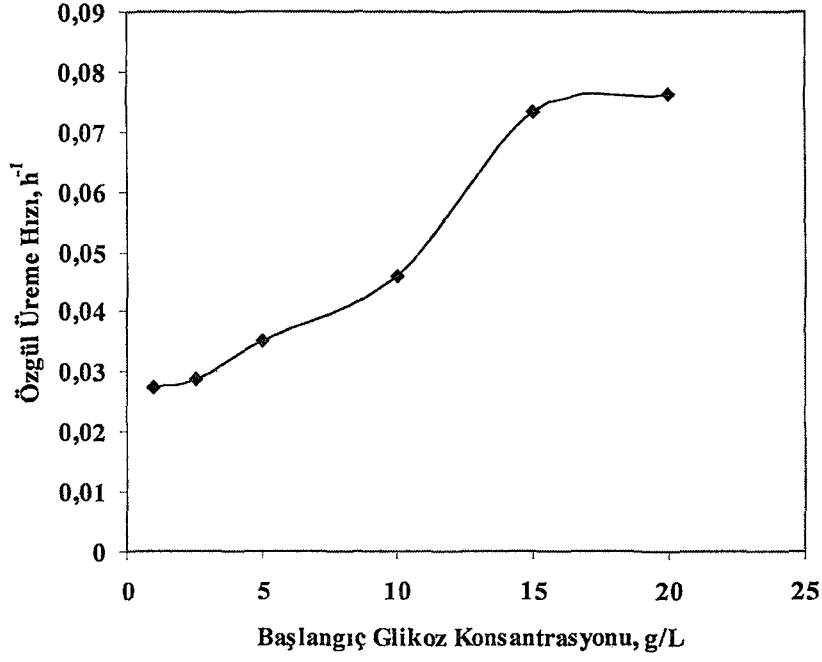
4. 2. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu Etkisi

Mikroorganizmaların büyümelerini en az sıcaklık, pH ve başlangıç metal iyon konsantrasyonu kadar, besi maddesi konsantrasyonu etkilemektedir. Üreme ortamında besi maddesi konsantrasyonlarının belli değerler arasında olması gerekmektedir. Düşük konsantrasyonlar, mikroorganizmaların üremeleri üzerine sınırlama, yüksek konsantrasyonlar ise inhibisyon etkisi yapmaktadır. Farklı glikoz konsantrasyonlarında, glikoz miktarı arttıkça, *P. putida* konsantrasyonu da artmaktadır. Glikoz miktarının aynı olmadığı koşullarda ise metalli ortama alıştırılmadan ve metalli ortama alıştırılarak üretilen *P. putida* konsantrasyonu, metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azalmaktadır (Şekil 4. 23).

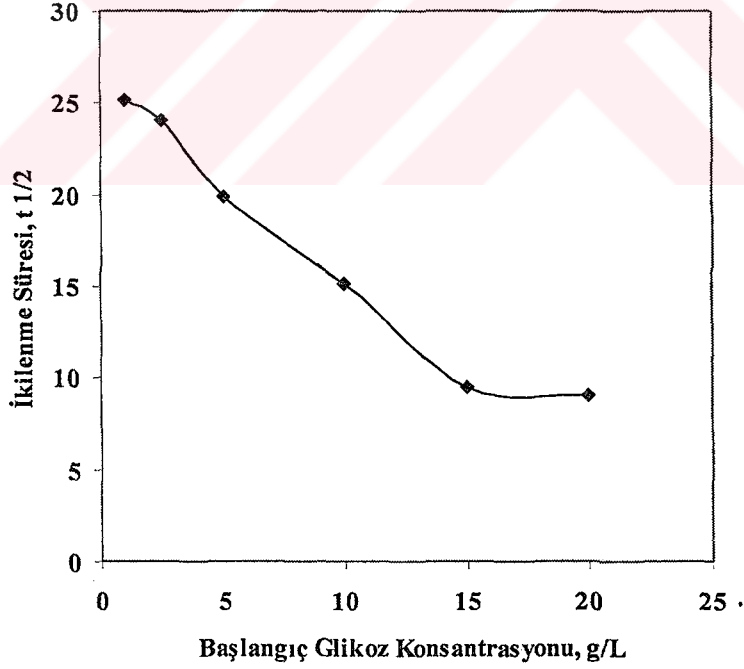
Farklı başlangıç glikoz konsantrasyonlarında mikroorganizma konsantrasyonunun ilk 48 saatte lineer değiştiği daha sonra ise yaklaşık olarak sabitlendiği gözlenmiştir (Şekil 4. 37). Lineer bölgede elde edilen özgül üreme hızlarının başlangıç glikoz konsantrasyonu ile değişiminde; ortamda bulunan glikozun düşük konsantrasyonlarında hızların düşük olduğu, glikoz konsantrasyonunun artırılması ile hızların arttığı ve 20 g/L' den sonra hızların azalmaya başladığı Şekil 4. 38' de, özgül üreme hızının tersine ikilenme süresinin başlangıç glikoz konsantrasyonunun artmasıyla azaldığı Şekil 4. 29' da görülmektedir. *P. putida*' nın maksimum özgül üreme hızı (μ_m) ve substrat doygunluk konsantrasyonu (K_s) değerleri, Monod eşitliğinin tersi alınıp, $1/\mu'$ ye karşı $1/S_0$ grafiğe geçirilerek bulunmuştur. $R^2=0,89$, $\mu_m=0,0999 \text{ h}^{-1}$ ve $K_s=7,3079 \text{ g/L}$ olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4. 37. Farklı Başlangıç Glikoz Konsantrasyonlarında *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi (pH = 3; T=30° C; $C_0=5 \text{ mg/L Cd (II)} + 5 \text{ mg/L Cu (II)}$; $V_R=100\text{mL}$; KH=150 rpm)



Şekil 4. 38. *P. putida*'nın Özgül Üreme Hızının Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi (pH = 3; T=25°C; C₀=5 mg/L Cd (II) + 5 mg/L Cu (II) mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)



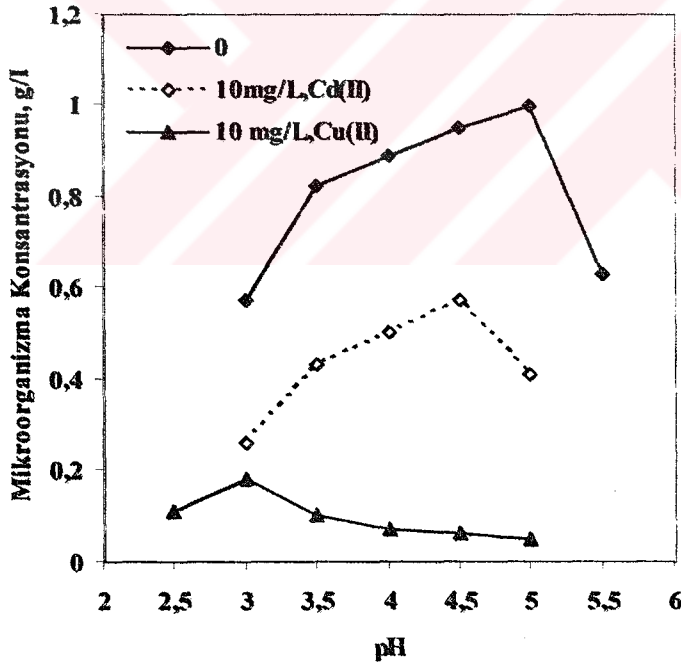
Şekil 4. 39. *P. putida*'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi (pH = 3; T=25° C; C₀=5 mg/L Cd (II) + 5 mg/L Cu (II) mg/L; V_R=100mL; KH=150 rpm)

5. DENEYSEL BULGULARIN KARŞILAŞTIRILMASI

5. 1. *P. putida*' nın Üremesi Üzerine Metal İyonlarının Tek Tek ve Birlikte Etkisi

5. 1. 1. Başlangıç pH' sının Etkisi

Başlangıç pH' sı, kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının *P. putida*' nın üremesini etkileyen önemli bir parametredir. Her iki metal iyonu için seçilen pH aralıklarında yapılan üreme çalışmalarında; maksimum üreme sırasıyla metalsiz ortamda pH= 5 değerinde elde edilirken; kadmiyum (II) iyonu için pH= 4,5; bakır iyonu için pH= 3' de elde edilmiştir (Şekil 5. 1). Karıştırma hızı, sıcaklık, metal konsantrasyonu ve glikoz konsantrasyonu sabit tutularak, farklı başlangıç pH değerlerinde yapılan deneylerde; her iki metalin tek tek bulunduğu koşullara uygunluğu açısından kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının birlikte bulunduğu koşullarda pH= 3.5 değerinde çalışılmıştır.



