T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATIKSULARDAN CANLI MİKROORGANİZMALAR YARDIMIYLA AĞIR METAL BİYOREMEDİASYONU

Yaşar Emre TOPALOĞLU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Çevre Mühendisliği Programı

Danışman

Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU

Ocak, 2023

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ATIKSULARDAN CANLI MİKROORGANİZMALAR YARDIMIYLA AĞIR METAL BİYOREMEDİASYONU

Yaşar Emre TOPALOĞLU tarafından hazırlanan tez çalışması 12/01/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Fatma İlter TÜRKDOĞAN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi _____

Prof. Dr. Mustafa Sait YAZGAN, Üye
İstanbul Teknik Üniversitesi _____

Danışmanım Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU sorumluluğunda tarafımca hazırlanan Atıksulardan Canlı Mikroorganizmalar Yardımıyla Ağır Metal Biyoremediasyonu başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Yaşar Emre TOPALOĞLU

İmza

TEŞEKKÜR

Tezimin konusunun belirlenmesinden itibaren tüm adımlarımda bana yol gösteren, bilgi ve birikimlerini benden esirgemeyen, danışmanım Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU'na sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu araştırmada Atomik absorbsiyon spektrometresi ile yapılan demir ve bakır analizleri YTÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Öğretim üyelerinden Prof. Dr. Sezgin BAKIRDERE ve araştırma grubu tarafından yapılmış olup kendilerine teşekkür etmeyi bir borç biliriz. Aynı şekilde araştırmamızdaki FTIR analizleri aynı Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Lokman TORUN ve araştırma grubu tarafından yapılmış olup kendilerine teşekkür etmeyi bir borç biliriz.

Çalışmalarımın her aşamasında yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren arkadaşım, Fevzi ACAR'a en içten saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bugünlere gelebilmem için çaba gösteren, katkılarını esirgemeyen, en yoğun zamanlarımda beni motive eden, her konuda desteklerini yanımda hissettiğim aileme teşekkür ederim.

Yaşar Emre TOPALOĞLU

İÇİNDEKİLER

SİMGE LİSTESİ vi
KISALTMA LİSTESİ viii
ŞEKİL LİSTESİ ix
TABLO LİSTESİ xiii
ÖZET xv
ABSTRACT xvii
1 GİRİŞ 1
1.1 Literatür Özeti ... 1
1.2 Tezin Amacı ... 6
1.3 Hipotez ... 7
2 KURUMSAL TEMELLER 8
2.1 Suyun Yapısı ... 8
2.2 Ağır Metal Kirliliği ve Giderim Yöntemleri ... 10
2.3 Ağır Metallerin Biyoremediasyonunda Mikroorganizma Türlerinin Kullanımı 28
2.4 Ağır Metal Biyoremediasyonunda Mantarların Kullanımı ... 36
3 MATERYAL-METOT 39
3.1 Besiyeri ve Besiyeri Hazırlama ... 39
3.2 Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi ... 43
3.3 Deneysel Çalışma Düzeneği ... 45
3.4 Metot ... 50
4 BULGULAR 54
4.1 Mikroorganizma Tür Teşhisi ... 54
4.2 Ağır Metal Konsantrasyonunun Biyoremediasyona Etkisi ... 55
4.3 pH Değişiminin Biyoremediasyon Üzerindeki Etkileri ... 70
4.4 Besiyeri Konsantrasyonunun Biyoremediasyona Etkisi ... 84
4.5 Biyoremediasyon Mekanizmasının Aydınlatılması: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Analiz Sonuçları ... 97
5 SONUÇ VE ÖNERİLER 112
5.1 Genel Değerlendirme ... 112
KAYNAKÇA 117
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR 133

SİMGE LİSTESİ

%	Yüzde
Al	Alüminyum
$Al_2(SO_4)_3. 18H_2O$	Alüminyum Sülfat
Am	Amerikyum
Au	Altın
Cd	Kadmiyum
$CdCl_2$	Kadmiyum Klorür
Co	Kobalt
CO_2	Karbondioksit
Cr	Krom
Cu	Bakır
$CuSO_4$	Bakır Sülfat
$CuSO_4. 5H_2O$	Bakır (II) Sülfat
Eu	Evropiyum
Fe	Demir
$FeSO_4 \cdot 4H_2O$	Demir (II) Sülfat
g	Gram
HCl	Hidroklorik Asit
Hg	Civa
kg	Kilogram
kPa	Kilopascal
L	Litre
m	Metre
m^3	Metreküp
mg	Miligram
ml	Mililitre

Mn	Manganez
Mo	Molibden
NaOH	Sodyum hidroksit
NH_3-N	Amonyak
Ni	Nikel
nm	Nanometre
^oC	Santigrat
Pb	Kurşun
$Pb(CH_3COO)_2$	Kurşun (II) Asetat
ppm	parts per million
Ra	Radyum
Th	Toryum
U	Uranyum
V	Vanadyum
W	Tungsten
Zn	Çinko
$ZnSO_4$	Çinko Sülfat

KISALTMA LİSTESİ

AAS	Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi
BOİ	Biyolojik Oksijen İhtiyacı
BTEX	Benzen, Toluen, Etilbenzen, Ksilen
DBRC	Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar
ECHO	Yüksek Tuzluluk ve Ekstra Ağır Ham Petrol
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
MEA	Malt Extract Agar
PAH	Polisiklik Aromatik Hidrokarbonlar
pH	Potansiyel Hidrojen
RO	Ters Ozmoz
rpm	Dakika Salınım Sayısı
UF	Ultrafiltrasyon
UV	Ultraviyole
YTÜ	Yıldız Teknik Üniversitesi

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 3.1 Numunenin alındığı taşlar 45

Şekil 3.2 Alınan numune örneği 46

Şekil 3.3 Tartılan katı besiyerleri.....46

Şekil 3.4 Ekim için hazır hale gelmiş katı besiyerleri 47

Şekil 3.5 Üreme gerçekleşmiş katı besiyeri.....48

Şekil 3.6 Saflaştırma sonrası katı besiyerleri.....48

Şekil 3.7 Çözelti eklenmiş şekilde sıvı besiyerleri 50

Şekil 3.8 Optimum sıcaklıkta ve karıştırma hızında biyoremediasyon 51

Şekil 3.9 Üreme gerçekleşmiş sıvı besiyerleri.....52

Şekil 3.10 Kuru mantar kütlesi 52

Şekil 3.11 Demir için kalibrasyon eğrisi 53

Şekil 3.12 Bakır için kalibrasyon eğrisi.....53

Şekil 4.1 Üreme gerçekleşmiş katı besiyeri.....54

Şekil 4.2 Üreme gerçekleşmiş katı besiyeri.....54

Şekil 4.3 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30) 56

Şekil 4.4 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30)…….....57

Şekil 4.5 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30) 59

Şekil 4.6 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30) 60

Şekil 4.7 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30) 61

Şekil 4.8 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30) 62

Şekil 4.9 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30) 63

Şekil 4.10 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30) 64

Şekil 4.11 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30) 65

Şekil 4.12 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30) 66

Şekil 4.13 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30) 67

Şekil 4.14 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30) 68

Şekil 4.15 *P. jensenii* ile alüminyumun zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 3,60) 69

Şekil 4.16 *P. jensenii* ile alüminyumun zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 3,60) 70

Şekil 4.17 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6) 73

Şekil 4.18 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7-8-9-10) 73

Şekil 4.19 *P. jensenii*'nin başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10) 74

Şekil 4.20 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7) 77

Şekil 4.21 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 8-9-10-11) 77

Şekil 4.22 *P. frequentans*'ın başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10-11) 78

Şekil 4.23 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6) 80

Şekil 4.24 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7-8-9-10) 81

Şekil 4.25 *P. jensenii*'nin başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10) 81

Şekil 4.26 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6) 83

Şekil 4.27 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7-8-9-10).....84

Şekil 4.28 *P. frequentans*'ın başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10) 84

Şekil 4.29 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,98).....85

Şekil 4.30 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6,10).....86

Şekil 4.31 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6) 87

Şekil 4.32 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7) 88

Şekil 4.33 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,98).....89

Şekil 4.34 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6,10).....90

Şekil 4.35 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5) 91

Şekil 4.36 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 8) 92

Şekil 4.37 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,16).....93

Şekil 4.38 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6).....94

Şekil 4.39 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,16).....95

Şekil 4.40 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5).....96

Şekil 4.41 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6).....97

Şekil 4.42 *P. jensenii* mantarı ile demir giderim analiz spektrumları.....98

Şekil 4.43 *P. frequentans* mantarı ile demir giderim analiz spektrumları 100

Şekil 4.44 *P. jensenii* mantarı ile bakır giderim analiz spektrumları.....101

Şekil 4.45 *P. frequentans* mantarı ile bakır giderim analiz spektrumları 103

Şekil 4.46 *P. jensenii* mantarı ile alüminyum giderim analiz spektrumları.....105

Şekil 4.47 *P. frequentans* mantarı ile alüminyum giderim analiz spektrumları 107

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.1 Bazı mikroorganizma türlerinin ağır metalleri giderim potansiyeli 5
Tablo 2.1 Atıksulara metal bırakan temel endüstriyel sektörler 11
Tablo 2.2 Endüstrilere göre ağır metal içerikleri 13
Tablo 2.3 Biyoremediasyonu etkileyen faktörler 19
Tablo 2.4 Biyoremediasyonda mikroorganizmaların süreçleri ve mekanizmaları 33
Tablo 2.5 Biyosorpsiyon ve biyobirikim süreçlerinin karşılaştırılması.....34
Tablo 4.1 *P. jensenii* ile 50 mg/L demirin biyoremediasyonu.....56
Tablo 4.2 *P. jensenii* ile 100 mg/L demirin biyoremediasyon denemeleri.....57
Tablo 4.3 *P. jensenii* ile 200 mg/L demirin biyoremediasyon denemeleri.....58
Tablo 4.4 *P. frequentans* ile 50 mg/L demirin biyoremediasyonu 60
Tablo 4.5 *P. frequentans* ile 100 mg/L demirin biyoremediasyon denemeleri 61
Tablo 4.6 *P. Frequentans* ile 200 mg/L demirin biyoremediasyonu.....62
Tablo 4.7 *P. jensenii* ile 50 mg/L bakırın biyoremediasyonu.....63
Tablo 4.8 *P. jensenii* ile 100 mg/L bakırın biyoremediasyonu.....64
Tablo 4.9 *P. Jensenii* ile 200 mg/L bakırın biyoremediasyonu 65
Tablo 4.10 *P. frequentans* ile 50 mg/L bakırın biyoremediasyonu 66
Tablo 4.11 *P. frequentans* ile 100 mg/L bakırın biyoremediasyonu 67
Tablo 4.12 *P. frequentans* ile 200 mg/L bakırın biyoremediasyonu 68
Tablo 4.13 *P. jensenii* ile 100 mg/L alüminyumun biyoremediasyonu.....69
Tablo 4.14 *P. jensenii* ile 200 mg/L alüminyumun biyoremediasyonu.....70
Tablo 4.15 Başlangıç pH'ının *P. Jensenii* ile demirin biyoremediasyonuna etkisi 72
Tablo 4.16 Başlangıç pH'ının *P. frequentans* ile demirin biyoremediasyonuna etkisi 76
Tablo 4.17 Başlangıç pH'ının *P. jensenii* ile bakırın biyoremediasyonuna etkisi.....80
Tablo 4.18 Başlangıç pH'ının *P. frequentans* ile bakırın biyoremediasyonuna etkisi 83
Tablo 4.19 Besiyeri azalışına göre (1/2) *P. Jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi.85
Tablo 4.20 Besiyeri azalışına göre (1/4) *P. jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi .86
Tablo 4.21 Besiyeri azalışına ve pH: 6'ya göre *P. jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi 87
Tablo 4.22 Besiyeri azalışına ve pH: 7'ye göre *P. jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi 88
Tablo 4.23 Besiyeri azalışına göre (1/2) *P. frequentans*'ın demir biyoremediasyonuna etkisi 89

Tablo 4.24 Besiyeri azalışına göre (1/4) *P. frequentans*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi. 90

Tablo 4.25 Besiyeri azalışına ve pH:5'e göre *P. frequentans*'ın demir biyoremediasyonuna etkisi 91

Tablo 4.26 Besiyeri azalışına ve pH:8'e göre *P. frequentans*'ın demir biyoremediasyonuna etkisi 92

Tablo 4.27 Besiyeri azalışına göre *P. jensenii*'nin bakır biyoremediasyonuna etkisi 93

Tablo 4.28 Besiyeri azalışına ve pH:6'ya göre *P. jensenii*'nin bakır biyoremediasyonuna etkisi 94

Tablo 4.29 Besiyeri azalışına göre *P. frequentans*'ın bakır biyoremediasyonuna etkisi.....95

Tablo 4.30 Besiyeri azalışına ve pH:5'e göre *P. frequentans*'ın bakır biyoremediasyonuna etkisi.. 96

Tablo 4.31 Besiyeri azalışına ve pH:6'ya göre *P. frequentans*'ın bakır biyoremediasyonuna etkisi 96

Tablo 4.32 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları 98

Tablo 4.33 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları 100

Tablo 4.34 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları 102

Tablo 4.35 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları 104

Tablo 4.36 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları 105

Tablo 4.37 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları 107

Tablo 4.38 Aktif grupların reaksiyona girdiği muhtemel organik moleküller.....108