Şekil 5. 1. Başlangıç pH' sının *P. putida*' nın Üremesi Üzerine Etkisi ($S_0=30$ g/L; Cd (II) İyonu İçin $T=30^\circ$ C; Cu (II) İyonu İçin $T=25^\circ$ C; KH=150 rpm)

Tablo 5. 1' de ise her iki metal iyonu için bulunan özgül üreme hızı (μ , h^{-1}), maksimum hücre kuru ağırlığı (x_m , g/L) ve hücrenin kuru ağırlığı başına düşen metal birikimi (q_m , mg/g) değerleri verilmiştir.

Tablo 5. 1. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Özgül Büyüme Hızları, Maksimum Hücre Kuru Ağırlıkları ve Kuru Ağırlık Başına Düşen Metal Birikim Değerlerinin pH İle Değişimi

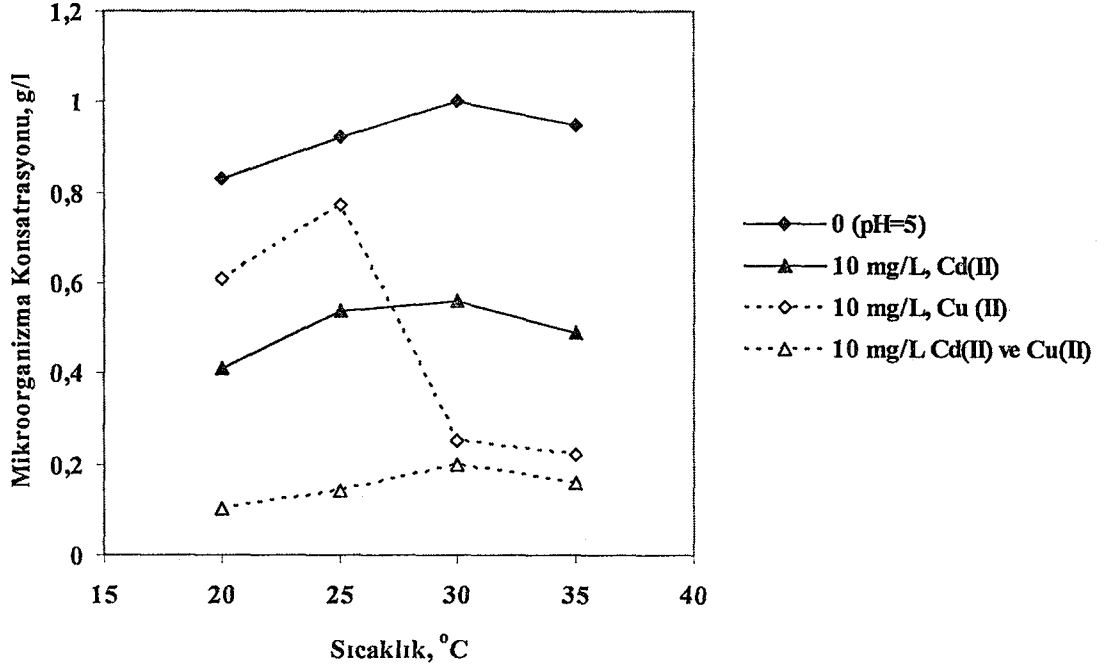
pH	Cd (II)			Cu (II)		
	μ , h^{-1}	x_m , g/L	q_m , mg/g	μ , h^{-1}	x_m , g/L	q_m , mg/g
3,0	0,024	0,15	5,41	0,039	0,38	13,37
3,5	0,036	0,24	8,64	0,03	0,25	8,89
4,0	0,041	0,32	10,2	0,023	0,16	6,61
4,5	0,047	0,46	15,23	0,018	0,11	4,48

Tablo 5. 1' den görüldüğü gibi, *P. putida* tarafından hem kadmiyum (II) hem de bakır (II) iyonlarının biyoakümüle edilmesinde ortamın pH' ı önemlidir. Mikroorganizmanın özgül büyüme hızı ve biyoakümüle edilmiş kadmiyum (II) miktarı pH' ın yükselmesi ile birlikte artmıştır. Maksimum kadmiyum (II) iyon birikimi (15,23 mg/ g kuru ağırlık) en yüksek pH değerinde (pH= 4,5) bulunmuştur. Bununla beraber maksimum bakır (II) iyon birikimi (13,37 mg/ g kuru ağırlık) en düşük pH değerinde (pH= 3) değerinde elde edilmiş olup, pH'ın artmasıyla bakır (II) iyon birikimi azalmıştır.

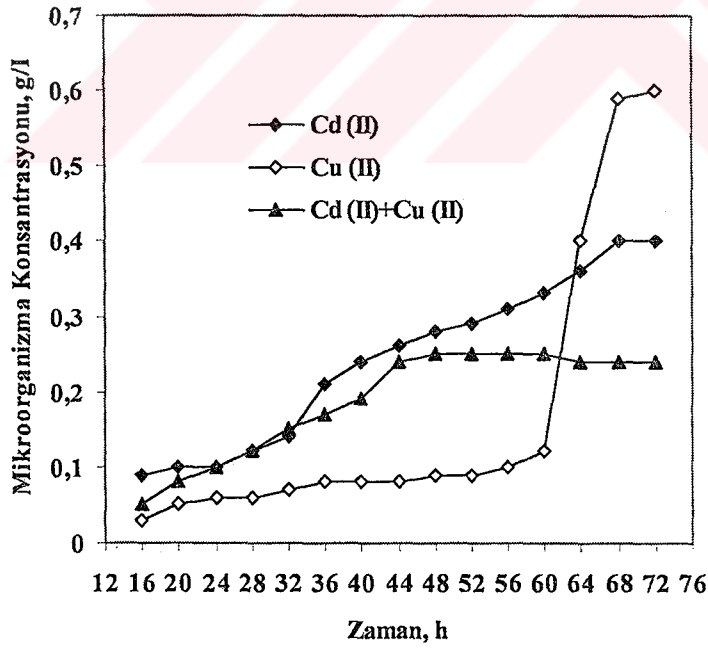
5. 1. 2. Sıcaklığın Etkisi

Sıcaklık, *P. putida*' nın üremesini etkileyen önemli parametrelerden biridir. *P. putida*' nın üremesi için optimum sıcaklık; kadmiyum (II) iyonu için 30° C, bakır (II) iyonları için ise 25° C iken, hem metalsiz hem de her iki metalin eşit konsantrasyonlarının birlikte bulunduğu ortamda maksimum üreme T= 30° C değerinde elde edilmiştir (Şekil 5. 2). Üreme çalışmaları mikroorganizmanın metabolizmasına bağlı olarak gerçekleşmiştir.

P. putida her iki metal için ilk 68 saatte logaritmik fazda ürerken, metal iyonlarını eşit konsantrasyonlarda birlikte içeren üreme ortamında ilk 48 saatte logaritmik fazda ürettiği, daha sonra ise mikroorganizma konsantrasyonunun sabit kaldığı Şekil 5. 3' de görülmektedir.

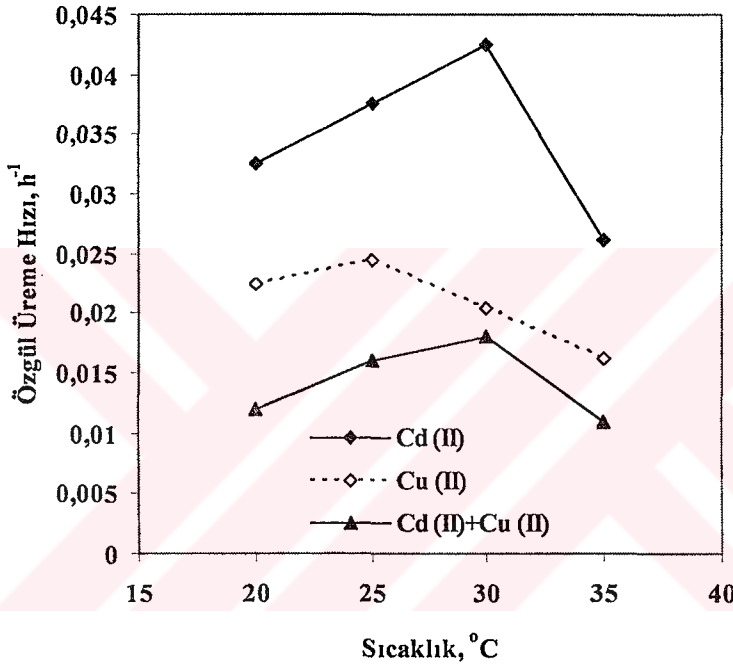


Şekil 5. 2. Sıcaklığın *P. putida*'nın Üremesi Üzerine Etkisi ($S_0=30$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; Cu (II) İyonu İçin pH=3; Cd (II) ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; KH=150 rpm)