ÖZET

Atıksulardan Canlı Mikroorganizmalar Yardımıyla Ağır Metal Biyoremediasyonu

Yaşar Emre TOPALOĞLU

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU

Bu çalışmada kirletilmiş sularda bulunan ağır metallerin canlı mikroorganizmalar aracılığıyla biyoremediasyonu araştırılmıştır. Bu amaçla ekstrem şartlarda yaşayan ve hızlı gelişen mikroorganizma türlerinin kullanılmasının atık sularda bulunan ağır metalleri arıtmada etkili olacağı düşünülmüştür. Yıldız Teknik Üniversitesi'nde bulunan tarihi eserlerin taş yüzeyinden alınan örneklerde 20 civarında bakteri ve mantar türü gözlemlenmiş ve yapılan bu araştırmada çok hızlı gelişme gösteren *Penicillium jensenii* ve *Penicillium frequentans* mantar türleri ile biyoremediasyon çalışmaları yapılmıştır. *Penicillium jensenii* ve *Penicillium frequentans*, taşın mineralojik yapısındaki demir, mangan, potasyum gibi elementleri enzimatik reaksiyon ile yapısına katarak yaşamlarını sürdürürler. Araştırmada mantar türlerinin biyoremediasyon yöntemi ile ağır metallerin adsorbsiyon, mikrobiyal özütleme ve mineralizasyon aşamalarıyla arıtımını göstermek amaçlanmıştır. Yapılan ön denemelerde demir(II) sülfat, alüminyum sülfat, bakır(II) sülfat bileşiklerindeki ağır metallerin sabit konsantrasyonlarda, farklı pH'lara ve besiyeri konsantrasyonlarındaki değişimlere göre arıtılması ve biyoremediasyonu çalışılmıştır. Yapılan analizler sonucunda demir(II) sülfat, alüminyum sülfat, bakır(II) sülfat bileşiklerindeki ağır metallerin giderim verimi %60-95 arasında bulunmuştur. Bunun yanı sıra mantarın en çok demir (II) sülfat çözeltisi içerisinde büyüme gösterdiği bakır elementinin ise kullanılan mantar için uygun bir ağır metal olmadığı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Biyoremediasyon, bakır, demir, alüminyum, *P. jensenii*, *P. frequentans*

ABSTRACT

Bioremediation of Heavy Metals via Living Microorganisms from Synthetic Wastewater

Yaşar Emre TOPALOĞLU

Department of Environmental Engineering

Master of Science Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Yaşar NUHOĞLU

In this study, the bioremediation of heavy metals in polluted waters by living microorganisms was investigated. For this purpose, it is thought that the use of microorganism species that live in extreme conditions and grow rapidly will be effective in the purification of heavy metals in wastewater. Around 20 bacterial and fungal species were observed in the samples taken from the stone surface of historical artifacts at Yıldız Technical University, and bioremediation studies were carried out with Penicillium jensenii and Penicillium frequentans fungi species, which show very rapid development in this research. Penicillium jensenii and Penicillium frequentans sustain their lives by adding elements such as iron, manganese and potassium in the mineralogical structure of the stone to their structure by enzymatic reaction. In the research, it was aimed to show the purification of heavy metals by the bioremediation method of fungal species by adsorption, microbial extraction and mineralization stages. In the preliminary experiments, purification and bioremediation of heavy metals in iron(II) sulfate, aluminum sulfate, copper(II) sulfate compounds at constant concentrations, at different pHs and changes in medium concentrations were studied. As a result of the analysis, the removal efficiency of heavy metals in iron(II) sulfate, aluminum sulfate, copper(II) sulfate compounds is in the range of 60-95%. In addition,

it was observed that the copper element, in which the fungus grows most in iron (II) sulfate solution, is not a suitable heavy metal for the fungus used.

Keywords: Bioremediation, copper, iron, aluminum, *P. jensenii*, *P. frequentans*

1
GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

Sanayileşme uzun zamandan beri medeniyetin en önemli atılımı olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, endüstriyel gelişmelerin çevreyi olumsuz yönde etkilediği gerçeği devam etmektedir. Teknolojik gelişmeleri yakalayamayan ülkelerin atıksu veya içme suyu arıtma tesisleri, ağır metalleri giderecek donanıma sahip değildir ve sonuç olarak insanları tükettikleri sudaki kirletici maddelere maruz bırakırlar. Ağır metal kirliliğinin ana kaynakları, Cd, Al, Cu, Ni, Fe, Co, Zn ve Pb gibi çeşitli toksik metalleri çevreye deşarj eden madencilik ve ağır sanayidir. Son yıllarda, bu ağır metallerin yüzey ve yeraltı sularındaki konsantrasyonlarında artış gözlenmektedir. Bu sularla sulanan topraklarda yetişen tahıllarda ve sebzelerde tehlikeli toksik metal konsantrasyonlarının birikmesi, metallerin insan sağlığı üzerindeki zararlı etkilerinden dolayı endişe vericidir. Ağır metaller; sinirlere, karaciğere ve kemiklere zarar vermesi ve hayati enzimlerin fonksiyonel gruplarını bloke etmesi nedeniyle aşırı derecede toksik (zehirli) olarak kabul edilmektedir [1].

Ağır metallerin flora ve fauna üzerindeki zararlı etkisi son zamanlarda deneysel çalışmalar ile net bir şekilde ortaya konulmuştur. Bu kirletici maddeler doğal habitatta yaşayan canlılarda neden olduğu biyolojik birikim nedeniyle canlıların metabolizmaların etkiler ve doğal döngünün verimli çalışması için ek mücadele stratejileri gerektirirler. Ağır metaller aslında farklı endüstriyel uygulamalar için değerli bir ham madde olduğundan, geri kazanımları ve geri dönüşümleri daha da büyük önem kazanmaktadır. Ayrıca dünyadaki yeni çevresel düzenlemeler ve antlaşmalar, endüstrileri daha temiz üretim yöntemlerine geçmeye zorlayarak, metal açısından zengin atıklar için çevre dostu, düşük maliyetli ve verimli arıtma tekniklerinin geliştirilmesini talep etmektedir. Endüstriyel atık sulardan toksik ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılan yöntemler uzun zamandır uygulanıyor olmasına rağmen, proseslerin maliyet etkinliği sınırlıdır. Yüksek reaktif gereksinimi ve öngörülemeyen metal iyon giderimi, bu tür tekniklerin bazı dezavantajlarıdır. Ayrıca, desorpsiyon için kullanılan reaktifler güçlü olduğu için çevre kirliliğine ve toksik çamura neden

olmaktadır. Bu dezavantajlar, düşük metal ve organik madde konsantrasyonuna sahip atıksular nedeniyle daha belirgin hale gelebilir ve proses maliyetini daha da ağırlaştırabilir [1]–[3].

Bu gibi alanlarda biyoteknoloji ile ilgili çalışmalar başarılı olabilir ve yeni gelişmeler biyoteknolojik arıtımları kapsayacak şekilde tasarlanabilir. Mikroorganizmaların ağır metaller ile ilişkisi çok yönlü olup, hücre zarı içinde transferi, hücre duvarı ile biyosorpsiyon ve hücre dışı tabakalarda tutulma, çöktürme, oksidasyon-redüksiyon ve kompleks oluşturma gibi çeşitli fonksiyonları zamanla fark edilmiştir. Özellikle atık sudaki metal konsantrasyonları 1 ila 20 mg/l aralığında olduğunda, mikroorganizmalar sulu çözeltilerden ağır metallerin tamama yakınını alma kapasiteleri olduğu bilinmektedir. Atık sulardaki fizikokimyasal parametreleri yönetirken, yalnızca istenen ağır metalleri uzaklaştırma seçiciliği ve maliyet etkinliği, biyolojik olarak ağır metal arıtım tekniklerinin bazı ek avantajlarıdır. Bu faktörler, biyolojik olarak giderim yöntemleri hakkında kapsamlı araştırmaları teşvik etmiştir [1], [4]–[9].

Yapılan araştırmalarda kullanılan çeşitli biyolojik materyallerin metal bağlama kapasiteleri araştırılmıştır. Bunlar arasında deniz yosunları, bakteriler, mayalar, mantarlar, fermantasyon ve gıda endüstrisi atıkları, çeşitli mineralojik materyaller ve bitkisel atıklar bulunmaktadır. Ayrıca mikroorganizmaların çok çeşitli metal türlerini arıtma kapasiteleri araştırılmıştır. Son çalışmalarda düşük maliyetli, kolay ve çok miktarda bulunabilen, ölü veya canlı biyokütle içeren çalışmalar literatüre hâkim olmuştur. Çeşitli biyosorbentler (algler/mantarlar/mayalar) tarafından metal alım kapasitesi, denge konsantrasyonuna dayalı deneylerinden elde edilen izoterm eğrileri kullanılarak değerlendirilmiş ve pH, sıcaklık, biyokütle konsantrasyonu, metal konsantrasyonu, karıştırma hızı gibi çeşitli parametrelerin etkisi kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Ayrıca, seyreltik elüsyon kullanılarak arıtılan metallerin desorpsiyonu ve yenilenmiş biyokütlenin tekrar kullanımı da araştırılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda canlı mikroorganizmaların büyürken hücre bünyesine metal alma performansları incelenmiş ve sonuçlar son derece iyi bulunmuştur [1], [10]–[19].

Gadd ve Brierley, mikroorganizmaların toksik ağır metal iyonlarını alabilmeleri için pek çok yöntemi gözlemlemiş ve tanımını yapmışlardır. Mikroorganizmalar hücre içinde metal iyonlarını tutabilir veya hücre içine aldıktan sonra metabolizmasında kullanabilir veya dokularında depolayabilir. Bu arıtım metabolik döngüden farklı olarak ‘‘biyosorpsiyon’’ veya ‘‘pasif giderim’’ diye de bilinir. Mikroorganizmalar aynı

zamanda ağır metalleri metabolik döngü ile hücre zarından hücre içine alabilir. Bu metot "aktif alım" olarak adlandırılır. Aktif ve pasif alım metotları ile metal alımına ‘‘biyobirikim’’ diyebiliriz. Hem büyüyen hem de çoğalan hücreler yoluyla mikrobiyal metal giderimi konusunda yapılan çalışmaların büyük bir kısmı, metallerin iki fazlı emilimini, yani biyosorpsiyonun başlangıçtaki hızlı fazını, ardından metallerin daha yavaş, metabolizmaya bağlı aktif alımını tanımlar. Mikroalg kültürleri ile yapılan son çalışmalarda, hücre içinde Kadmiyum seviyelerinin genellikle doğal konsantrasyondan daha yüksek olduğunu göstermektedir. Çoğunlukla ölü veya ön işlem görmüş biyokütlelerin kullanıldığı araştırmalarda, metallerin hücre içine emilimi gerçekleşmez; bunun yerine hücrelerin yüzey tabakasında adsorbe olarak yakalanır. Bu nedenle ölü biyokütlelerle yapılan çalışmalarda biyobirikim kapasitesinin Biyoremediasyon çalışmalarına göre daha az olduğu bulunmuştur [1], [9], [20]–[24].

Çeşitli ölü veya işlem görmüş mikrobiyal biyokütle türleri için yüksek biyosorptif potansiyel bildirilmiş olsa da bunların pratikteki kullanım imkanları ekonomik olarak araştırılmaktadır. Laboratuvar ölçekli çalışmalarda metallerin biyosorpsiyonu gerçekleştirilirken sentetik çözeltilerden yararlanılarak çalışmalar yapılmaktadır ve gerçek endüstriyel atık su kullanılarak biyosorpsiyon potansiyeli test edildiğinde verimin çok düşük olduğu ortaya çıkmaktadır. Corder ve Reeves, siyanobakteri biyokütlesinin otoklavlamasıyla nikel biyosorpsiyon (deiyonize sudaki $NiCl_2$ çözeltisinden) kapasitesinde artış olduğunu bulmuştur. Bununla birlikte, kullandığı üç mikroorganizma türünden hiçbiri, yüksek konsantrasyonda sodyum iyonlarının varlığından dolayı kullandığı gerçek atık numunede nikeli verimli bir şekilde bağlayamadığını bulmuştur. Biyosorpsiyon çalışmalarında organik veya inorganiklerin bağlanma durumu, iyonik kuvvet ve pH gibi ortam şartlarına karşı duyarlıdır. Nikel gibi bazı metaller daha toksik kirletici olduğu için bu etkisinden dolayı mikroorganizmaların büyümesini engelleyerek nikel bağlama kapasiteleri düşürmüştür. Yapılan bu araştırmada ölü biyokütle ile saf nikel sorpsiyonu, 2–5 mg/l kirletici konsantrasyonunda biyokütledeki nikel sorpsiyonun %0,05 –0,3 olduğu bulunmuştur. Böyle bir durumda büyük hacimlerde çamur oluşmasına neden olmaktadır. Bu sebeple, elde edilen elüsyonlar metal konsantrasyonu bakımından düşüktür ve metallerin nihai geri kazanımında sorun teşkil eder. Desorpsiyon işleminden sonra zayıf kimyasalların kullanıldığı takdirde biyokütle yeniden kullanılabilir. Ayrıca, biyokütlenin maksimum 5 – 10 sorpsiyon – desorpsiyon döngüsünden sonra değiştirilmesi gerekir. Bu sebeplerden

ötürü, mikroorganizma biyokütlesi kullanarak metallerin biyosorpsiyon yöntemiyle uzaklaştırılmasına dayalı devamlı bir sistem geliştirmek şuan için ekonomik değildir [1], [18], [25]–[33].

Yukarıda açıklandığı gibi biyosorbentlerin rejenere edilmeden tek seferlik kullanımları ile ağır metal arıtımı etkin bir yöntem olmamaktadır. Böyle bir durumda biyoremediasyon yöntemi aktif ve büyüyen hücrelerin uygulanması, kendi kendini yenileme yetenekleri, fiziksel adsorpsiyondan sonra metallerin sürekli metabolik alımı ve dirençli türlerin gelişimi ve hücre yüzeyi modifikasyonu yoluyla optimizasyon potansiyeli nedeniyle daha iyi bir seçenek olabilir. Ayrıca, detoksifikasyon sırasında hücrelere yayılan metaller, kofullara ve diğer hücre içi bölgelere dahil edilmeden önce hücre içi proteinlere bağlanır ve bu işlemler genellikle geri döndürülemez ve çevreye daha az metal salınımı riski sağlanır. Bunun dışında, biyo-giderimde büyüyen kültürlerin kullanılması kullanımdan önce yetiştirme, hasat, kurutma, işleme ve depolama gibi ayrı bir biyokütle üretim prosesine olan ihtiyacı ortadan kaldırabilir. Geleneksel kemo-fiziksel ve biyosorpsiyon yöntemlerin aksine, aktif mikroorganizmaların kullanılması, endüstriyel atık sularda bulunan kirleticilerin çoğunun giderilmesi için tek aşamalı bir işlemin geliştirilmesine izin verebilir. Büyüyen hücreler, organometalik kompleksleri parçalamak, organik bileşikleri parçalamak ve ayrıca amonyum, nitrat ve fosfat gibi diğer inorganik iyonları almak için sınırlıda olsa hücre büyümesine bağlı olarak önemli kabul edilebilecek bir kapasiteye sahiptir [1], [34]–[36].