Şekil 5. 3. Optimum Sıcaklıklarda *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi ($S_0=30$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; $T=30^\circ$ C; Cu (II) İyonu İçin pH=3; $T=25^\circ$ C; Cd (II) ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; $T=30^\circ$ C; KH=150 rpm)

Sıcaklık değişimi mikroorganizma konsantrasyonunu etkilediği gibi, mikroorganizmanın özgül üreme hızını da etkilemektedir. Her iki metal iyonunun ayrı ayrı ve birlikte bulunduğu üreme ortamlarında mikroorganizmanın logaritmik fazda üremesinden elde edilen lineer doğrunun eğiminden özgül üreme hızları bulunmuştur. Optimum sıcaklığa kadar özgül üreme hızlarının arttığı ve optimum sıcaklıkta maksimum olduğu, daha sonra sıcaklığın artmasıyla beraber özgül üreme hızlarının da azaldığı Şekil 5. 4’ de görülmektedir. Ayrıca metal iyonlarının birlikte bulundukları üreme ortamında özgül üreme hızlarının da, tek tek bulundukları ortama göre düştüğü açıktır.



Şekil 5. 4. Sıcaklığın *P. putida*'nın Özgül Üreme Hızı Üzerine Etkisi ($S_0=30$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; Cu (II) İyonu İçin pH=3; Cd (II) ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; KH=150 rpm)

Sıcaklığın değişmesiyle elde edilen özgül üreme hızı (μ , h^{-1}), maksimum hücre kuru ağırlığı (x_m , g/L) ve hücrenin kuru ağırlığı başına düşen metal birikimi (q_m , mg/ g) değerleri Tablo 5. 2’ de verilmiştir. Tablo 5. 2’ de görüldüğü gibi, mikroorganizmanın özgül büyüme hızı ve biyoakümüle edilmiş kadmiyum (II) miktarı optimum sıcaklık değerlerinde görülmüştür. Maksimum kadmiyum (II) iyon birikimi (20,9 mg/ g kuru ağırlık) 30° C’ de, maksimum bakır (II) iyon birikimi (19,47 mg/ g kuru ağırlık) 25° C’ de ve kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarda birlikte bulundukları ortamda maksimum kadmiyum (II) iyon birikimi (14,05 mg / g kuru ağırlık) ve maksimum bakır (II) iyon birikimi (10,06 mg / g kuru ağırlık) 30° C’ de elde edilmiştir.

Tablo 5. 2. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Özgül Büyüme Hızları, Maksimum Hücre Kuru Ağırlıkları ve Kuru Ağırlık Başına Düşen Metal Birikim Değerlerinin Sıcaklık İle Değişimi

Sıcaklık	Tekli Cd (II)			Tekli Cu (II)			İkili Cd (II)+ Cu (II)			
	μ, h^{-1}	$x_m, g/L$	$q_m, mg/g$	μ, h^{-1}	$x_m, g/L$	$q_m, mg/g$	μ, h^{-1}	$x_m, g/L$	$q_m, mg/g$ Cd (II)	$q_m, mg/g$ Cu (II)
20°C	0,0325	0,16	7,425	0,0225	0,35	18,72	0,012	0,18	4,04	3,11
25°C	0,0375	0,26	8,8	0,0244	0,6	19,47	0,016	0,23	6,43	5,6
30°C	0,0425	0,4	20,9	0,0204	0,165	7,93	0,018	0,25	14,05	10,06
35°C	0,0262	0,33	17,22	0,0161	0,11	5,91	0,011	0,21	6,0	5,40

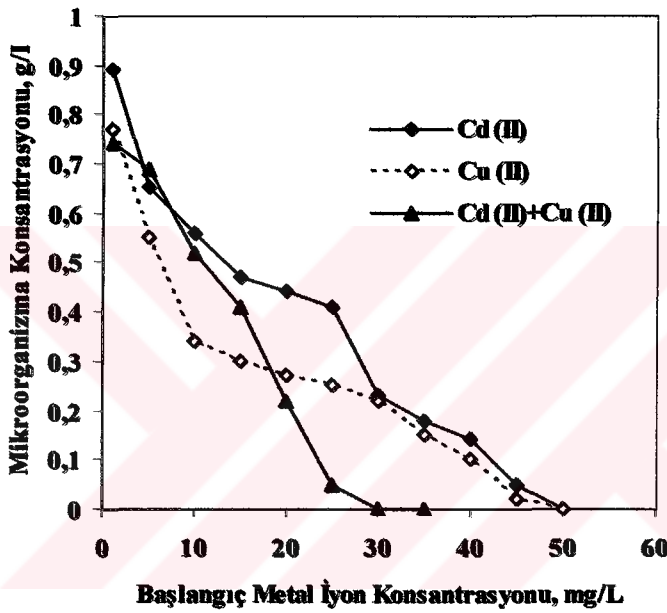
5. 1. 3. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonunun Etkisi

Farklı başlangıç metal iyon konsantrasyonlarında, üreme ortamında ayrı ayrı bulunan kadmiyum (II) ve bakır (II) iyon konsantrasyonu miktarının artmasıyla birlikte *P. putida* miktarı azalmaktadır. Düşük başlangıç metal iyon konsantrasyonlarından başlayarak metal miktarının 50 mg/L değerine kadar, iki metalin birlikte bulunduğu ortamda ise 25 mg/L değerine kadar bu azalma devam etmekte, daha yüksek konsantrasyonlarda ise üreme olmamaktadır (Şekil 5. 5). Şekil 5. 5' den de görüldüğü gibi *P. putida*, kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını tek tek içeren üreme ortamında, eşit konsantrasyonlarda birlikte bulundukları ortama göre daha fazla üremektedir. Bu da bize metallerin ikili karışımlarının *P. putida* üzerinde daha fazla inhibisyon etkisi yaptığını göstermektedir. 50 mg/L başlangıç metal iyon konsantrasyonundan sonra hücre yüzeyinin metal iyonlarınca doygunluğa erişmesi ve yüksek metal iyon konsantrasyonlarının mikroorganizmanın üremesi üzerine inhibisyon etkisi yapması; hem mikroorganizmanın üremesinin hem de adsorplanan metal miktarının azalmasına neden olmaktadır. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının eşit konsantrasyonlarını içeren üreme ortamında *P. putida*'nın üremesinin her iki metal iyon konsantrasyonlarının artışına bağlı olarak azalması, her iki metal iyonlarının *P. putida* üzerindeki inhibisyon etkisinin sonucudur.

P. putida metal iyonu içermeyen üreme ortamında ilk 16 saatte adaptasyon fazda, 48 saatte ise logaritmik fazda, her iki metal iyonunu ayrı ayrı içeren üreme ortamında ilk 20 saatte adaptasyon fazda, 44 saatte de logaritmik fazda, iki metalin birlikte bulunduğu üreme ortamında ise ilk 24 saatte adaptasyon fazda, 44 saatte ise logaritmik fazda ürediği Şekil 5. 6' da görülmektedir. Adaptasyon fazının metalli ortamda daha uzun sürmesi, mikroorganizmanın metalli ortama uyumunun daha zor olduğunu göstermektedir. İki metalin eşit

konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu koşullarda adaptasyon fazının, metalleri tek tek içeren üreme ortamından daha uzun sürmesi *P. putida*'nın, her iki metal iyonlarının eşit konsantrasyonlarında birlikte bulunduğu üreme ortamına uyumunun daha zor olduğunu göstermektedir.

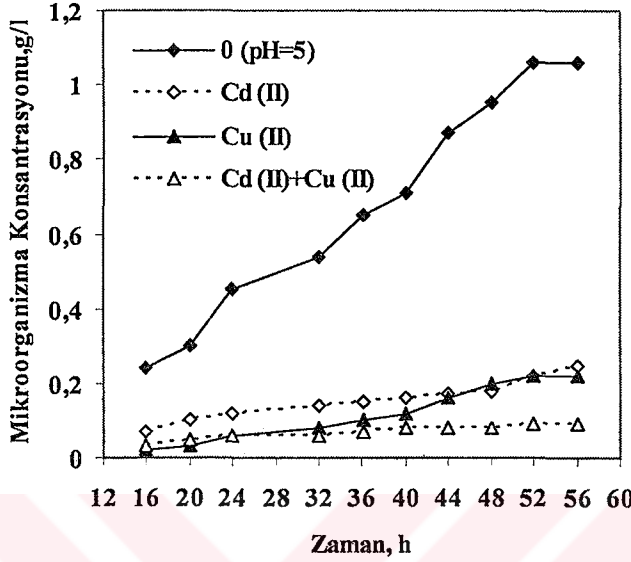
Üreme ortamında bulunan metal iyon konsantrasyonları arttıkça özgül üreme hızları da azalmaktadır. Farklı başlangıç metal iyon konsantrasyonlarında özgül üreme hızlarının başlangıç iyon konsantrasyonlarıyla değişimi Şekil 5. 7' de verilmektedir. Şekilden de görüldüğü gibi başlangıç metal iyon konsantrasyonlarının artmasıyla, özgül üreme hızları azalmıştır.



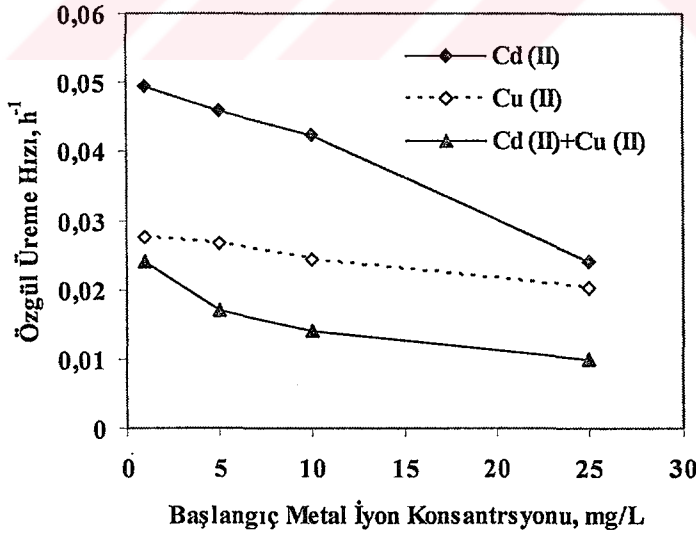
Şekil 5. 5. Farklı Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonlarının *P. putida* Konsantrasyonu Üzerine Etkisi ($S_0=30$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; T=30° C; Cu (II) İyonu İçin pH=3; T=25° C; Cd (II) ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; T=30° C; KH=150 rpm)

Farklı başlangıç metal konsantrasyonlarında elde edilen özgül üreme hızı (μ , h^{-1}), maksimum hücre kuru ağırlığı (x_m , g/L) ve hücrenin kuru ağırlığı başına düşen metal birikimi (q_m , mg/g) değerleri ve maksimum spesifik metal tutma verimleri Tablo 5. 3' de verilmiştir. Maksimum spesifik büyüme hızları, kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonları yokluğunda bulunmuştur. Metal konsantrasyonu arttıkça özgül üreme hızının azalması, metal iyonlarının mikroorganizmanın büyümesi üzerine inhibisyon etkisi yapması sonucudur. Düşük metal konsantrasyonlarında daha yüksek biyoakümülayon verimleri elde edilmiştir. En yüksek Cd (II) metali biyoakümülayon verimi % 67,40 ve en yüksek Cu (II) metali biyoakümülayon

verimi % 44,68' dir. Her iki metalin birlikte bulundukları üreme ortamında ise en yüksek Cd (II) metali biyoakümülyasyon verimi % 30,34' ken, en yüksek Cu (II) metali biyoakümülyasyon verimi % 24,12' dir. Buna göre *P. putida*'nın kadmiyum metalini bakır metaline göre daha iyi akümüle ettiği görülmüştür.



Şekil 5. 6. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonlarında *P. putida* Konsantrasyonunun Zamanla Değişimi ($S_0=30$ g/L; $C_0=10$ mg/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; $T=30^\circ$ C; Cu (II) İyonu İçin pH=3; $T=25^\circ$ C; Cd (II) ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; $T=30^\circ$ C; KH=150 rpm)



Şekil 5. 7. Başlangıç Metal İyon Konsantrasyonlarının *P. putida*'nın Özgüyl Üreme Hızı Üzerine Etkisi ($S_0=30$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; $T=30^\circ$ C; Cu (II) İyonu İçin pH=3; $T=25^\circ$ C; Cd (II) ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; $T=30^\circ$ C; KH=150 rpm)

Tablo 5. 3. Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyonlarının Özgül Büyüme Hızları, Maksimum Hücre Kuru Ağırlıkları, Kuru Ağırlık Başına Düşen Metal Birikim Değerleri ve Maksimum Spesifik Metal Tutma Yüzdelerinin Başlangıç Metal Konsantrasyonu İle Değişimi

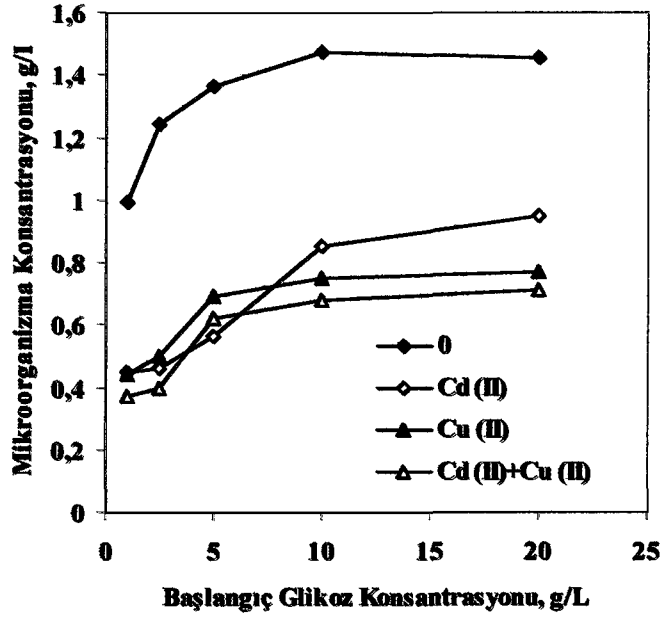
	C₀, mg/L				
Tekli Cd (II)	0	1	5	10	25
μ , h ⁻¹	1,33	0,0496	0,046	0,0425	0,0239
x_m , g/L	1,24	0,47	0,35	0,25	0,22
$C_{akü}$, mg/L	0,0	0,674	3,15	4,246	7,622
q_m , mg/g	0,0	1,434	9,0	16,984	34,645
%	0,0	67,40	44,05	42,46	30,49
Tekli Cu (II)	0	1	5	10	25
μ , h ⁻¹	1,17	0,0275	0,0265	0,0244	0,0203
x_m , g/L	1,16	0,6	0,19	0,15	0,12
$C_{akü}$, mg/L	0,0	0,446	2,049	3,98	7,01
q_m , mg/g	0,0	0,743	10,78	26,53	58,42
%	0,0	44,68	40,98	39,8	28,04
İkili Cd(II)+Cu (II)	0	1	5	10	25
μ , h ⁻¹ Cd (II)	1,02	0,024	0,017	0,014	0,01
x_m , g/L	0,83	0,32	0,23	0,11	0,09
$C_{akü}$, mg/L Cd (II)	0,0	0,351	0,294	0,22	0,19
$C_{akü}$, mg/L Cu (II)	0,0	0,287	1,21	1,152	2,03
q_m , mg/g Cd (II)	0,0	1,09	1,27	2,0	2,11
q_m , mg/g Cu (II)	0,0	0,89	5,26	10,47	22,55
% Cd (II)	0,0	30,34	17,85	14,75	10,87
% Cu (II)	0,0	24,12	17,67	13,64	7,49