Bu sistemlerin pH, yüksek kirletici konsantrasyonu, toksisite ve harici metabolik enerji gereksinimi gibi canlı hücre gelişimine etki eden büyümeyi sınırlayıcı faktörlere karşı hassasiyeti vardır. Bu dezavantajlar mikroorganizma seçimi ve organik atıkların karbon substratları olarak kullanılması yoluyla nispeten karşılanabilir. Metallere dirençli mikroorganizma izolasyonu ve seçimi, canlı hücre sistemlerini kullanmanın temel kısıtlamasının üstesinden gelmek için çok önemli bir husus olacaktır. Bu araştırmada özellikle bu husus dikkate alınarak ekstrem koşullarda yaşayan mikroorganizmalar seçilerek bu dezavantaj ortadan kaldırılmaya çalışılmıştı. Bu gibi çalışmalarda dirençli mikroorganizmaların daha ekstrem koşullarda üreyerek büyük ölçüde daha fazla metal bağlaması beklenir. Bu yöntem gelişmiş biyolojik çökeltme/hücre içi birikim ve verimli bir sürecin gelişimi için önemli avantajlar sağlamaktadır. Tek bir türe bağlı kalmak yerine, yüksek metal biyosorpsiyon, biyobirikim ve biyoçökeltme kapasitelerine sahip

mikroorganizmalardan oluşan bir konsorsiyum oluşturmaya yönelik daha iyi bir yaklaşım olabilir. Çok türlü konsorsiyum, endüstriyel atık sularda sıklıkla karşılaşılan ani pH artışları veya yüksek metal konsantrasyonu gibi aşırı koşullara daha iyi davranabilir. Biyofilmlerin zengin ekzopolimer içeriği hem dağılmış katıların tutulması hem de çözünmüş metallerin biyosorpsiyonu için faydalı olmaktadır. Ayrıca, metal çökelmesi için çok faydalı olabilecek bir mikro ekosistem (alkali pH, yüksek CO_2 konsantrasyonları gibi) sağlarlar. Öncül türler arasındaki pozitif etkileşim, hassas mikroorganizmaların hayatta kalmasını da kolaylaştırabilir. Bu koşullara uygun yapılandırılmış biyoreaktörlerde uyum sağlamış mikroorganizmaların bulunması ortamdaki ağır metal kirliliğini azaltmada için etkin bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır [1], [37]–[39].

Biyoremediasyonla metal arıtımı konusunda birçok araştırma yapılmıştır. Bu yöntemle yapılan çalışmalarda toksik metal gideriminde aktif büyüyen hücrelerin çoklu biyobirikim-desorpsiyon döngülerinden sonra sabit bir uzaklaştırma kapasitesini koruyabilmesini sağlamak önemlidir. Nihai süreci teknik ve ekonomik olarak uygun hale getirmek için mikroorganizma izolasyonu, hücre geliştirme ve süreç geliştirme dahil olmak üzere çok uçlu bir yaklaşım gereklidir. Bu araştırmalarda kullanılan çeşitli hesaplama yöntemleri canlı hücrelerde birikmiş metallerin birikme ve lokalizasyon mekanizmalarının aydınlatılmasını sağlamaktadır. Bu konuda yapılan bazı araştırmalarda mikroorganizmaların ağır metalleri giderim potansiyeli Tablo 1.1' de verilmiştir [1], [40].

Tablo 1.1 Bazı mikroorganizma türlerinin ağır metalleri giderim potansiyeli

Mikroorganizma	Tür	Metal	Referans
Alg	*Ascophyllum nodosum*	Zn, Ni, Cd, Cu, Pb	[41], [42]
	Fucus vesiculosus	Cd, Pb, Cr	[41], [43], [44]
	Spirogyra spp. ve *Spirullina spp*	Cu, Cr, Fe, Zn, Mn	[45]
Bakteri	*Burkholderia species*	Pb,Cd	[46]

Tablo 1.1 Bazı mikroorganizma türlerinin ağır metalleri giderim potansiyeli (devamı)

	Pseudomonas veronii	Zn, Cu, Cd	[47]
Mantar	*Aspergillus versicolor*	Cr, Ni, Cu	[48]
	Aspergillus, Mucor, Penicillium ve *Rhizopus*	Cd, Cu, Fe	[49]
	Aspergillus niger, Aspergillus foetidus, ve *Penicillium simplicissimum*	Ni, Co, Mo, V, Mn, Fe, W, Zn	[50]
Maya	*Candida tropicalis*	Cd, Cr, Cu, Ni, Zn	[51]
	Saccharomyces cerevisiae	Cr, Ni, Cu, Zn	[52]

1.2 Tezin Amacı

Ağır metal kirliliği, metallerin toksik etkilerinden dolayı önemli bir çevre sorunu oluşturmakta ve bunların besin zinciri yoluyla canlı dokularda birikmesi ciddi ekolojik ve sağlık sorunlarına yol açmaktadır. Bilinen fiziko-kimyasal yöntemlerle atıksularda az miktarda bulunan metallerin giderimi şuandaki teknolojik imkanlarla mümkün görünmemektedir. Son yıllarda bu tür arıtımları kapsayacak şekilde tasarlanan biyoteknolojik yaklaşımlar büyük ilgi görmüştür. Düşük maliyetli ve genellikle ölü/ön işlemden geçirilmiş biyokütle içeren biyosorpsiyon çalışmaları literatüre hâkim olmuş ve ardından metal biyosorpsiyonun kinetiği ve dengesine odaklanan kapsamlı incelemeler de gündeme gelmiştir. YTÜ Davutpaşa kampüsündeki tarihi eserlerdeki taşların yüzeyinde yaşayan mikroorganizmaların, besi olanakları kıt (ekstrem koşullarda) taş yüzeyinde yaşarken taşların yapısındaki demir, mangan, alüminyum, potasyum gibi elementleri enzimatik kimyasal yollarla çözerek metabolizmalarında kullanıp yaşamlarını sürdüğü gözlemlenmiş ve metalleri metobolize etme yeteneği göz

önüne alınarak bu mikroorganizmaların atıksulardan ağır metal gideriminde yüksek verimle kullanılabileceği düşünülmüştür.

1.3 Hipotez

Bu çalışmada Yıldız Teknik Üniversitesi Davutpaşa kampüsündeki tarihi eserlerdeki taş yüzeyinde ekstrem şartlarda yaşamını sürdürürken taşlardaki metalleri çözerek canlı metabolizmasında kullanmak zorunda kalan mikroorganizmaların daha uygun ortamlardaki (sentetik) atıksularda bulunan metalleri arıtmada daha etkili olacağı düşüncesi ön plana çıkmıştır. Bu amaçla taş yüzeyindeki mikroorganizmalardan hızlı büyüyen mantar türleri saflaştırılmış ve hazırlanan sentetik atıksuların biyoremediasyonu gerçekleştirilmiştir. Çalışmada ileri sürülen hipotez şöyle ifade edilebilir: Davutpaşa kampüsündeki tarihi eserlerin taş yüzeyinde yaşayan mikroorganizmaların, besi olanakları çok kıt olan ekstrem koşullardaki taşların yapısındaki elementleri enzimatik kimyasal yollarla çözerek yaşamlarını sürdürebilmesi nedeniyle daha uygun koşullarda metal giderimini çok etkili bir şekilde yapabileceği öngörülmüştür.

Atıksulardan mikroorganizmalar yardımıyla arıtım işlemi için kullanılan terim biyosorpsiyon olmasına karşın biyosorpsiyon işleminde mikroorganizma gelişimini sürdürmemektedir. Biyoremediasyon çalışmalarında kullanılan mikroorganizma hem kendi gelişimini devam ettirmekte hem de gelişimini sürdürürken ortamdaki ağır metalleri beş ayrı mekanizma ile arıtmaktadır. Bunlar; adsorpsiyon, absorpsiyon, mineralizasyon, mikrobiyal özütleme ve tüm bu mekanizmaları kapsayan biyoremediasyondur. Bu beş mekanizma zaman zaman girişim olarak birbiri ile aynı maddeyi kullanabildiği için hangi yolun ağır metal veya kirletici arıtımında kantitatif olarak daha etkili olduğunu ortaya koymak zor ve çoğu zaman imkânsız hale gelmektedir.

2
KURUMSAL TEMELLER

2.1 Suyun Yapısı

Canlıların hayatlarını sürdürebilmeleri için en temel maddelerin başında su gelmektedir. Su olmadan yaşamın devam ettirilebilmesi mümkün değildir. İnsanların ihtiyacı olan su, kaynaktan insana ulaştırılır ve kullanılmış olan su uygun şekilde arıtımı yapıldıktan sonra deşarj noktalarına aktarılır. Su yapısal olarak renksiz ve kokusuzdur. İnsanların biyolojik, sosyal ve endüstriyel ihtiyaçları bakımından yüksek düzeyde önem arz etmektedir [53].

Su, iyonik bileşiklerin çoğu için iyi bir çözücüdür ayrıca hidrojen bağı oluşturan maddeleri de çözer. Suyun spesifik ısısı yüksek olduğundan sıcaklığı yükseltmek adına fazla sayıda hidrojen bağı kırılmalıdır. Bunun sonucu olarak su büyük bir miktarda ısı absorplayabilir. Sıvı fazın yoğunluğu katı fazın yoğunluğundan yüksektir. Bu özelliği diğer maddelere göre ayırt edici bir özelliktir [53].

2.1.1 Su Kirliliği

Suyun hali hazırda bulunan fiziksel, kimyasal ve biyolojik niteliklerinin her türlü kullanım biçimini kısıtlayacak veya engelleyecek düzeyde bozulması ya da herhangi bir sudaki var olan canlı yaşamın düzeninin bozulması durumuna su kirliliği denir. Temiz olmayan suyu, istenilen kullanıma elverişli olmayan su olarak tanımlamak da mümkündür. Saf su terimi her zaman kimyasal olarak suyun saflığını belirtmez. Sözü edilen suyun kullanılma gayesine uygunluğunu ifade eder. Su kirleticileri 6 ana başlık altında değerlendirilebilir [54].

- Organik Kirleticiler

Sularda serbest oksijeni kullanarak kirliliğe neden olan maddelerdir. Sudaki kirletici maddelerin önemli bir parçasını oluşturur. Bu maddelerin kaynakları; ev atıkları, hayvan atıkları, mezbaha atıkları, gıda fabrika atıklarıdır [55].

- Mikrobiyolojik Kirleticiler

Bu kirleticilerin en zararlı olanları virüsler, bakteriler ve hastalık yapıcı mikroorganizmalardır. Mikrobiyolojik kirleticilerin kaynakları kirli şehir suyu, hayvanlar ve yağmur sularıdır. Bu zararlı kirleticiler su ortamı ile taşınarak canlı hayatını tehdit eder [56].

- Sentetik Organik Kirleticiler

Petrol bazlı yakıtlar, deterjanlar, plastikler, yağlı boyalar, pestisitler sentetik organik kirleticilere örneklerdir. Örneklerden bazıları oldukça az konsantrasyonlarda bulunsa bile alıcı ortam adına yüksek derecede tehdit oluşturur. Sanayileşme sonucu üretimin fazlalaşması ve bu maddelerin zor parçalanan yapıları nedeniyle öncelikle sularda ve genel olarak çevrede önemli zararlar oluştururlar [57].

- İnorganik Kirleticiler

Başlıca örnekleri; metaller, mineraller ve mineral asitleri ve tuzlardır.

Suların asit özelliğinin artması ile birlikte demir, kurşun, bakır, çinko gibi metal sülfürleri oluşur. Bazı bakteriler metal sülfürlerini yükseltgeyerek sülfürik asit meydana getirir. Bazı mineraller suda çözünerek tuzluğa sebep olur. Kimya fabrikalarının üretim aşamalarında kullanılan çeşitli inorganik tuzların deşarjı sonucu tuzluluk artarak su kirliliğine sebep olur [58].

- Radyoaktif Kirleticiler

Çevrede kuvvetli radyoaktif çekirdeklere sahip maddeler bulunmaktadır. Bu çekirdeklerin yaydığı ışınlar hücrelerin yaşamsal mekanizmalarını etkileyerek canlıların yaşamını yitirmesine sebep olabilir [57].

- Isısal Kirleticiler

Endüstrilerde üretim aşamasında kullanılan soğutma suyu üretimin sonunda sıcaklığı artmış bir şekilde deşarj edilmesi sonucu ısısal kirleticiler oluşur. Deşarj ortamının sıcaklığının artması ile birlikte çözünmüş oksijen miktarı azalır. Bu iki durum sudaki canlı hayat için ölümcül sonuç doğurabilir [57].

2.1.2 Su Kirliliğine Neden Olan Faktörler

Su kirliliğine yol açan unsurlar başlıca;

- Sanayileşme
- Şehirleşme
- Nüfus artışı
- Tarımsal ilaç ve gübreler olarak sınıflandırılabilir.

Sanayileşmenin su kirliliği üzerindeki negatif etkisi diğer unsurlardan çok daha büyüktür. Sanayi kurumlarının sıvı ve katı atıklarına bağlı olarak su, toprak ve bitki örtüsü üzerindeki zararı oldukça fazladır. Sanayileşme ile gelen hızlı nüfus artışı ve göç durumu düzensiz kentleşmeye sebebiyet verir [59].

Tarımsal gelişme için kullanılan pestisitler hava yolu ile taşınarak doğal su kaynaklarının yapısını bozmaktadır. Ayrıca pestisit üretimi yapan fabrikaların su kaynaklarına izinsiz deşarjları kirliliğe sebebiyet verir. Bununla birlikte sentetik gübrelerin cahilce ve fazla kullanılması da belli bir süre sonra toprağı verimsizleştirir ve topraktaki kirlilik yeraltı sularına geçerek su kirliliğine sebebiyet verir [59].

2.2 Ağır Metal Kirliliği ve Giderim Yöntemleri

Kentleşme, sanayileşme, nüfus artışı, madencilik ve kontrolsüz tarım uygulamaları toprakta, yeraltı sularında ve farklı su kütlelerinde ağır metal konsantrasyonunu artırmıştır. Ek olarak, çeşitli endüstriler, ürün oluşumu için hammaddelerin işlenmesinde farklı ağır metaller kullanır. Su kaynaklarına ağır metallerin deşarj edilmesi, su altı ekosistemine zarar verebilir ve topraktaki emilim ile bitkilerin yapısına geçerek, insanlar ve hayvanlar için ciddi toksisiteye neden olabilir. Bu nedenle ağır metallerin hava, su ve toprakta tespit edilmesi ve gideriminin sağlanması gerekmektedir [60].

2.2.1 Ağır Metaller

Toksik ve toksik olmayan olarak metaller iki gruba ayrılır. Organizmaların yapısına alınarak canlılara zarar veren metaller toksik metaller olarak tanımlanır. Toksiklik metalin cinsine, canlının türü ve metalin derişimine göre değişkenlik göstermektedir. Çevreyi kirleten en önemli kirleticilerin başında gelen metaller 150'den fazla kirletici arasından 84 tanesini oluşturur. Toksik olmayan metaller toksik olanlardan oldukça

fazladır. Sanayileşme, tarımda büyüme ve madencilik çalışmalarının fazlalaşmasıyla, su ve atıksulardaki toksik atık derişiminde ciddi bir yükseliş saptanmıştır [61].

Fiziksel nitelik bakımından öz kütlesi 5 g/cm^3'ten daha yüksek olan metalleri tanımlamak için kullanılır. Bu sınıfta; Pb, Cd, Co, Fe, Cu, Hg, Al da dahil olduğu 60'tan çok metal bulunur. Bu metaller dünya üzerinde çoğunlukla karbonat, oksit, silikat ve sülfür gibi kimyasal bileşik halinde bulunur [62].

Dünya'da ağır metal kirliliğinin temel kaynağı metal temizleme ve metal kaplama, kâğıt endüstrisi, ahşap sektöründeki prosesler sonucu oluşturduğu atıklardır. Bu örnekler Tablo 2.1'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1 Atıksulara metal bırakan temel endüstriyel sektörler

Endüstri	**Metaller**	**Bulunması olası diğer maddeler**
Maden İşlemleri	Katyonlar: Cu, Zn, Pb, Mn,...	Fe, Al Sülfatlar,fosfatlar
Elektrik Akımı ile Kaplama işlemleri	Cr,Ni,Cd,Zn	Fe yüzey aktif metaller
Metal İşleme	Cu,Zn,Mn	Fe, Al yüzey aktif metaller
Yanmış Kömür Güç Kaynakları	Cu,Cd,Mn,Zn,…	Fe, Al
Nükleer Endüstri	U,Th,Ra,Sr,Eu,Am,…	Fe
Özel İşlemler	Hg,Au ve değerli metaller	[63]

2.2.1.1 Bakır (Cu)

Gümüşün ardından iletkenliği en yüksek metal olan bakır dünya üzerinde bileşikler şeklinde yer alır. Biyolojik olarak önemi bitki hayvan ve insanlarda proteinleri birleştirmesi ve enzimleri oluşturmasıdır. Bakır, insanlarda bağışıklık sistemini korur ve doku yapısında önemli rol oynar [64], [65].

Bakır sülfat ($CuSO_4$), önemli bir kirletici olup organizma içerisinde aşırı miktarda olduğunda toksik etki yapmaktadır. İnsanlar üzerinde de etkisi toksik yöndedir. Dokularda birikmesi sonucu göz, karaciğer, böbrek ve beyne zarar vermektedir [64], [65].

2.2.1.2 Demir (Fe)

Çoğu enzimin yapısında bulunan ve başta omurgalı hayvanların oksijen iletiminde büyük rolü olan bir metaldir. Element olarak yalnızca meteorların yapısında bulunan demir metali, doğada bileşikleri halinde bulunarak diğer metallere göre sayıca fazladır. Topraktan doğal yollarla nehir, akarsu, göl ve denizlere taşınan demir bunun haricinde endüstriyel atıkların içeriğinde bulunarak suları kirletir. Gerçekleşen taşınma işlemi sonucunda demir birikimleri oluşmaktadır. Normalde çözünmez formda olmasına rağmen, gerçekleşen reaksiyonlarla demir sülfata dönüşüp suda çözünen demir birikerek suyu kirletir. Vücutta belli bir oranda demir bulunmasına rağmen, gerekenden fazla dozda alındığı takdirde çeşitli organlara zarar verir ve ölüme kadar götürebilir [65].

2.2.1.3 Alüminyum (Al)

Dünyada en çok var olan üçüncü element olmasına karşın, organizma bünyesinde düşük oranlardadır. Bu nedenle biyolojik açıdan ehemmiyeti düşüktür.

Yapılan araştırmalar sonucu düşük orandaki alüminyumu Alzheimer gibi nörolojik hastalıkları tetiklediği görülmüştür. Bu sebeple Dünya Sağlık Organizasyonu (WHO) yetişkin bir bireyin alabileceği sınır alüminyum miktarı 7,0 mg/kg olarak tanımlamıştır [66].

2.2.2 Suda Ağır Metal Kirliliği

Toprakta bulunan metaller doğal yollarla sucul alanlara karışabileceği gibi doğrudan sanayi atıkları, evsel atıklar ve tarımsal atıklar aracılığı ile birlikte su kaynaklarında kirlilik oluşturabilir. Başlıca kirletici metaller; Na, K, Mg, Fe, Al'dir. Diğer kirletici toksik metaller ise; Al, Pb, Cd, Cu, Hg, Cr gibi evsel veya endüstriyel atıklar

aracılığıyla suyu kirletir. Ehemmiyeti en yüksek olanlar ise; Hg, Pb, Cd, As'tir [57], [58], [67].

Metaller biyolojik olarak üç ayrı sınıfta toplanır. Bu sınıflar:

- Majör: Organizmanın hayatta kalabilmesi adına kesinlikle ihtiyaç duyduğu metallerdir. Örnek olarak; kalsiyum, magnezyum, sodyum, potasyum.
- Minör: Derişimlerine göre canlı dokuda bulunması gerekli veya toksik etki yaratabilecek olan metallerdir. Yüksek derişimleri toksik etki yaratırken, düşük derişimleri ihtiyaçtır. Örnek olarak; demir, bakır, kobalt, çinko, krom.
- Eser Elementler: Az derişimleri bile canlı organizma için toksik olabilen, ihtiyaç duyulmayan metallerdir. Örnek olarak; cıva, arsenik, kurşun, kadmiyum, berilyum[68].

Sucul ortamlar için zararlı ve insan sağlığı için tehdit olabilen inorganik maddelerden ve kirletici parametrelerinden birisi olan ağır metaller su kaynaklarına, sanayi atıkları veya asit yağmurlarının toprakta bulunan ağır metalleri çözerek akarsu, göl ve yeraltı sularına, oradan da deniz zemininde toplanması ile metal birikimine neden olur. Diğer bir deyişle metallerin sucul sistemlere havadan, sanayi atıklarından, kentsel atıkların ve kanalizasyon atıklarının deşarjı ile aktarıldığı anlaşılır. Ağır metaller körfezlerde ve koylarda sediment partiküllerini emerek dibe çökelmektedir. Ağır metaller fiziksel olarak canlı dokuların yapısında, kolloid parçacıklar olarak, kolloid parçacıklarının üzerine emerek veya çözünmüş halde bulunurlar [69].

Sanayi çalışmalarından olan çimento üretimi, çelik sanayi, termik santraller, cam endüstrisi, atık yakma tesisleri ağır metallerin açığa çıktığı başlıca kaynaklardır. Endüstrilerden çıkan metal türleri farklılık göstermektedir. Sektörlere göre ağır metal dağılımları Tablo 2.2'de gösterilmektedir [69], [70].

Tablo 2.2 Endüstrilere göre ağır metal içerikleri

Endüstri	**Cd**	**Cr**	**Cu**	**Pb**	**Ni**	**Zn**
Kâğıt	-	+	+	+	+	-
Petrokimya	+	+	-	+	-	+
Klor	+	+	-	+	-	+

Tablo 2.2 Endüstrilere göre ağır metal içerikleri (devamı)

Gübre	+	+	+	+	+	+
Demir-Çelik	+	+	+	+	+	+
Termik Santral	+	+	+	+	+	+

Endüstrilerde oluşan atıksuların, içme suyu rezervlerine bulaşması ve ağır metaller nedeniyle kirlenmiş olan parçacıkların tozumasıyla canlıların bünyesinde etki göstermektedir. Metal yayılımları kara, hava ve sudan olabilmektedir [69], [70].

Ağır metaller, sucul ortamlarda farklı oluşumlar içerisinde aktarım yapabilmektedir. Karbonat üzerine nüfuz eden metaller, buradan suya karışabilir ve Fe/Mn oksitleri ile beraber çökelti oluşturabilmektedir. Derin denizde yaşamakta olan planktonik canlıların içine nüfuz edilebilmekte, çözünmüş organikler ile tortu oluşturmakta, pH değerinin artması ile kompleks oluşturmakta, metal sülfit oluşumlarına ve tortu oluşturmasına sebebiyet verirler [69].

Sularda ağır ya da hafif bütün metallerin belirli bir sınır değer üzerinde toksik etki yarattıkları gözlemlenmektedir. Bu yüzden ağır metal kirliliği önemli bir yer tutmakta ve bu kirliliğin önüne geçilebilmesi için birden fazla araştırma yapılmaktadır. Ağır metaller; fiziksel, kimyasal, biyolojik birçok metotla sudan ayrılabilmekte ama, büyük hacimlerde bu işlemler aşırı maliyetli olabilir ve giderim istenilen düzeyde yapılamamaktadır. Bu nedenle alternatif yöntemler geliştirilmiştir. Biyosorpsiyon ve biyoremediasyon metotları buna örnektir. Bu yöntemler maliyeti düşük, çevreye zararı az ve tesiri yüksek olmasından dolayı tercih edilmelidir [71].

Ağır metal absorbesi ve birikmesi sucul sistemlerde balıklar ve mikroorganizmalar tarafından yapılmaktadır. Farklı şekillerde dokulara alınan ağır metaller değişik derişimlerde birikme gösterir. Bu metallerden yaşamsal olarak ehemmiyete sahip olanları depolanır. Eğer toksik olan ağır metallerin birikimi gerçekleşirse, enzim yapıları bozulabilmektedir. Bu şekilde besin zincirine giren toksik ağır metaller insan sağlığı açısından da büyük tehdit oluşturmaktadır [57], [58].

2.2.3 Atıksulardan Ağır Metal Giderim Yöntemleri

Ağır metallerin atık sudan giderilme yöntemleri ters osmoz, ultrafiltrasyon, elektrodiyaliz, iyon değişimi, kimyasal çöktürme, adsorpsiyon, bitki türleriyle uygulanan fitoremediasyon ve bakteri ve mantarlar yardımıyla yapılan biyosorpsiyon ve biyoremediasyon gibi yöntemlerdir. Genellikle kullanılan tekniklerin pahalı olması ve oluşan çamurlardaki yoğun ağır metal içeriği nedeniyle tercih edilmemeye başlanmıştır. Bu durumla birlikte ağır metal giderimi için alternatif biyolojik yöntemler uygulanmaya başlanmıştır. Yakın zamanlarda birçok canlı, ölü organizmalar denenerek giderimin en yüksek olduğu parametreler ve ortam koşulları araştırılmaktadır [72].

2.2.3.1 Hiperfiltrasyon (Ters Osmoz)

Atık suda çözünmüş olarak bulunan ağır metallerin yarı geçirgen bir tabaka ile bulunduğu ortamdan çıkıp osmotik basınca ters yönde kuvvetli bir basınçla birlikte ayrılması durumudur. Bu teknik maliyeti yüksek olduğundan tercih edilen yöntemler arasında değildir [73].

2.2.3.2 Ultrafiltrasyon

Ağır metallerin membran sistemi kullanılarak basınçla birlikte giderilmesi uygulamasıdır. Ters osmozdan ayrılan özelliği sistemin yüksek basınçla çalışmamasıdır. Yoğunluğu yüksek yağ gibi maddelerde giderim işlemi uygulanırken kullanılmaktadır. En büyük eksisi yüksek miktarda çamur oluşumu ve membran porlarının oluşan çamurlardan tıkanması durumlarıdır [74].

2.2.3.3 Eletrodiyaliz

Bu teknikte, ağır metaller, yarı geçirgen ve iyon seçici membran kullanarak giderilmektedir. Elektrotlar arasında oluşturulan potansiyel fark ile birlikte, atık su içerisinde oluşan elektrik akımından dolayı anyon ve katyonlar farklı elektrotlarda toplanır. Anyon ve katyonlar toplandıktan sonra bunlara karşı duyarlı olan atık su gözeneklerden geçer. Düşük çözünme yeteneğine sahip olan tuzların yüzeyde birikerek çökelme oluşturur ve porların tıkanmasına neden olur. Tıkanma durumunu düzeltmek adına elektrodiyaliz işlemi öncesinde filtrasyon, kimyasal çöktürme gibi yöntemler yararlı olabilir [75].

2.2.3.4 İyon Değişimi

Elektrostatik kuvvetlerin ağır metalleri katı yüz üzerinde sabitleyerek, ortamdaki diğer iyonlarla değişimi sonucu giderim yapılır. İyon değişimi işlemi hacmi belirli bir reaktöre içerisinde reçine kullanılarak yapılır. Kullanılan reçinelerin iyon değiştirme sığasının azalması ile sistemin verimi düşmektedir. Bu durumda geri yıkama veya rejenerasyon işlemi yapılmalıdır ve yapılacak bu işlemler uygulanan tekniğin verimsiz ve pahalı olmasına neden olur [76].

2.2.3.5 Kimyasal Çöktürme

Kimyasal çöktürme işlemi kireç, şap ve organik polimerler gibi koagülanlar kullanılarak yapılmaktadır. Kimyasal çöktürme sonucu meydana gelen fazla miktarda ve yüksek toksisite içeren çamur bu işlemde karşılaşılan en büyük sorundur. Toksikliğin yüksek olması çamurun stabilizasyon işlemini sekteye uğratmaktadır [77].

2.2.3.6 Adsorpsiyon

Sıvı ve gaz halinde veya çözeltide bulunan eriyik maddelere ait atomların herhangi bir madde üzerinde tutunma olayıdır. Adsorpsiyon işlemi için adsorban ve tutunma işleminin olduğu madde olan adsorban olması gereklidir.