5. 1. 4. Başlangıç Glikoz Konsantrasyonunun Etkisi

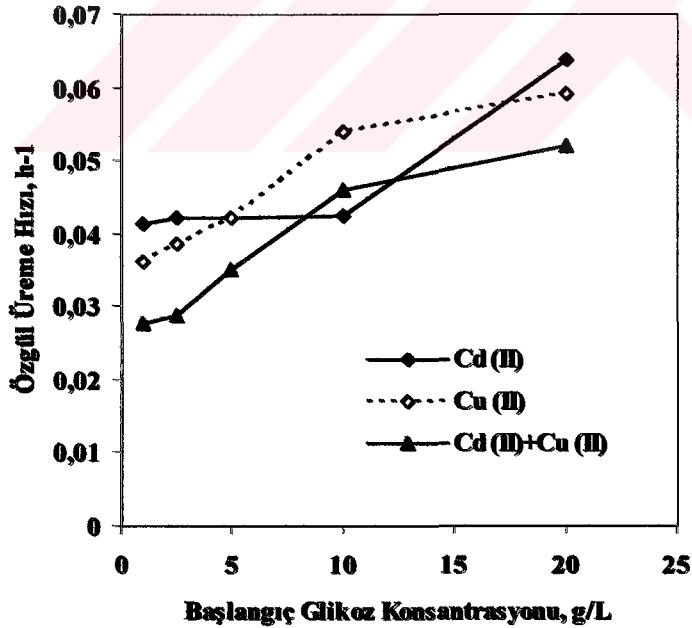
Üreme ortamında besi maddesi konsantrasyonlarının belli değerler arasında olması gerekmektedir. Düşük konsantrasyonlar sınırlama, yüksek konsantrasyonlar ise inhibisyon etkisi yapmaktadır. Sabit metal iyon konsantrasyonlarında, glikoz miktarının aynı olmadığı koşullarda, metalli ortama alıştırılmadan ve her iki metale alıştırılarak üretilen *P. putida*

konsantrasyonu, glikoz konsantrasyonunun artışına bağlı olarak değişmektedir. Glikoz konsantrasyonunun 20 mg/L' ye kadar arttırılmasıyla mikroorganizma konsantrasyonu artmakta, 20 mg/L değerinden daha büyük değerlerde ise, mikroorganizma konsantrasyonu sabit kalmaktadır (Şekil 5. 8). Şekil 5. 8 incelendiğinde; *P. putida*' nın kadmiyum (II) iyonları içeren üreme ortamında bakır (II) iyonları içeren üreme ortamına göre daha çok ürettiği ve en az üremenin iki metal iyonunun eşit konsantrasyonlarda birlikte bulundukları üreme ortamında olduğu görülmektedir. Bu da bize bakır (II) iyonunun, farklı glikoz konsantrasyonlarında *P. putida*' nın üremesi üzerine kadmiyum (II) iyonuna göre daha fazla inhibisyon etkisi yaptığını ve iki metalin bir arada bulunması da üremeyi engellediğini göstermektedir.

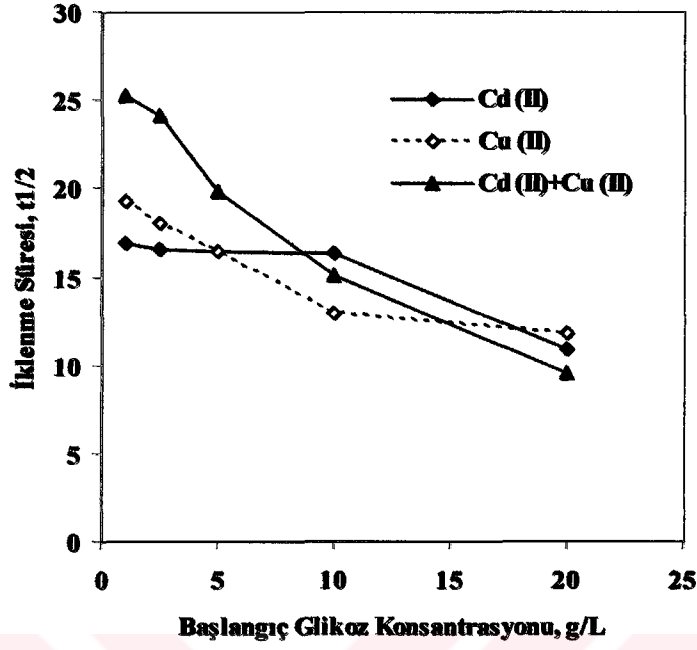
Lineer bölgede elde edilen özgül üreme hızlarının başlangıç glikoz konsantrasyonu ile değişiminde; ortamda bulunan glikozun düşük konsantrasyonlarında hızların da düşük olduğu, glikoz konsantrasyonunun arttırılması ile hızların da arttığı Şekil 5. 9' da görülmektedir. Aynı durum her iki metalin tek tek ve birlikte bulunduğu üreme ortamları için de geçerlidir. Tablo 5. 4' de ise kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarını tek tek ve birlikte içeren üreme ortamında üreyen *P. putida*' nın maksimum özgül üreme hızları ve substrat doygunluk konsantrasyonları görülmektedir. Kadmiyum (II) iyonlarını içeren üreme ortamında *P. putida*' nın maksimum özgül üreme hızına sahip olduğu hem Şekil 5. 9' dan hem de Tablo 5. 4' den görülmektedir. Başlangıç glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak ikilenme süresinin değişimi Şekil 5. 10' da görülmektedir. Şekil incelendiği zaman; *P. putida*' nın en yüksek ikilenme süresine bakır (II) iyonları bulunan ortamda ulaştığı görülmektedir. İkilenme süresi özgül üreme hızının tersidir.



Şekil 5. 8. Metalli ve Metalsiz Ortamda Üreyen *P. putida*'nın Konsantrasyonunun Farklı Glikoz Konsantrasyonları İle Değişimi ($C_0=10$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; $T=30^\circ$ C; Cu (II) İyonu İçin pH=3; $T=25^\circ$ C; $C_0=10$ g/L (5 g/L Cd (II)+ 5 g/L Cu (II)); Cd (II ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; $T=30^\circ$ C; KH=150 rpm)



Şekil 5. 9. *P. putida*'nın Özgül Üreme Hızının Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi ($C_0=10$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; $T=30^\circ$ C; Cu (II) İyonu İçin pH=3; $T=25^\circ$ C; $C_0=10$ g/L (5 g/L Cd (II)+ 5 g/L Cu (II)); Cd (II ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; $T=30^\circ$ C; KH=150 rpm)



Şekil 5. 10. *P. putida*'nın İkilenme Süresinin Başlangıç Glikoz Konsantrasyonu İle Değişimi ($C_0=10$ g/L; Cd (II) İyonu İçin pH=4,5; $T=30^\circ\text{C}$; Cu (II) İyonu İçin pH=3; $T=25^\circ\text{C}$; Cd (II) ve Cu (II) İyonu İçin pH=3,5; $T=30^\circ\text{C}$ KH=150 rpm)

Tablo 5. 4. *P. putida*'nın Maksimum Özgül Üreme Hızları ve Substrat Doygunluk Konsantrasyon Değerleri

	Tekli Cd (II)	Tekli Cu (II)	İkili Cd (II)+ Cu (II)
μ_m, h^{-1}	0,0567	0,0519	0,0999
$K_s, g/L$	0,8337	0,3919	7,3079

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Ağır metallerden kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının *P. putida* 'nın özgül üreme hızı üzerine etkisi kesikli düzende karıştırmalı tepkime kabında araştırılmıştır. Bu çalışmada; ağır metallerden kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının *P. putida* 'nın üremesi üzerine ayrı ayrı ve birlikte etkileri ile üremeleri sırasında ortamdaki ağır metallerin *P. putida* 'ya biyoakümülyasyonunda gerekli optimum ortam koşulları kesikli karıştırmalı reaktörde araştırılmıştır.

Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının tek tek bulundukları ortamda *P. putida* 'nın üretilmesinde optimum başlangıç pH' ları sırayla 4,5 ve 3,0 olarak bulunmuştur. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının ikili karışımlarla eşit konsantrasyonlarını içeren ortamda pH= 3,5 olarak bulunmuştur. Bu iki metal iyonu asidik pH' larda mikroorganizmaya bağlanmaktadır. Optimum pH' lardan daha düşük pH' larda metal iyonları mikroorganizmaya bağlanmak için ortamdaki H⁺ iyonları ile yarışmaktadır. Ayrıca düşük pH değerlerinde hücre yüzey yükü pozitif olacağından, pozitif yüklü metal katyonları, hücre yüzeyinden uzaklaşacaktır. Bu durumda da mikroorganizma hücreleri ile metal iyonları arasında etkileşim azalmaktadır.

Ağır metal iyonlarının bulunduğu üreme ortamında mikroorganizmanın üremesi üzerine sıcaklık, pH kadar önemlidir. *P. putida*, kadmiyum (II) iyonlarının bulunduğu ortamda 30° C' de, bakır (II) iyonlarının bulunduğu ortamda 25° C' de ve her ikisinin eşit konsantrasyonlarda bulundukları ortamda optimum 30° C' de ürediği tespit edilmiştir.

Üreme ortamındaki metal iyonu konsantrasyonunun artmasıyla *P. putida* konsantrasyonu azalmaktadır. Kesikli düzende çalışan karıştırmalı tepkime kabında; *P. putida* 'nın kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının ayrı ayrı bulundukları üreme ortamında 50 mg/L başlangıç metal konsantrasyonuna, iki metal iyonunun birlikte bulunduğu üreme ortamında ise 25 mg/L başlangıç metal konsantrasyonuna kadar üreyebildiği görülmüştür. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının tek tek bulundukları ortamda *P. putida* 'nın bu metalleri maksimum giderme verimi sırayla % 67,4 ve % 44,68 olduğu bulunmuşken; metal konsantrasyonunun artmasıyla verimin sırayla % 30,49' a ve % 28,04' e azaldığı; her iki metalin eşit konsantrasyonlarda birlikte bulunduğu ortamda verimin kadmiyum (II) iyonu için % 30,34'den metal konsantrasyonunun artmasıyla % 10,87' e, bakır (II) iyonu için % 24,12'den % 7,49' a düştüğü görülmüştür.