Bu işlem fiziksel, kimyasal veya biyolojik bir şekilde yapılabilir. Düşük seviyedeki çekim güçleriyle gerçekleştirilir. Bunun yanı sıra elektrostatik çekimle iyonik adsorpsiyon da yapılabilir [78], [79].

2.2.3.7 Biyosorpsiyon

Metali artıma yeteneği olan organizmalar biyosorbents adı kullanılmaktadır. Ağır metallerin aktif olmayan ölü doku yüzeyine tutunması ile oluşan giderime biyosorpsiyon denmektedir. Biyosorpsiyon atık sulardaki organik ve inorganik kirleticilerin ve metallerin çeşitli organizmalar tarafından tutunma işlemidir. Biyosorpsiyon terimi, metalleri tutma işleminde kullanılmaktadır. Bu işlem mikroorganizmaların tutma sığasıyla bağlantılıdır bakteri, mantar, alg ve mayaların metal emme özellikleri oldukça üst düzey olmaları bu işlemin verimini artırır. Son yıllarda yükselen çevre bilinci ve bununla birlikte gelen yasal yükümlülükler nedeniyle ayrıca ucuz bir sistem olması nedeniyle bu alternatif arıtım yönteminin kullanımı artmıştır [13], [41], [51], [80].

2.2.3.8 Fitoremediasyon (Bitkiler ile Yapılan Biyoremediasyon)

Fitoremediasyon çalışmaları son yıllarda artış göstermekte ve göz önünde olan bir fito-ıslah pasif bir tekniktir. Yeşil bitkileri kullanarak ortamdaki kirleticilerin arıtılması veya zararsız hala getirilmesi olarak anlaşılabilir. Organik kirleticilerin yapısını bozabilen, parçalayabilen ya da metallerde olduğu gibi bünyesine alarak zararsız hale getiren bitkiler bu tekniğin temelinde yer almaktadır. Fitoremediasyon diğer teknikler ile kıyaslandığında maaliyeti ucuz, görünümü güzel ve herkes tarafından kabul gören bir metottur. Çevreye duyarlı bir metot olduğundan dolayı avantajı büyüktür nedeni ise toprağın yapısını bozmaz. Fitoremediasyon sonrası toprak hemen tarım için kullanılabilir hale gelmektedir. Fitoremediasyon tekniğinin başlıca hedefi toksik ağır metaller ve organik kirleticilerin bulundukları ortamlarda giderilmesi prensibine dayanır. Araştırmacılar, fitoremediasyonu fitoekstraksiyon, fitodegradasyon, rizofiltrasyon, fitostabilizasyon, fitovolatilizasyon ve rizodegradasyon olarak sınıflandırmışlardır.

Genetik yapısı değişmiş bitkiler veya özel olarak tercih edilen bitkiler bu metotta kullanılmaktadır. Arıtmanın metodunu tamamlamak adına diğer genel arıtma metotlarıyla beraber kullanılabilir [81].

Toprağın bulunduğu ortamdan sökülerek alınmaması ve düşük maliyetli olması alternatif bir seçenek olarak sunulmasını sağlamaktadır. Diğer yasal yöntemlerin toprağın yapısına ve biyolojik faaliyete zarar vermesinden dolayı fitoremediasyon tekniğinin toprağın doğal yapısını koruması ve biyolojik faaliyetlerin sürdürülmesine olanak sağlar. Bunların yanı sıra dezavantaj olarak fitoremediasyonda arıtımın bitkinin kökleri ile sınırlığı kaldığı görülmektedir. Ayrıca tekniğin diğer tekniklerle kıyaslandığında oldukça uzun sürede gerçekleştiği bilinmektedir. Fitoekstraksiyon tekniğinde, hiperkümülatör bitkiler aracılığı ile metalleri bitkinin kök ve hasat bölgesinden toplanabilmektedir. Hiperakümülatör bitki yapraklarında kuru ağırlık bazında %0,1'den fazla Co, Cu, Cr, Ni ya da %1 Zn ve Mn metallerini içeren bitki olarak tanımlanmaktadır. Fitostabilizasyonda kullanılan bitkiler metallerin hareketlerini ve yararlarını kısıtlamaktadır. Bu tür bitkileri, yüksek konsantrasyondaki metalleri tolere eden ve çöktürme, sorpsiyon, kompleksleşme ya da metallerin redüksiyonu ile toprakta hareketsiz hale gelebilen bitkilere denir. Toprakta bulunan metalleri düzgün duruma getirirken toprak yapısındaki erozyonu ve sedimentin geçirgenliğini de düzgün duruma getirir. Fitoremediasyonun diğer bir şekli ise rizofiltrasyondur. Metalleri

sorpsiyon yolu ile etkisiz hale getiren bi uygulamadır. Atıksudaki metallerin bitki kökleri ile emilerek konsantre edilmesini ve etkisiz hale getiren bu metot, toprak sızıntı suları içinde etkili olabilir. Uygulanan bu tekniklerin ileride arazi ortamında büyük ölçüde verimli bir şekilde uygulanabilmesi için ağır metallerin bitki yapısında depolanmasını ve biyolojik ve kimyasal süreçlerin iyice araştırılması gerekmektedir [81], [82].

Bu konu ile ilgili bir çalışmada, Vetiver (Kabe samanı) çiminin Cd, Cu, Pb ve Zn ile kirletilmiş arazide ağır metal giderimi incelenmiş ve bu bitkinin gövde kısmında yüksek derişimlerde Cd, Cu, Pb ve Zn ölçülmüştür. Sonuç olarak vetiver bitkisinin ağır metalleri topraktan arıtımda işe yarayabileceği fakat hasat ürünlerinin arttırılması ile daha çok araştırılma yapılmasını gerektiği vurgulanmıştır [82].

Thalapsi, Urtica, Chenopodium, Polygonum sachalase ve *Allysssim* gibi bitki türlerinin Cd, Cu, Pb ve Zn gibi metalleri hücre içinde depolama becerileri araştırlmış, bitkilerin büyütülmesi ile kirlenmiş toprakların arıtılmasının sağlandığı görülmüştür. Örnek verilecek olursa genellikle bitkiler takribî 100 ppm'lik Zn birikiminde toksisite belirtisi belirtirken, en temel metal hiperakümülatörü olarak anılan *Thlapsi caeruledcens*'ın 26000 ppm'in üstünde biyoakumulasyon yapabildiği sonucuna varılmıştır [82].

2.2.4 Biyoremediasyon Yöntemi

Biyoremediasyon temiz olmayan toprak ve su ortamlarını kirleticilerden arındırmak amaçlı mikroorganizmaların kullanımını belirtmek için ortaya atılmış bir kavramdır. "Biyo" ön eki canlı mikroorganizmalarla yapılan biyolojik kısmı betimlemektedir. Remediasyon kelimesi ise çevresel kirliliğin mutlak bozulmayla ortadan kalkması veya biyolojik etkinlik sonucu toksik maddelerin ortamdan atılmasını tanımlamaktadır [1].

2.2.4.1 Biyoremediasyona Etki Eden Faktörler

Topraklarda biyoremediasyon çalışmalarında toprak sahasının ayrıntılı özellikleri, iklim özellikleri, bitki örtüsü ve topraktaki mikroorganizmaları gibi şartlara göre toprağın çeşitliliği önem arz etmektedir. Pratiğe uygulanabilir bir biyoremediasyon çalışması, topraktaki bu şartları bütünüyle kapsaması gerekmektedir. Bu sebeple hayata geçirilmesi planlanan biyoremediasyon metodu, topraktaki farklılıkların ve temizlenmesi gereken toprağın durumlarını dikkate alması gerekmektedir. Tablo 2.3'te biyoremediasyonun verimliliğini etkileyen şartlar kısaca özetlenmiştir [83].

Tablo 2.3 Biyoremediasyonu etkileyen faktörler

Kimyasal ve biyolojik faktörler	**Uygun hidrojeolojik faktörler**
Organik kirliliğin düşük olması	Granüler boşluklu alan
Toksikliği düşük olan kirleticiler	Yüksek permeabilite
Mikroorganizma türlerinin çeşitli olması	Üniform mineraloji
Oksidasyon işlemi için elektron alıcı	Homojen alan
pH aralığının uygunluğu	Doyurulmuş tabaka
Uygun olmayan ve kimyasal ve biyolojik faktörler	**Uygun olmayan hidrojeolojik faktörler**
Kirletici türlerinin karışımın yüksek olması	Kırık kayalar
Toksik kirleticiliği yüksek olan	Permeabilite düşüklüğü
Oksidasyon işlemi için elektron alıcısı yokluğu	Heterojen alan
pH aralığının stabil olmaması	Doyurulmamış tabaka

2.2.4.2 Toprağın Fiziksel, Kimyasal ve Biyolojik Yapısı

Biyoremediasyon araştırmalarında toprakların fiziksel ve kimyasal yapısının belirlenmesi araştırmaların en önemli ayrıntılarını içermektedir. Uygulanabilir bir biyoremediasyon için bu faktörler içerisinde en önemli ve belirleyici faktör toprağın su tutma kapasitesidir. Toprağın su muhtevası, toprağın yapısal ve porozite durumu ile uygunluğudur. Suya doymuş topraklarda çoğunlukla oksijen bakımından azdır, bu

sebeple aerobik biyoremediasyon limitlidir. Aerobik biyoremediasyonu gerçekleştirebilmek için uygun miktarda oksijen ve su lazımdır [83].

Topraktaki derinliğin artması ile birlikte organik madde miktarının azaldığı görülmekte ve bu toprakta önemli bir farklılığa neden olmaktadır. Organik madde toprak ve toprak canlıları için hayati öneme sahiptir. Toprakta derinlik ile birlikte organik maddelerin azalması mikroorganizmalarında azalmasına neden olmakta bu yüzden toksik ağır metallerin giderimi azalmaktadır. Diğer bir deyişle Toprak altındaki derin alt tabakada yüzeysel tabakadan daha düşük mikroorganizma yoğunluğu vardır. Toprak iletkenliği ile permeabilitesi de biyoremediasyon için önemli bir faktördür. Topraktaki mikroorganizmaların canlılığını koruyabilmesi için nutrient ve oksijene gereksinim duyar. Toprağın sızdırmaz bir yapısı varsa mikroorganizmalar için gelişme ve solunum için ihtiyaçlarını karşılayabilecek oksijen ve nutrienti almada sıkıntı çeker. Hidro iletkenlik 10-4 cm/s'den yüksekse çoğunlukla toprakta nutrient ve oksijen iletimi sağlanır. Topraktaki yüksek geçirgenlik düşük mikroorganizma nüfusuna sebebiyet verdiğinden biyoremediasyon için yeterli değildir. İnce yapılı toprak ve sedimentlerin az geçirgenlik durumunda ise mikroorganizmaların zor bir şekilde nutrient ve oksijen almasına neden olmaktadır [83], [84].

Diğer parametrelerden biri olan sıcaklık ve nem toprağın fiziksel özellikleri açısından önemlidir. Bu unsurlar topraktaki çeşitli reaksiyonların etkilenmesinde önemli rol oynar. Mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerini sürdürmesinde sıcaklığın rolü büyüktür. Sıcaklık mikroorganizmada biyolojik olarak parçalama için optimum 20 ^{o}C ile 30 ^{o}C arasında değişmektedir. Mevsimsel değişiklikler, toprak yüzeyindeki durumlar, topraktaki nem oranı ve derinliğe bağlı olarak sıcaklıklar değişiklik gösterir. Toprağın 1-5 m derinliğindeki sıcaklık değişimi senelik hava sıcaklığına bağlıdır. Nem oranı yüksek topraklar yüksek ısı sığasına sahiptir bununla beraber sıcaklıkları nem oranı çok düşük topraklara göre zamana karşı değişimi yavaştır. Sulama ile drenaj, yüzeydeki ölü bitkiler, yapay örtüler ya da bitki örtüsü ile kaplı olması topraktaki sıcaklığı kontrol altına alabilir [84].

Verimi yüksek bir şekilde biyoremediasyon gerçekleştirebilmek için toprağın doğal durumu, kirletici derişimi ve toprağın saflığını kaybetme durumu önemli bir rol oynar. Biyoremediasyon uygulamasının zor olduğu durumlar, toprağın biyolojik durumdan değişime dayanıklı olması ve yüksek derişimlerle saflığını kaybetmiş alanlardır. Topraktaki biyolojik durumu etkileyen faktörler ise kirleticinin hali, farklı maddelere

soprsiyonu, iletimi ve biyolojik olarak parçalanmasıdır. Bu faktörlerde topraktaki pH'ı, nutrienti, tuz oranını, ağır metal derişimini, mineral oranını, organik madde içeriğini ve iyon değiştirme kapasitesini etkiler [83], [84].

Kimyasal yapıdaki değişime sebebiyet veren bir diğer etken kil mineralleridir. Geniş yüzey alanına sahip olan kil mineralleri etkileşim için büyük avantajı vardır. Kil minerallerinin kristal yapıda olması, amorf, tuz ve metal oksitlerden oluşur. Aynı kimyasalların sorpsiyonlanmasında geniş tepki veren yüzey alanı sağlayarak etken rol oynar. Yüzey alanlarının yüklü olması nedeniyle farklı kimyasalların sorpsiyonunda etken rolde olup iyon değişim kapasitesini değiştirmektedir. Bu mineraller kimyasal kirlenmeyi adsorbe ederek mikrobiyal parçalanma için işe yaramaz duruma getirilebilirler. Toprağın organik madde açısından pozitif yük kapasitesi fazladır bununla birlikte sorpsiyon özelliği bakımından organik kimyasallar ve metaller büyük etkenler oluşturur [83], [84].

C, N, P gibi temel nutrienler ve diğer tüm mikronutrientler içeren toprak, bitki ve mikroorganizmalar için önemli bir rezervdir. Mikrobiyal parçalanma için makronutrient ihtiyacı, kirli toprak numunesinden (elektrolitik ile) öngörülür. Bu aşamadan sonra biyolojik oksijen ihtiyacı (BOİ) ölçülür. Toplam BOİ mikroorganizmaların büyümesi için ihtiyaç duyulan N ile P oranları ile artar. Çoğu zaman BOİ, NH_3-N ve ortofosfat derecesi 100:10:1 şeklinde tanımlanabilir.