Ağır metallerin bulunduğu üreme ortamında besi maddesi konsantrasyonu mikroorganizmaların büyümelerini en az sıcaklık, pH ve başlangıç metal iyonu konsantrasyonu kadar etkilemektedir. Üreme ortamında besi maddesi konsantrasyonlarının belirli değerler

arasında olması gerekmektedir. Düşük konsantrasyonların *P. putida*'nın üremesi üzerine sınırlama, yüksek konsantrasyonların ise inhibisyon etkisi yaptığı bulunmuştur. Farklı glikoz konsantrasyonlarında, glikoz miktarı arttıkça *P. putida* konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir. 20 mg/L'ye kadar glikoz konsantrasyonlarında, mikroorganizma konsantrasyonu artarken, 20 mg/L'den daha büyük glikoz konsantrasyonlarında ise mikroorganizma konsantrasyonu azalmaktadır. Glikozun aynı olmadığı koşullarda üretilen *P. putida* konsantrasyonunun metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak azaldığı bulunmuştur. Kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının ayrı ayrı bulundukları üreme ortamında *P. putida*'nın maksimum özgül üreme hızı (μ_m) sırayla 0,0567 ve 0,0519; iki metal iyonunun birlikte bulunduğu ortamda ise 0,0999 bulunmuştur. Substrat doygunluk konsantrasyonu (K_s) kadmiyum (II) ve bakır (II) iyonlarının ayrı ayrı bulundukları üreme ortamında sırayla 0,8337 ve 0,3919; iki metal iyonunun birlikte bulunduğu ortamda ise 7,3079 olarak hesaplanmıştır.

Başlangıç glikoz konsantrasyonuna bağlı olarak, özgül üreme hızının tersine ikilenme süresi $S_0=20$ mg/L değerine kadar azaldığı görülmüştür.

Bu çalışmada kullanılan canlı *P. putida*'nın üremesi sırasında çok iyi steril edilmesi gerekmektedir. Canlı sistemlerle yapılan çalışmalarda en önemli sorun sterilizasyondur. Mikroorganizmanın metalli ve metalsiz ortamda üretilmesi sırasında kullanılan tüm ekipman, malzeme, besiyeri ve çözeltilerin steril olması gerekmektedir. Ayrıca üretim sırasında mikroorganizmanın başka mikroorganizmalarla kontamine olma riskini de göz önüne alarak sterilliğin devamlılığını sağlamak şarttır.

P. putida'nın üremesinin son derece yavaş olması, sterilizasyon koşullarının devamlılığını sağlanarak kontaminasyona engel olunması, metal çözeltisi ile besiyerinin bir araya gelmesi durumunda metal iyonlarının çökmesinin engellenmesinin gerekliliği ve sonuçların güvenilirliğini artırmak amacı ile deneylerin birkaç kez tekrarlanması üreme çalışmalarının yavaş ilerlemesine neden olmuştur. Ancak üreme çalışmaları sırasında; mikroorganizmanın 30° C gibi düşük sıcaklıklarda gelişmesi, çok sayıda 250 mL'lik erlenlerin kullanılabildiği bir orbital inkübatörün kullanılması ve metal iyon konsantrasyonlarının atomik absorpsiyon spektrofotometresinde tayin edilebilmesi bir avantaj olarak kabul edilebilir.

P. putida'nın hem metalli hem de metalsiz ortamda üretilmesi düşük pH ve sıcaklıklarda gerçekleşmektedir. Pahalı pH yükseltici ve çöktürücü kimyasallara ihtiyaç olmayacağından, mikroorganizmalarla ağır metal iyonlarının uzaklaştırılması düşük maliyetlerde gerçekleştirilebilir.

Üreme çalışmalarında kullanılan ağır metal iyon konsantrasyonları, atık sularda yer alan metal iyonu konsantrasyon limitlerini içermektedir. Bu durumda atık sulardaki ağır metal iyonları yüksek hız ve etkinlikte mikroorganizmalarla uzaklaştırılabilir. Eğer atık su daha

yüksek konsantrasyonlarda ağır metal iyonu içeriyorsa, su ile seyreltmeler yapılmalıdır. Daha iyi bir arıtım olup olmayacağını anlamak için ard arda seri olarak bağlanmış ve her biri bir denge kademesi olan birkaç tane kap ile çalışmalara devam edilebilir.

Laboratuvar koşullarında gerçekleştirilen bu çalışma, endüstriyel bir atık su arıtım prosesine dönüştürülebilir. Kesikli düzende çalışan karıştırıcı kapta yapılan bu çalışma sürekli düzende çalışan tepkime kaplarında incelenebilir.

Daha ileriki çalışmalarda mikroorganizma sayısı artırılarak aynı üreme ortamında bulunan birden fazla mikroorganizmanın üremesi üzerine ağır metal iyonlarının etkisi araştırılabilir. Ayrıca canlı mikroorganizma yüzeyinde tutulan ağır metal iyonlarının geri kazanımı üzerinde de durularak, desorpsiyon hızına ortam parametrelerinin etkisi araştırılabilir.

Kirletilmiş endüstriyel çıkışlardan ağır metallerin geri kazanımı ve giderimi için biyolojik materyallerin kullanımı, pahalı ve verimsiz olabilen konvensiyonel teknolojilere potansiyel bir alternatif metot olarak ortaya çıkmıştır.

Mikroorganizmaların bulundukları ortamdan ağır metal iyonlarını seçici olarak bünyelerinde biriktirebilme özelliklerinden yararlanılarak, atık su arıtımında kullanılması, klasik yöntemlere göre pratik ve ekonomik bir prosestir. Sonuç olarak bu çalışma, atık sularda bulunan ağır metal iyonlarının canlı mikroorganizmalarla giderimi konusunda endüstriyel arıtım prosesleri için bir laboratuvar ön çalışması olarak düşünülebilir.

KAYNAKLAR

- Aksu, Z., Kutsal, T., 1994, Atık Sulardaki Kurşun (II), Krom (VI) ve Bakır (II) İyonlarının Yeşil Alglerden *Chlorella vulgaris* 'e Adsorpsiyonunun Karıştırmalı ve Akışkan Yatak Reaktörlerde İncelenmesi, Tr. J. Of Engineering and Environmental Sciences., 18, 403-410.
- Aksu, Z., Sağ, Y., Nourbakhsh, M., Kutsal, T., 1995, Atık Sulardaki Bakır (II), Krom (VI) ve Kurşun (II) İyonlarının Çeşitli Mikroorganizmalara Adsorplanarak Giderilmesinin Karşılaştırılmalı İncelenmesi, Tr. J. Of Engineering and Environmental Sciences., 19, 285-293.
- Aksu, Z., Dönmez, G., 2000, The Use of Molasses in Copper (II) Containing Wastewaters Effects On Growth and Copper (II) Bioaccumulation Properties of *Kluyveromyces marxianus*, Process Of Biochemistry, 451-458.
- Aksu, Z., 2001, Equilibrium and Kinetic Modeling of Cadmium (II) Biosorption by *C. Vulgaris* İn a Batch Systems, Effect of Temperature, Separation Purification Technol., 21, 285-294.
- Beyazıt, N. , Peker, İ. , 1998, Atık Sularda Ağır Metal Kirliliği ve Giderim Yöntemleri, I. Atık Su Sempozyumu, Kayseri, 209-215.
- Bitton, G., 1994, Wastewater Microbiology, Department of Environmental Engineering Sciences University of Florida, Gainesville., 31-34, 44-49, 301-303, 333-335.
- Cooney, E., vd., 1992, Toxicity Reduction Evaluation and Control, Water Quality Management Library., 3, 237, USA.
- Denizli, H. , Salih, B. , 1995, Çevre Sularında Ağır Metal Kirliliğinin Giderilmesi, Standart, Çevre Özel Sayısı, 108-110.
- Dönmez, G., Aksu, Z., 2000, Bioaccumulation of Copper (II) and Nickel (II) By The Non-Adapted And Adapted Growing *Candida Sp.*, Wat. Res., 35, 1425-1434.
- Dunn, G. M., Bull, A. T., 1983, Bioaccumulation of Copper By a Defined Community of Activated Sludge Bacteria, European J. Appl. Mikrobial. Biotechnol. , 17, 30-34.
- Eckenfelder, W. W., 1989, Industrial Water Pollution Control, Mc Graw Hill Inc, Singapore.
- Eccles, H., Hunt, S., 1986, Immobilization of Ions by Biosorption, Ellis Horwood, Chichester, U.K.
- Förstner, U., Wittman, G. T. W., 1983, Metal Pollution in Aquatic Environment, 2nd. Ed, Springer Verlag, Berlin.

- Gül, R., 1992, “ Atık Sulardaki Ağır Metallerin Killi Topraklarla Giderilmesi “. Ekoloji-Çevre Dergisi., 4, 20-22.
- Gündüz, T., 1994, “ Çevre Sorunları “ . A. Ü Fen Fakültesi Kimya Bölümü, Ankara.
- Grady, C. P. L., Daigger, G. T and Lim, H. C., 1999, Biological Wastewater Treatment, Marcel Dekker Inc., New York.
- Hammer, M. J., 1986, Water and Wastewater Technology, Joon Willey Soons, N. Y. USA.
- Horan, N. J., 1990, Biological Wastewater Treatment Systems Theory and Operation, John Wiley and Sons Ltd.
- Hussein, H., Farag, S., Kandil, K., Moawad, H., 2004, Tolerance and Uptake of Heavy Metals by *Pseudomonas*, Process Biochemistry., 40, 955-961.
- İleri, R., 1992, An Experimental and Theoretical Study Of The Biosorption Of Copper İyons By Immobilised Dead *Rhizopus Arrhizus*, Ph. D. Thesis, University of Manchester Institute of Science and Technology, Manchester, England.
- İleri, R., Sümer, B., Şengörür, B. , 1993, Biyosorpsiyon Kinetiği ve İzotermlerinin Araştırılması, Ekoloji-Çevre Dergisi, 7, 39-45.
- İleri, R., Sümer, B., Şengörür, B., 1994, Atık Sulardaki Bakır (II) İyonlarının Biyosorpsiyon İle Uzaklaştırılması, Ekoloji-Çevre Dergisi, 11, 16-21.
- İleri, R., 2000, Çevre Biyoteknolojisi, Sakarya Üniversitesi.
- Jawetz., vd., 1989, Medical Microbiology, Eighteenth Edition, USA.
- Kadukova, J., Vircikova, E., 2004, Comparison of Differences Between Copper Bioaccumulation and Biosorption, Environment International., 31, 227-232.
- Kargı, F., 1993, Çevre Mühendisliğinde Biyoprosesler, Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Yayınları, No:234, İzmir.
- Karpuzcu, M., 1991, Çevre Kirlenmesi ve Kontrolü, İTÜ Yayınları, İstanbul.
- Kılıçarslan, S., Nurbaş, M., Kutsal, T., 1996, Ağır Metal İyonlarını İçeren Besin Ortamında Üreyen Mikoorganizmalarla Kesikli Sistemde Cr^{+6} , Cu^{+2} ve Pb^{+2} İyonlarının Biyosorpsiyonu, II. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, İTÜ, İstanbul.
- Kirk-Othmer., 1971, Encyclopedia of Chemical Technology, 2th Edition, Interscience Publishers, John Wiley, New York., 3, 884-899, 6, 131-137, 19, 203-207.
- Kuhn, S. P., Pfister, R. M., 1990, Accumulation of Cadmium by Immobilized *Zooglea ramigera*, 115. J. Ind. Microbial., 6, 123-128.
- Mc Cabe, W. L., Smith, J. C., Harriott, P., 1985, Unit Operations of Chemical Engineering, Mc Graw- Hill, Tokyo.
- Mulchandani, A., Luong, J. H. T., 1989, Microbial Inhibition Kinetics revisited, Enzyme Microb. Technol., 11.

- Muslu, Y., 1985, Su Temini ve Çevre Sağlığı, İTÜ., 3, İstanbul.
- Norberg, A., Persson, H., 1984, Accumulation of Heavy Metals Ions by *Zooglea ramigera*, Biotechnol., and Bioengineering, 26, 239-246.
- Norberg, A., Rydin, S., 1984, Development of a Continous Process for Metal Acumulation by *Zooglea ramigera*, Biotechnol. and Bioengineering, 26, 265-268.
- Öner, M., 1992, Çevre Mikrobiyolojisi, Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi Kitapları Serisi, No: 94, İzmir.
- Özçelik, S., 1996, Genel Mikrobiyoloji, Süleyman Demirel Üniv. Ziraat Fak, Isparta.
- Özen, C., Sağ, Y., Kutsal, T., Çağlar, A., 1996, Sürekli Karıştırmalı Tank Reaktörlerde Krom (VI) İyonunun *Saccharomyces Cerevisiae* ile Gideriminin İncelenmesi.
- Özer, A., Özer, D., Aksu, Z., Kutsal, T., Çağlar, A., 1995, Kademeli Kesikli Proseslerde Bakır (II) İyonlarının *C. Crispata* 'ya Adsorpsiyonu, Tr.J. of Engineering and Environmental Sciences, Vol: 19.
- Özer, A., 1994, Atık Sulardaki Ağır Metal İyonlarının *Rhizopus arrhizus* ve *Schizomeris leibleinir kütz* ' e Adsorpsiyonunun Farklı Reaktör Tiplerinde İncelenmesi, Fırat Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı Yayınlanmamış Doktora Tezi, Elazığ.
- Öztürk, İ., 1999, Anaerobik Biyoteknoloji ve Atık Arıtımındaki Uygulamaları, Su Vakfı Yayınları, İstanbul.
- Pekin, B., 1982, Biyoteknoloji, Ege Üni. Kimya Fakültesi Yayınları, İzmir.
- Pekin, B., 1983, Biyokimya Mühendisliği, 2. cilt, Ege Üni. Kimya Fakültesi Yayınları., 4, İzmir.
- Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein D., 2002, Microbiology, Mc Graw- Hill Higher Education., 6 th Edition.
- Sitting, M., 1973, Pollutant Removal Handbook, Noyes Data Corporation Park Ridge, New Jersey, London-England.
- Srinath, T., Verma, T., Ramteke, P. W., Garg, S. K., 2001, Chromium (VI) Biosorption and Bioaccumulation by Chromate Resistant Bacteria, Chemosphere., 48, 427-435.
- Stoll, A., Duncan, J. R., 1996, Enhanced Heavy Metal Removal From Wastewater by Viable, Glucose Pretreated *Saccharomyces cerevisiae* Cells, Biotechnol. Lett., 18, 1209-1212.
- Tulgar, H. E., 1974, Demirden Gayri Metaller Metalürjisi, Kısım II, Teknik Üniversitesi Matbaası, İstanbul.
- Unat, K. E., 1993, Temel Mikrobiyoloji, İstanbul Üni. Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayınları, İstanbul.
- Uslu, O., 1991, Türkiye' nin Çevre Sorunları Vakfı Yayınları, Ankara, 144-146.

- Uslu, G., Ekiz, H. İ., Özer, A., Özer, D., 1996, *Rhizopus Arrhizus* 'un Üreme Hızı Üzerine Kurşun (II) ve Kadmiyum (VI) 'ın Birlikte Etkisi, II. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, İTÜ, İstanbul.
- Uslu, G., 1999, Kadmiyum (II), Kurşun (II) ve Bakır (II) İyonlarının *R. arrhizus*' un Üreme Kinetiğine Etkisi ve Adsorpsiyonu, Fırat Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı Doktora Tezi, Elazığ.
- Ün, R., 1968, Metal Kimyası Dersleri, İstanbul Üniversitesi Yayınları, Şirketi Mürettebiye Basımevi, İstanbul., No: 1335.
- Volesky, B., 1986, Biosorbent Materials, Biotechnology and Bioengineering., 34, 180-188.
- Volesky, B., 2001, Detoxification of Metal-Bearing Effluentts; Biosorption for the Next Century, Hydrometallurgy., 59, 203-216.
- Wang, P. K., Kwok, S. C., 1992, Accumulation of Nicel Ion (Ni^{+2}) by Immobilised Cells of Enterobacter Species, Biotechnology Letters., 14, 7, 629-634.
- Wang, Y., Shen, H., 1996, Modelling Cr (VI) Reduction By Pure Bacterial Cultures, Wat. Res., 31, 727-732, USA.

ÖZGEÇMİŞ

25. 12. 1980 yılında Elazığ’ da doğan Gülten GÜLTEKİN, ilk, orta ve lise eğitimini Elazığ’ da tamamlamıştır. Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Çevre Mühendisliği Bölümünden 2002- 2003 öğretim yılında mezun olduktan sonra aynı yıl Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başlamış ve hala yüksek lisans öğrenimine devam etmektedir.