Eser miktarda mikronutrient mikroorganizlamaların beslenmesi için gerekli besin çeşididir. Bazı remediasyon uygulamasında gerekli beslenme ortamını sağlamak için eser miktarda mikronutrient dışarıdan verilmektedir. Yapılan biyoremediasyon çalışmalarından alınan sonuçlarla iz elementlerin mikroorganizmaların beslenmesinde önemli bir rol oynadığı görülmüştür [84].

Toprağın diğer jeolojik gereçlerden farklılığının sebebi yapısında biyolojik faaliyetleri barındırmasıdır. Biyolojik faaliyetler toprağın çoğunlukla yüzey kısımlarında bulunur. Topraktaki biyolojik faaliyetlere yardımda bulunan bitkiler, hayvanlar ve mikroorganizmalardır. Toprağın fiziksel ve kimyasal özellikleri biyolojik faaliyetlere yardımda bulunan diğer etkenlerdir. Toprak şartları, uygun havalandırma, uygun besin miktarı ile enerji kaynağı, uygun nem kaynağı ve yeterli sıcaklık aerobik mikroorganizmaların faaliyetlerine olanak sağlar. Toprak ve su oranı tatmin edilen muhtevaya ulaştığında, toprak boşluklarına oksijen geçişi sınırlanır, toprak anaerobik

duruma geçer. Ortam şartları değiştiğinde aerobik mikroorganizmaların faaliyetleri kısıtlanır, bu sebeple anaerobik mikroorganizmalar büyür ve enerji kaynağı olarak organik maddeleri kullanırlar. Bu yüzden biyolojik toprak koşullarını etkileyen faktörler: toprağın fiziksel durumu, toprakta oluşan kimyasal reaksiyonlar, iklim durumları ve organik madde ve nutrientin enerji kaynağı olarak kullanılmasıdır [84].

2.2.4.3 Biyoremediasyon Teknikleri

Mikroorganizmaların kirletici maddeleri dokularına geçirme yeteneklerine sahip bulunmaları, gelişme ve metabolik aktiviteleri için tüketme temeline biyoremediasyon denir. Biyoremediasyonun temel gayesi, mikroorganizmanın gelişme ve faaliyet için en iyi durumun sağlanmasıdır.

Ortamın aerobik ya da anaerobik olması ve doygunluk oranına göre farklı teknikler kullanılabilir. Bu teknikler iki durumda incelenir.

Atıkların deşarj edildiği ortama nutrient transfer edilerek, toprağın bakteri nüfusuna göre, toprakta büyüyen bakteriler faaliyete geçirilir. Bu teknik kirletici derişiminin az olduğu durumlarda denenir. Belirli bir toprak numunesi alınarak kirletici yok etme yeteneğine sahip mikroorganizmalar enjekte edilir. Ortam koşulları korunur veya mikroorganizmaların metabolik faaliyetlerini ve gelişmelerini uygun duruma getirmek için şartlar değiştirilir. Biyoremediasyon için ortam şartları uygun duruma getirilebilmesi için sıcaklık, inorganik besinler (azot ile fosfor), e- alıcılar (nitrat, oksijen, sülfat) ve pH değiştirilir [85].

- Yerinde (In-Situ) Biyoremediasyon Teknikleri

Yerinde yapılan biyoremediasyon yöntemi oldukça ucuz bir maliyeti olduğundan dolayı kirlenmiş toprakların arıtılmasında kullanılan bir tekniktir. Bu teknikte kimyasal maddeleri yok etmek için mikroorganizmalar kullanılmaktadır. Tekniğin işleyişinde kirli toprağın ortamdan sökülmesine gerek duyulmamasından dolayı ucuz olması tercih sebebi olmasını sağlar. Bunun yanı sıra yerinde (in-situ) biyoremediasyon tekniğinin dezavantajları vardır. Bu tekniğin yerinde olmayan tekniğe göre karşılaştırıldığında daha uzun sürede sonuç alındığı gözlemlenmiştir. Kontrol altına alınamayan ortam durumlarındaki değişikliklerden etkilenmeleri sebebiyle mikroorganizmalar faaliyetlerinde senelik azalmalar olabilir. Bu sebeple ortama ilave besinler eklenebilir. Şartların uygun olmadığı durumlarda kirliliği yok etme kapasiteleri düşebilir. Bu gibi durumlarda kendiliğinden oluşan mikroorganizmalar seçilmesine rağmen yapay olarak

geliştirilen mikroorganizmalar kullanılmak mecburiyetinde olunabilir. Diğer bir taraftan yerinde (in-situ) arıtım tekniği, toprak derinliği ile paralel gitmektedir [85], [86].

Yerinde (in-situ) arıtım metotları kirleticilerin yok edilmesini sağlayıp besin olarak kullanan bölgedeki doğal olarak büyüyen mikroorganizmalar sayesinde gerçekleştirilir. Yerinde (in-situ) biyolojik parçalanma: organik kirleticilerin parçalanarak bölgede canlı mikroorganizmaların hayatta kalabilmesi için aktarım durumunda bulunan sıvı çözeltilerle toprağa oksijen ve besin transfer olayıdır. Dizel yakıtlar ile yoğunluğu fazla olan yağlar gibi halojen olmayan yarı uçucu organiklerin arıtılmasında yerinde biyoremediasyon metodu kullanılır. Deneysel ortamda yapılan çalışmalarla olan yerinde olmayan biyoremediasyon teknikleri, yerinde uygulanan biyoremediasyon tekniklerinden oldukça kolaydır. Bunun sebebi yerinde uygulanan biyoremediasyon tekniği kontamine olmuş toprakta uygulanmasındandır [85], [86].

Benzen, tolüen, etil benzen, ksilen (BTEX) tarzı petrol maddeleri aerobik mikroorganizmalar tarafından parçalanabilmesi mümkündür. İzole edilmiş mikroorganizmaların faaliyetleri tarla gibi ortamlarda gerçekleştirilmiştir. Dört mikroorganizma grubu kirlenmiş bir araziye aktarılmıştır. Yerinde yapılan biyoremediasyon tekniği ile yedi ay süren bir çalışmanın ardından benzen ve toluen için %95, etil benzen için %81 ve ksilen için %80 giderim verimi sonucuna varılmış olundu. Brito ve diğ. yaptıkları araştırmalarda, tropik ortamlarda büyüyen bitki olan mangrov ile bakteriyel konsorsiyum yardımıyla yağ ve kirlenmiş toprakların arıtımında kullanılabileceğini göstermişlerdir [85], [86].

Önemli bir diğer kirletici olan fosil yakıtların yanma reaksiyonları sonucu oluşan doğal ortamda birikebilen poliaromatik hidrokarbonlarla (PAH) kirlenmiş toprakların, mantar, bakteriler aracılığı ile aerobik ve anaerobik durumlar ile yerinde yapılan tekniklerle arıtımının gerçekleştiği araştırmalar sonunca görülmüştür. Bootpathy ise yaptığı araştırmalarda patlayıcı maddelerle kirlenmiş toprakların yerinde (in-situ) yapılan metot ile bir yılda arıtımının yapıldığı sonucuna varmıştır. Yerinde (in-situ) yapılan biyoremediasyon tekniğinin uzun zaman sürmesine rağmen az maliyetle yapılmasının önemi belirtilmiştir. Uygun şartlarda mikroorganizmaların yaşaması için arıtımında 2 metot uygulanır [85], [86].

- Bioventing (Hava Enjeksiyonuyla Doymamış Toprakta Kirletici Arıtımı)

Bioventing tekniğinde atmosferik hava, canlıların ihtiyaç duyduğu oksijeni aktarmak maksadıyla doygunluğa ulaşmamış seviyedeki su tabakası üzerindeki toprağa tasarlanmış boruların içerisinde taşınır. Metotta biyolojik parçalanma toprakta mevcut olan mantar ve bakteri türleri ile yapılır. Toprağa enjeksiyon ile aktarılan hava veya oksijenin biyolojik parçalanmaya yardım etmesinin yanında, toprakta bulunan uçucu organik maddeleri ve karbondioksiti hava akımıyla birlikte yüzeye çıkartır. Bu tekniğin petrol hidrokarbonları, klorlanmış çözücüleri, pestisitleri, bitki koruyucu ilaçları ve bazı organik kimyasallarla kirlenmiş toprakların ıslahında çok iyi bir şekilde gerçekleştirdiği anlaşılmıştır. Metodun temel olarak inorganik kirleticiler için uygulanması tercih edilmemektedir [86].

- Peroksit Enjeksiyonu

Peroksit enjeksiyon metodunda oksijenin toprağa hidrojen peroksit enjeksiyonu yoluyla sıvı halde aktarılır. Bu metodun benzerliği kimyasal oksidasyon ile bağdaştırılabilir. Hidrokarbonların hidrojen peroksit oksidandı ile CO_2 ve H_2O'ya dönüşümü gerçekleştirilir. OH radikali tarafından gerçekleşen oksidatif işlemlerle topraktaki organik ve inorganik bileşenlerin cinsi ve özellikleri değişir. Çözünmüş oksijen, organik kirleticilerin biyolojik aşamalarında çoğu zaman kısıtlıdır. Biyolojik oksijen ihtiyacı aerobik metabolizma aşamasında büyük bir rol oynar. Kirlenmiş toprağa hidrojen peroksit eklenmesi ile birlikte oksitleyici madde muhtevası yükselir. İhtiyaç duyulan hidrojen peroksit oranının belirlenmesinde oksitleyici madde kaybolma miktarı dikkate alınmalıdır. Toprakta bulunan organik maddeler ile organik kirleticiler arasında hidrojen peroksiti kullanmak için bir yarış vardır. Bu sebeple toprak organik maddesi oksitleyici miktarının belirlenmesinde büyük bir rol alır. Yapılan çalışmalarda, nötr pH'da 20 ^oC'de hidrojen peroksit ve topraktaki bağı incelenmiştir. Yüksek konsantrasyonda organik maddeye sahip olan toprakta hidrojen peroksitin bozunma miktarının yükseldiği gözlemlenmiştir [86].

Bu teknik, çoğu zaman daha öncesinden doğal yapısı bozulmuş yer altı suları ile sabit kirliliğin olduğu topraklarda kullanılır.

- Yerinde Yapılmayan (Ex-Situ) Biyoremediasyon Teknikleri

Yerinde yapılmayan (ex-situ) tekniğinde toprağın bulunduğu konumdan sökülerek alınmasını gerektirir. Bunun yapılmasındaki gaye mikrobiyal parçalanmayı daha kolay

ve uygun bir biçimde yapmaktır. Kirlenmiş topraktan uzakta gerçekleştirilen bu yöntem, yerinde yapılan (in-situ) tekniğine göre hızlıdır. Geniş topraklara yayılan kirleticilerin arıtılmasında uygulanan bu teknik oldukça pahalı bir tekniktir. Yapılan araştırmalarda laboratuvar durumlarında aerobik canlılar tarafından petrol türevi benzen için %84, toluen için %86, etil benzen için %80 ve ksilen için %82 oranında arıtım sonucu gözlemlenmiştir. Başka bir araştırmada topraktaki klorobenzenlerin biyoremediasyonunda iki ila üç haftada %90 oranında arıtım sonucu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda, hidrokarbonların topraktan arıtılmasında (ex-situ) metodu sağlıklı bir şekilde işe yaramaktadır [84].

Arıtımın tasarımı özel tasarım tanklarda ya da önceden kurulmuş yerlerde yapılıp yapılmadığına göre biyoremediasyon 2 metodu kapsar.

- Sulu Faz İşlemi (Biyoreaktörler)

Yerinde yapılmayan metodun birinci sırasında biyoreaktörler vardır. Sağlam ve toksik kirleticilerle kirlenmiş toprakların biyoremediasyonuyla arıtımında en opsiyonel ve çevre kirliliğini sınırlayabilen teknik sulu faz işlemleridir. Aktif mikroorganizmaların parçalama yeteneklerine göre kirleticilerin arıtım miktarı birbirine entegredir. Biyoreaktörler kesikli, yarı- sürekli ve sürekli olarak gruplandırılır. Kesikli reaktörler en çok seçilen ve uygulanan reaktör tipidir. e- alıcısına göre aerobik, anoksik, ile karışık e-alıcılarının kullanıldığı reaktörlerde vardır. Diğer metotlarla kıyaslandığında sulu faz işlemi oldukça hızlıdır. Bu teknikte kirlenmiş toprak yerinden sökülerek zatî araçlar ile transferi gerçekleşir ve tasarlanmış tanklarda su ile birleştirilir. Alınan toprağın içinde kendiliğinden bulunan mikroorganizmalar oksijen ve besinleri sonradan eklenerek organizmalar için uygun ortam sağlanır. Kirleticilerin topraktan arıtılmasında mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerini en iyi şekilde gerçekleştirebilmesi için ısı, besin ve oksijen derişimleri gözlem altında tutulur. Bu metotla kütle transfer miktarıyla canlı/kirletici/besin miktarlarının yükseltilebilmesi, ayrı e- alıcılarının kullanılabilmesi, yüzey aktif madde ve solvent kullanımı ile kirleticinin parçalanmasının arttırılması, çevre kirliliğinin en aza indirilmesi ve gözlem altında tutulması gibi iyi özellikleri vardır. Yapılan çalışmalarda biyoreaktörlerin hidrokarbonlar ve bazı organik klorlu maddeler gibi toksik ve parçalanmaya karşı kuvvetli maddelerle kirlenmiş toprakların arıtılmasında faydalı yerinde yapılmayan teknik olarak gözlemlenmiştir. Piren ile kirlenmiş toprakların anoksik-aerobik-anoksik durumlarda kesikli reaktörlerde arıtımının olduğu anlaşılmıştır. Bu araştırmalarda bekleme süresi 120 saat, yükleme

oranı 20 kg/m^3.gün, sıcaklık 26-30 ^oC arasında belirlenerek 6 farklı reaktör değişik substrat derişimlerinde çalıştırılmıştır. Reaktörlerden bazılarına parçalama aşaması güçlü olması için evsel çamur ilave edilmiştir. Sonuç olarak evsel çamur ilavesi yapılan çamurlarda ilave edilmeyenlere göre daha yüksek parçalanma gerçekleştiği gözlemlenmiştir [84].

Kirleticilerden birisi olan PAH'ların (poliaromatik hidrokarbon) aerobik ve anaerobik çalıştırılan reaktörlerde arıtıldığı yapılan araştırmalarla açığa çıkmıştır. PAH'ların parçalanabilmesi için metabolik faaliyetler (aerobik, anaerobik, anoksik), tek veya karışık mikro çevre durumları, karışık mikroflora ve aşılama şartlarının reaktörlerde sağlanması ile gerçekleşir. PAH'ların toksik ve suyu sevmeyen kirleticiler olması, toprak yapısını ve çevre şartlarını kompleks şekle getirebilir. Yapılan araştırmalar sonucu arıtma çamurundaki PAH'ların arıtılmasında yerinde yapılmayan tekniği olan reaktörlerde gerçekleşebileceğini gözlemlenmiştir. Parçalanmanın hızlanması için özel bir tür kullanılarak aerobik ve anaerobik durumlarda %80'e varan giderim meydana getirildiği görülmüştür [84].

- Katı Faz İşlemi

Daha önceden hazırlanmış zeminlerin üzerine kirlenmiş toprak numunesi aktarılarak giderim yöntemine katı faz işlemi denir. Maliyet yönünden sulu zemin uygulaması ile karşılaştırıldığında oldukça ucuz olan bu yöntem, giderim yönünden fazla etkili değildir. Bekletme süresi sulu zemin uygulamasına göre daha uzundur. Diğer bir adı da biyo-yığın olan bu metot petrol üretim malzemeleri, PAH'ların, patlayıcıların, pestisitler gibi organik kirleticilerin derişimlerini düşürmek için uygulanabildiği gözlemlenmiştir. Teknikte kirlenmiş toprakları havalandırmak, mineral takviyesi, besin takviyesi ve nemlendirmeyi uygun hale getirerek mikroorganizmalar için uygun ortamı sağlamak amaçlanır [81].

Bu arıtma tekniğinin yapılabilmesi için iki temel metot genel olarak kullanılır. Bunlar;

- Arazi Düzenlemesi

Biyolojik parçalanma ile kirletici konsantrasyonlarını düşüren toprak teknolojisi diğer bir değişle araziyi iyileştirme veya arazi uygulaması olarak da bilinen bir metottur. Bu metot kirli toprağın bulunduğu ortamdan sökülerek başka bir alana serilerek ince bir tabaka oluşturulması sonucunu kapsar. Havalandırma ile mineral ve besin takviyesi yapılarak, uygun nem ortamı hazırlandıktan sonra mikroorganizma için uygun ortam

sağlanmış olur. Bu aşamadan sonra mikroorganizma sayısının ve işlevinin artması ile kirleticilerin parçalanması sağlanır. Diğer bir deyişle biyolojik faaliyetleri hızlandırmak için kirletilmiş toprak doğal ortamından taşınarak yapay bir ortama koyulur. Burada havalanmasını kolaylaştırmak için sürekli karıştırılır. Mikroorganizmalar yaşamsal hayatlarını sürdürebilmeleri için biyoloji parçalanmayı sürdürmek zorundadır. Bu sebeple ihtiyaç olduğu zamanlarda azot ve fosfor gibi besinler ilave edilerek bir nevi takviye yapılır. Topraktaki kirlilik yüzey seviyesi 90 cm'den az ise toprağı yerinden sökmeden arıtım yapmak mümkün olabilir. Arazi Düzenlenme metodu uygulanırken mikroorganizma aktivitesi, toprağın özellikleri, kirleticilerin uçuculuğu ve iklim özellikleri önemli ölçüde gözlem altına alınmalıdır [81], [84].

Bu metodun toprak yüzeyinden 0,3-1 metre derinliğine yayılmış hidrokarbon kirliliği olduğunda seçilmesi gerekmektedir. İşlem sırasında, hidrokarbonlar buharlaşma veya biyolojik parçalanma işlemlerinin birleşimi ile arıtılmaktadır. Yapılan araştırmalar ve bu araştırmalar sonucu ulaşılan kanı bu arıtma tekniğinin taşınma riski ve zamanının kritik bir etken olmadığı şartlarda başarılı olacağı anlaşılmıştır [84].

- Toprak Biyoyığınları (Soil Biopiles)

Toprak biyoyığınlarında, kirli topraklar bulunduğu ortamdan sökülerek alınıp birkaç metre yüksekliğinde kümeler halinde yığılarak biyoremediasyona tabi tutulması olayıdır. Biyolojik parçalanma verimini yükseltmek için yığınların içine hava transferi yapılır ve ilave besinler eklenerek mikroorganizmalar için uygun ortam sağlanarak arıtım gerçekleşir. Mikroorganizmaların faaliyetleri sonucu açığa çıkan gazların içinde uçucu kirleticilerde vardır ve bunlar kontrol altına alınmalıdır. Depolama tank alanlarında bulunan petrol türevlerinin derişimini azaltmak için toprak biyoyığınları ve arazi düzenlemesi metotları kullanılır [84].

Sistem verimi, toprak özelliği, çevre durumuna ve iklim özelliklerine bağlıdır. Toprağın dokusu, toprağın geçirgenliği ve nem muhtevası ile bağlantılıdır. İnce yapılı topraklar iri yapılılara göre az geçirgenliğe sahiptir. Az geçirgen olan toprakları havalandırmak güçtür ama daha büyük geçirgenliği olana göre daha iyi nem muhtevasına sahiptir. Bu metodun daha iyi verimle çalışabilmesi için belirli periyotlarla devrilmeye veya sürülmeye gerek duyar. Toprak doğal koşullarda içinde çok fazla çeşit mikroorganizmayı barındırır. Bu metodun verimli bir şekilde uygulanabilmesi için aerobik mikroorganizmalar daha çok toprakta bulunması gerekmektedir. Bakteriler kirli

toprak içinde düşük oksijen seviyesinde yaşayabildiğinden dolayı en çok bulunan türdür [84].

Bir diğer unsur olan sıcaklık biyolojik parçalanmanın gerçekleşmesini etkiler. Mikrobiyolojik faaliyetlerin 10 ºC'den düşük olduğu ortamlarda çok azaldığı gözlemlenmektedir. Petrollü hidrokarbonları parçalayan mikroorganizmaların faaliyetlerinin 45 ºC'den yüksek olduğu durumlarda da azaldığı gözlemlenmiştir. Arıtımın bitiş süresi 6 ay ila 2 yıl arasında gerçekleşmektedir [86].

2.2.4.4 Biyoremediasyon Avantaj ve Dezavantajları

Biyoremidasyonun teknik olarak gerçekleşmesi için biyolojik iyileştirme metotlarının uygun mantar, bakteri, maya ve alglere uygun yaşam koşullarının sağlanması sağlanabilir. Biyoremediasyon metodu klasik yakma ve depolama yöntemlerine göre, farklı organik ve inorganik bileşiklere çalışma, yerinde veya yerinde olmayan arıtma, bakım ve uygulama kolaylığı, az maliyet, göze güzel gelme, çevre faaliyetlerine saygılı olan, daha az atık oluşturma gibi birçok avantaja sahiptir [87], [88].

Bunların yanında toprağı iyileştirmenin uzun yıllar alması ve iklim şartlarına bağlılık önemli dezavantajlar olarak gösterilebilir. Aynı zamanda biyoremediasyon aşamalarında mikroorganizmaların kullanımına dair dezavantajlarda söz konusudur. Seçilen mikroorganizmanın faaliyetlerini geliştirmek amacıyla enjekte edilen katkı maddeleri aynı zamanda diğer bazı mikroorganizmaları olumsuz etkilemektedir [87].

Mikroorganizmalar genetik olarak değişseler bile belirli bir süreden sonra çevreye yayılıp ileriki zamanlarda zararlı olabilecek düzeye gelebilir [88].

2.3 Ağır Metallerin Biyoremediasyonunda Mikroorganizma Türlerinin Kullanımı

Genel olarak biyoremediasyon, mikroorganizmanın veya birden fazla mikroorganizma kültürünün kometabolizma hükmüne dayalıdır. Bu proseste, kirleticilerin dönüşümü hücreye çok az verimlilik sağlar veya hiç fayda vermez aynı zamanda bu sebeple proses, yararlı olmayan biyotransformasyon olarak tanımlanır. Birçok çalışma, birçok organizmanın toksik türü ağır metal iyonlarını biyosorbe etmek için doğal bir kapasiteye sahip olduğunu göstermiştir. Üzerinde çalışılan ve ağır metaller için biyoremediasyon tedavilerinde stratejik olarak kullanılan mikroorganizma örnekleri şunları içerir: (1) bakteriler: *Arthrobacter spp., Pseudomonas veronii, Burkholderia spp., Kocuria flava,*

Bacillus cereus ve Sporosarcina ginsengisoli; (2) mantarlar: *Penicillium canescens, Aspergillus versicolor ve Aspergillus fumigatus; (3) algler: Cladophora fascicularis, Spirogyra spp.* ve *Cladophora spp.* ve *Spirogyra spp.* ve *Spirullina spp*.; ve (4) maya: *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida utilis*. [89]–[92].

Prokaryotlar (bakteriler, arkeler) ökaryotlardan (protistler, bitkiler, mantarlar) ayrılır. Hücresel yapı olarak ökaryotlar, çekirdek ve zarla çevrili organelleri yapısında bulundurarak tanımlanmaktadır. Aynı zamanda prokaryotlardaki ribozomun yapısı ökaryotlardakinden küçük olarak tanımlanmıştır. Mikroorganizmanın ökaryot veya prokaryot olması durumunda ağır metal iyonları ile gireceği etkileşimde farklı olacaktır, ökaryotların metal toksisitesine daha uyumludur. Muhtemel birbirleri ile olan etkileşim metotları, (a) metalin aktif ekstrüzyonu, (b) çeşitli metal bağlayıcı peptitler tarafından ökaryotlarda hücre içinde bulunan şelasyon ve (c) hafifletilmiş toksisite ile farklı kimyasal çeşitlere dönüşümdür. Biyoremediasyonun etkisinin arttırılması için mikroorganizmaların kirleticilere enzimatik olarak saldırması ve onları zararsız ürünlere dönüştürmesi gerekir. Bakteriler ve daha yüksek organizmalar, toksik metallere karşı direnç ve onları zararsız hale getirme ile ilgili mekanizmalar geliştirmiştir. Aerobikler, anaerobikler ve mantarlar dahil olmak üzere çeşitli mikroplar, enzimatik bozunma sürecine dahil olur. Biyoremediasyon sistemlerinin çoğu aerobik koşullar altında yürütülür, ancak anaerobik koşullar mikrobiyal organizmaların başka türlü inatçı molekülleri parçalamasına olanak tanır. Kirlenmiş bir alanda birkaç farklı türde kirletici bulunabileceğinden, etkili iyileştirme için çeşitli mikroorganizma türleri gereklidir. Bazı mikroorganizma türleri, petrol hidrokarbonlarını parçalayabilir ve bunları bir karbon ve enerji kaynağı olarak kullanabilir. Bununla birlikte, kullanılan organizmaların seçimi, kirletici maddelerin kimyasal doğasına bağlı olarak değişkendir ve yalnızca sınırlı sayıda kimyasal kirletici varlığında hayatta kalabildikleri için dikkatli bir şekilde seçilmeleri gerekir. Bozunma işleminin verimliliği, belirli bir mikroorganizmanın hidrokarbona moleküler oksijen verme ve daha sonra hücrenin genel enerji veren metabolik yoluna giren ara maddeleri üretme potansiyeli ile ilgilidir. Bazı bakteriler kontaminantı arar ve kemotaktik yanıt olarak esnek bir potansiyel sergiledikleri için ona doğru hareket ederler. Biyoteknolojinin ağır metallerin arıtılmasına uygulanması nispeten yeni bir konudur. Mikroorganizmaların ağır metalleri yakalama süreçleri, özellikle metabolizma ve detoksifikasyon yolları hakkında daha iyi bir anlayış birikmiştir. Ağır metal kontaminasyonu ile ilgili çevresel problemlerle başa çıkmada

maksimum verimlilikle çözüme yardımcı olabilir. Biyoteknolojik yaklaşımdan kaynaklanan değişiklikler, biyoliç, biyoekstraksiyon, biyosorpsiyon, biyoenkapsülasyon ve biyoremediasyonu içerir. Bu bağlamda, genetik mühendisliği, bu mikroorganizmaların metabolik yollarını modüle etmek ve modüle edilmiş aktivite ile metallerin toksik etkisini engellemek için temel bir yaklaşımdır. Modifiye edilmiş mikroorganizmalar, bazı reaksiyonlarla inorganik formu organik forma çevirebilir, örneğin metalleri oksidasyon-redüksiyon indirgeme yoluyla dönüştürerek çözünürlüğü artırabilir. Mikroorganizmaların, ağır metallerin çözünürlüğünü içeren faktörler yoluyla direncini artırmak için modifiye eden mikroorganizmalar tarafından çözünürlüğün arttırılmasının yanı sıra, diğer faktörlerle etkileşimleri (örneğin, kompleksleşme reaksiyonları, pH'daki değişiklikler, sorpsiyon, çöktürme, biyobirikim ve kapsülleme) çözünürlüğün artmasına neden olur veya ağır metalleri çevrede inert hale getirir. Mikroorganizmaları değiştirmek ve hızlandırılmış büyüme, aşırı çevre koşullarına ve pH değişimlerine tolerans ve düşük maliyetli yetiştirme gibi ilginç özellikler elde etmek için genetik mühendisliği uygulanabilir. Son çalışmalar, bazı mantarların (örn. *Aspergillus ve Penicillium*) ve bazı mayaların (örn. *S. cerevisiae*) belirli ortamlardan ağır metalleri uzaklaştırma yeteneğini göstermiştir. *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Saccharomyces boulardii, Enterococcus faecium ve Staphylococcus aureus* türleri de su kütlelerinden ağır metallerin uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Hücre yüzeyinde metal birikimi süreci, hücre yüzeyinin karakteristiğinin yanı sıra mikroorganizmanın metabolik aktivitesine de bağlıdır ve biyoakümülasyon olarak bilinir. Metal iyonlarının, hücre yapısının düzgün çalışması için gerekli olan proteinlerle etkileşime girerek metabolik fonksiyonlarını etkilediği kaydedilmiştir. Mikroorganizmaların metabolik yapısının iyileştirilmesine izin veren, metallerin yüksek düzeyde birikmesini sağlayan veya metallerin toksisitesini azaltan genetik mühendisliği, böylece su kütlelerinin dekontaminasyonunu teşvik eder [46]–[48], [92]–[96].