EKLER

EK- 1

***P. putida* Konsantrasyonunun Belirlenmesi**

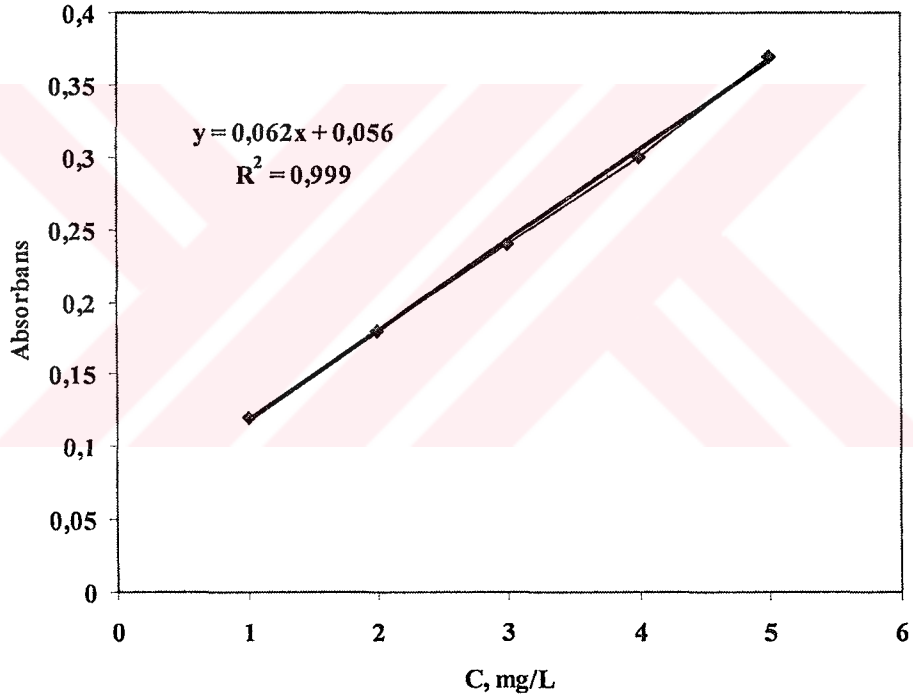
Verilerin değerlendirilmesinde kuru mikroorganizma ağırlıkları esas alınmıştır. Laboratuarda ürettiğimiz *P. putida*, darası alınmış alüminyum folyo üzerinde 60° C’ deki etüvde 16 saat süre ile kurutulduktan sonra tekrar tartılarak kuru ağırlıkları tayin edilmiştir.



EK- 2

Kadmiyum (II) ve Bakır (II) İyon Konsantrasyonlarının Tayini

Atomik absorpsiyon spektrofotometresinde kadmiyum ve bakır analizi için, 1 g/L'lik stok çözeltilerden seyreltilerek çeşitli konsantrasyonlarda standart çözeltiler hazırlanır. Hazırlanan bu çözeltilerin absorbans değerleri okunarak, her bir metal iyonu için aletin lineer çalışma doğrusu elde edilir. Bu çalışma doğrularından ortamdaki metal iyon konsantrasyonları mg/L olarak bulunur. Her yapılan analiz grubu için çalışma doğrusu yeniden çıkarılır. Şekil 2. 1' de kadmiyum (II) iyonları için atomik absorpsiyon spektrofotometresinin lineer çalışma doğrusu verilmiştir.



Şekil E. 2. Kadmiyum (II) İyon Konsantrasyonu Tayini İçin Kullanılan Çalışma Doğrusu

EK- 3

P. putida'nın Özgöl Üreme Hızının Bulunması

Özgöl üreme hızlarını hesaplamak için üreme ortamındaki mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişiminin incelenmesi gerekmektedir. Monod eşitliğinden,

Mikroorganizma konsantrasyonunun (X) zamanla değişimi;

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \text{ 'dir.}$$

Buradan;

$$\frac{dx}{x} = \mu dt$$

Bu eşitliğin integrasyonundan;

$$\ln \frac{x}{x_0} = \mu dt$$

$$\mu = \frac{\ln x_2 - \ln x_1}{t_2 - t_1}$$

elde edilir. Bu eşitlikten özgöl üreme hızı hesaplanır.

EK- 4

Üreme Tamamlandıktan Sonra Besiyerinde Adsorplanmadan Kalan Metal Miktarının Belirlenmesi

Farklı başlangıç metal iyon konsantrasyonlarında; *P. putida* üremesi tamamlandıktan sonra üreme ortamında kalan metal iyon konsantrasyonlarının tayininde atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılmıştır.

Üreme tamamlandıktan sonra sıvı kısımdan ayrılan katı, mikroorganizma konsantrasyonunun tayini için işleme tabii tutulurken, sıvı kısımdan alınan örnekler, atomik absorpsiyon spektrofotometresinde absorbans değerleri okunarak, her bir metal iyonu için Ek- 2 ' de verilen lineer çalışma doğrusundan yararlanılarak ortamdaki metal iyon konsantrasyonları mg/L olarak bulunmuştur. Örnek olarak kadmiyum (II) iyonlarını farklı konsantrasyonlarda içeren üreme ortamında, üreme tamamlandıktan sonra adsorplanmadan kalan metal miktarının hesaplanmasını verecek olursak;

İlk olarak aletin lineer çalışma doğrusunu elde etmek için hazırladığımız standart çözeltiler ve absorbans değerlerini bilmemiz gerekmektedir.

Konsantrasyon, mg/L	Absorbans
1,0	0,12
2,0	0,18
3,0	0,24
4,0	0,3
5,0	0,37

İkinci adımda ise, kendi örneklerimizdeki metal konsantrasyonlarını lineer bölgeye düşecek şekilde gerekirse seyreltme yaparak, alette absorbans olarak okuduk. Okuma işlemini bitirdikten sonra lineer çalışma doğrusundan elde ettiğimiz eşitlikten yararlanarak metal konsantrasyonların mg/L olarak hesapladık.

Başlangıç Konsantrasyonu, Absorbans	Başlangıç Konsantrasyonu, mg/L	Örneğin Absorbans Değeri	Adsorblanmadan Kalan Metal İyon Konsant., mg/L
0	0	0	0
0,12	1	6,05	5,376
0,18	5	7,15	4,0
0,21	10 (1/4)	12,5	8,254
0,37	25 (1/5)	30,87	23,248

Elde edilen sonuçlar seyreltme oranı ile çarpılmıştır.



EK- 5

Akümüle Edilen Metal Miktarının Hesaplanması

Üreme tamamlanıp Ek- 4' deki işlemler yapıldıktan sonra başlangıç metal iyon konsantrasyonundan, ortamda kalan metal iyon konsantrasyonu çıkarıldığı zaman, mikroorganizma tarafından adsorplanan metal miktarı hesaplanır. Ek- 4' de verilen değerleri kullanarak adsorplanan metal miktarını hesaplırsak;

$$C_o = 7,15 \text{ mg/L}; C = 4,0 \text{ mg/L}$$

Buradan;

$$C_{akü} = C_o - C = 7,15 - 4,0 = 3,15$$

$C_{akü} = 3,15 \text{ mg/L}$ olarak hesaplanmıştır.

EK- 6

Kuru Ağırlık Başına Düşen Metal Birikim Ve Yüzde Birikim Değerlerinin Hesaplanması

Üreme tamamlandıktan sonra sıvı kısmından ayrılan katı, mikroorganizma konsantrasyonunun tayini için 24 saat 60⁰ C ‘ deki etüvde kurutulmuş ve daha sonra tartılmıştır. Adsorplanan metal konsantrasyonunun elde edilen maksimum kuru mikroorganizma ağırlığına (X_m) bölünmesiyle kuru ağırlık başına düşen metal birikim değerleri hesaplanmıştır. Kadmiyum (II) iyonu için kuru ağırlık başına düşen metal birikim değerini hesaplırsak;

$$C_{akt} = 3,15 \text{ mg/L}$$

$$X_m = 0,35 \text{ mg/L}$$

$$\text{Kuru ağırlık başına düşen metal birikim } (q_m) = \frac{3,15}{0,35}$$

$$q_m = 9,0 \text{ mg/g}$$

Yüzde birikim değeri ise;

$$\% \text{ Birikim} = \frac{C_o - C}{C_o} \times 100 \text{ bağıntısı ile hesaplanır. Aynı örnek için;}$$

$$C_o = 7,15 \text{ mg/L; } C = 4,0 \text{ mg/L}$$

$$\% \text{ Birikim} = \frac{7,15 - 4,0}{7,15} \times 100 = 44,05$$