2.3.1 Biyoremediasyon Süreçlerinde Bulunan Mikroorganizmalar

Öncelik sıralarına göre mikroorganizmalar bakteriler ve mantarlar doğanın sirkülasyonunda önemli bir geri kazanım birimleridir. Yıllar geçtikçe biyoremediasyona katkı sağlayacak yeni mikroorganizmalar keşfedilmektedir. Araştırmalar sonucu biyoremediasyondaki faydalı görevleriyle istenileni verecek daha birçok mikroorganizma bulunacaktır.

Örneğin *Geobacter metallireduces* adlı bakteri türü radyoaktif atıkları, madenlerde gerçekleştirilen işlemler sonucunda meydana gelen kirletici maddeleri ve drenaj sularında bulunan kirletici kaynakları ve yeraltı sularında bulunan metallerin arıtımında kullanılmaktadır [97].

Algler ve bakteriler yüksek konsantrasyonlarda toksik olan metallere karşı antikor üretip metallerin arıtılmasında rol alırlar.

Sülfür bileşiklerini redükte edebilen *Thiobacillus sp*. ile biyoremediasyon 15-55°C arasında asidik (pH=4) ve aerobik ortamda gerçekleştirilir. Metal sülfitlerin okside olarak sülfürik asit oluşturması ve topraktaki metallerin yerine pozitif yüklerin bağlanması ile metallerin desorbe edilmesiyle gerçekleşebildiği gibi, Fe^{+2}'nin Fe^{+3}'e dönüştürülmesi şeklinde başka yollarla da gerçekleştirilebilmektedir. Çeşitli fizibilite araştırmaları, kirlenmiş toprakların *Thiobacilli sp.* tarafından etkin bir şekilde arıtımın gerçekleşebileceğini göstermektedir [98].

Yapılan bir diğer araştırmada radyoaktif elementler ve toksik ağır metallerle kirlenmiş toprakların mikroflora faaliyeti, özellikle de sülfit minerallerini okside edebilen asidofilik kemolitotrofik bakterilerin faaliyeti, toprağın oksijen, su ve bitki besin maddesi içeriği gibi önemli çevresel şartlarda uygun değişiklikler yapılarak artırılmıştır. Toprağın belirli bir zaman aralığı ile yıkanmasıyla, mikroflora aktivitesi ile çözünür hale geçen metal iyonları topraktan arıtılmış ve uygulama neticesinde topraktaki ağır metal seviyelerinin uygun seviyelere ulaştığı gözlemlenmiştir. Bu aşamalar sonucu toprağın bileşimi, yapısı ve fiziksel özelliklerinde hemen hemen hiçbir değişim olmamıştır ama toprak mikroflorasında asidofilik kemolitotrofik bakterilerin fazlalaşması ve heterotrof sayısının azalması gibi birtakım değişikliklere yol açmıştır. Diğer bir yandan, metal sülfit içeren arıtma çamurlarının da anaerobik arıtma ile arıtılabildiği literatürden bilinmektedir [99].

Örneklerden bir diğeri ise *Aspergillus niger* mantarları tarafından sitrik ve glukonik asitlerin oluşturulmasını içermektedir. Bu asitler, ortamın pH'ını düşürüp (pH=3,5) yakalayıcı madde gibi davranarak metal arıtımını gerçekleştirir. Ancak, ucuz karbon substratlarına, işlemleri yaygın kullanımının sağlanması ve proses maliyetini ucuzlatmak için, ihtiyaç vardır [99].

Biyoremediasyon çalışmalarının mikroorganizmalar tarafından yürütülmesi işlemine 'mikroremediasyon' denir. Son yıllarda topraktaki ağır metallerin giderilmesinde

solucanların kullanımı yaygınlaşmıştır. Topraktaki ağır metallerin solucanlar yardımı ile giderilmesine 'Vermi-remediasyon' adı verilir. Solucanların topraktaki ağır metallere ve kimyasal kirleticilere karşı direnci fazladır. Bu kirletici maddeler solucanların dokularında biyo-akümülatiftir ve bazı özel cinsleri vücutlarında metalleri düzenleyebilme yeteneğine sahip oldukları için kullanılacak olan toprakta metallerin gideriminde kullanılabilir. Araştırmalar sonucunda solucanların kirlenmiş topraklarda bulunan Kadmiyum (Cd), civa (Hg), kurşun (Pb), bakır (Cu), mangan (Mn), kalsiyum (Ca), demir (Fe), çinko (Zn) gibi ağır metalleri vücutlarında depolayıp işleyebildikleri gözlemlenmiştir. Bir diğer araştırmada Avusturalya'da yapılmış bir araştırmada Cu ve Zn kirliliğinin olduğu topraklara aşılanan solucan dokularında bakırın depolandığı ve bakır derişimi arttıkça genç solucanların yaşam yüzdelerinin düştüğü görülmüştür. Ölü mikrobiyal hücreler biyoremediasyonda kullanılabilir [100].

2.3.2 Mikroorganizmalar Tarafından Biyoremediasyon ile İlişkili Mekanizmalar

Biyoremediasyon, biyosorpsiyon ve biyoakümülasyon olmak üzere iki kategoriye ayrılabilir. Biyosorpsiyon, hızlı ve geri dönüşümlü olan pasif bir adsorpsiyon mekanizmasıdır. Metaller, metal ve hücre yüzeyinde bulunan fonksiyonel gruplar arasındaki fizikokimyasal etkileşim (örneğin, iyon değişimi, adsorpsiyon, kompleksleşme, çökelme ve kristalleşme) yoluyla tutulur. pH, iyonik kuvvet, biyokütle konsantrasyonu, sıcaklık, partikül boyutu ve çözeltideki diğer iyonların varlığı gibi çeşitli faktörler metallerin biyosorpsiyonunu etkileyebilir. Hücre metabolizmasından bağımsız olduğu için hem canlı hem de ölü biyokütle biyosorpsiyon için oluşabilir. Öte yandan, biyolojik birikim, pasif alımın yalnızca sınırlı ve çok iyi tanımlanmamış bir rol oynadığı hücre içi ve hücre dışı süreçleri içerir. Bu nedenle, canlı biyokütle yalnızca biyobirikim için oluşabilir. Mikroorganizmaların Biyoremediasyon ile ilgili süreçleri Tablo 2.4'de gösterilmektedir [80], [92], [101]–[104].

Tablo 2.4 Biyoremediasyonda mikroorganizmaların süreçleri ve mekanizmaları

Mikroorganizmalar **(Mantar, Mikroalg, Bakteri, Maya)**	
Mekanizma Biyosorpsiyon	Mekanizma Biyoakümülasyon
Pasif Prosesler	Aktif prosesler
Ölü ve canlı hücrelerin biyokütlesi	Canlı hücrelerin biyokütlesi

Genel olarak biyosorpsiyon prosesi, biyokütlenin endüstriyel atıklardan elde edilebilmesi ve birçok döngüde yeniden üretilip tekrar kullanılabilmesi nedeniyle ucuz maliyet gerektirmektedir. Öte yandan biyoakümülasyon, yeniden kullanımın sınırlı olduğu canlı hücrelerin varlığında gerçekleştiği için pahalı bir maliyet gerektirir. Ayrıca, dikkate alınması gereken önemli faktörler arasında metallerin seçiciliği ve yenilenme potansiyeli yer alır. Biyosorpsiyondaki seçicilik genellikle düşüktür çünkü bağlanma sadece fizikokimyasal etkileşimle gerçekleşir. Biyokütlenin modifikasyonu ile arttırılabilir. Yine de biyoakümülasyon içeren prosesler genellikle biyosorpsiyon içeren proseslerden daha iyi performans gösterir [92], [105].

Bir mikroorganizmanın hücre duvarının yapısı, karboksil, imidazol, sülfidril, tiyoeter, fenol, karbonil, amid, ester sülfat, amino ve hidroksil dahil olmak üzere yüksek sayıda yüklü fonksiyonel gruplara sahip polisakkaritler ve proteinler gibi çeşitli makromoleküller içerir. Çözeltide bulunan pozitif yüklü metal bu fonksiyonel gruplara doğru çekilir ve adsorpsiyon gerçekleşir. Mikroorganizmaların yetiştirildiği form, hücre duvarı bileşimini etkileyebilir ve bu, mikroorganizmaların adsorpsiyon kapasitesini geliştirmek için kullanılabilir. Bakteriler, hücre duvarlarında bulunan ketonlar, aldehitler ve karboksil grupları gibi fonksiyonel gruplar yoluyla ağır metalleri atık sudan uzaklaştırabilir ve böylece daha az kimyasal çamur üretir. Metallerin alımı için hem gram-pozitif hem de gram-negatif bakteriler kullanılır. Yeşil, kırmızı ve kahverengi algler de biyosorbent olarak kullanılır. Karboksil grupları ve sülfat gruplarının üronik asitleri, ksilanlar, galaktanlar ve aljinik asit gibi bakterilerde bulunan bazı fonksiyonel maddeler iyon değişimi yapma yeteneğine sahiptir. Algleri biyosorbent

olarak kullanmanın avantajı, bakteri veya mantar gibi diğer mikroorganizmaların aksine genellikle toksik maddeler üretmemeleridir [101], [105]–[109].

Adsorpsiyon için mantarlar ve mayalar da kullanılır. Mantarların en büyük avantajı, mantarlardan mikroskobik küflere kadar boyutları oldukça değişkendir. Büyümeleri ve biyokütle üretmeleri kolaydır. Mantarların hücre duvarları, örneğin amin, imidazol, fosfat, sülfat, sülfhidril ve hidroksil grupları içeren polisakkaritler ve glikoproteinler açısından zengindir. Bununla birlikte, mayaların hücre duvarları, %90'dan fazla polisakkaritlerden oluşan mikrofibriler bir yapı içerir. Bu duvarlarda bulunan ana gruplar amin, hidroksit, karboksil, sülfat ve fosfat gruplarıdır [92], [110], [111].

Çoğu ağır metal biyolojik olarak parçalanamaz ve mikroorganizmada birikme eğilimindedir. Maruz kalma derecesi, metal konsantrasyonu, sıcaklık ve tuzluluk gibi çeşitli faktörler metal birikimini etkiler ve bu nedenle biyoremediasyonda birikimin nasıl meydana geldiği hakkında ayrıntılı bilgi elde etmek zordur. Birikme süreci karmaşıktır ve metal konsantrasyonu tarafından düzenlenen metabolizma yoluna göre değişir. Tablo 2.5'te, biyosorpsiyon ve biyobirikim süreçleriyle ilgili ana parametrelerin karşılaştırmasını göstermektedir [92], [112]–[118].

Tablo 2.5 Biyosorpsiyon ve biyobirikim süreçlerinin karşılaştırılması

Özellikler	Biyosorpsiyon	Biyoakümülasyon
Maliyet	Genellikle düşük. Endüstriyel atıklardan biyokütle elde edilebilir. Çoğunlukla nakliye ve biyosorbent üretimi ile ilgili maliyet vardır.	Genellikle yüksek canlı hücrelerin varlığında gerçekleştiği için maliyeti vardır.
pH	Çözelti pH'ı, ağır metallerin sorpsiyon kapasitesini güçlü bir şekilde etkiler. Bununla birlikte, işlem geniş bir pH aralığında gerçekleşebilir.	pH'daki önemli değişiklik, canlı hücreleri güçlü bir şekilde etkileyebilir.
Seçicilik	Düşük. Ancak bu, modifikasyon/biyokütle dönüşümü ile arttırılabilir.	Biyosorpsiyondan daha iyi seçicilik vardır.

Tablo 2.5 Biyosorpsiyon ve biyobirikim süreçlerinin karşılaştırılması (devamı)

Giderim verimi	Çoğu mekanizma hızlı bir şekilde giderim gerçekleşir.	Hücre içi birikim uzun zaman aldığından daha yavaş hızda gerçekleşir.
Rejenerasyon ve yeniden kullanım	Biyosorbentler birçok döngüde rejenere edilebilir ve tekrar kullanılabilir.	Yeniden kullanım, hücre içi birikim nedeniyle sınırlıdır.
Metallerin geri kazanımı	Yeterli bir elüsyon ile ağır metallerin geri kazanımı mümkündür.	Mümkün olsa bile biyokütle başka amaçlar için kullanılamaz.
Enerji talebi	Genellikle düşük	Hücrelerin büyümesi için gereklidir.

2.3.3 Mikroorganizmaların Metal Alım Kapasitelerine İlişkin Hususlar

Metalin biyokütlenin belirli bir bölgesine bağlandığı yol, bir biyoremediasyon işleminin verimliliği ile ilgili olarak büyük önem taşır. Örneğin, tortu gözenek sularındaki serbest metal iyonlarının genellikle metallerin biyoyararlanımı en yüksek şekli olarak kabul edilmesine rağmen, mikroorganizmalar tarafından tortuların yutulması metallere maruz kalmanın ana yolu olarak kabul edilir. Böylece metal birikimi mikroorganizmaların beslenme davranışlarından etkilenir. Ağır metallerin yutulmasından sonra, potansiyel toksik etkilerden kaçınmak için bir metal atılımı ve/veya detoksifikasyon süreci başlar. Ancak mikroorganizmalar, detoksifiye edilmiş formlarda depolandıklarında metallerin varlığının toksik etkilerinden etkilenmezler. Ayrıca, metal-biyokütle etkileşimi, oksijen içeren veya S- ve N-içeren ligandlara bağlanabilen metal tipine bağlıdır. Bu, ilgili mekanizmalara basit bir genel bakış olsa da mikroorganizmalar tarafından metal alımının etkinliği ile ilgili yeni yaklaşımlar önermek için bir başlangıç noktası görevi görebilir [92], [104], [114].

Aksi takdirde, mikroorganizmalar MT'ler veya PC'ler gibi metal bağlayıcı proteinleri sentezleyebilir ve proteinler, metal adsorpsiyon, birikim ve direnç kapasitesi ile güçlü bir şekilde ilişkilidir. Özellikle, metalloproteinler, bu proteinlerin büyük bir grubudur ve

esas olarak hücrelerdeki metal miktarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynarlar [92], [104].

Hücre zarının dışında bulunan metal bağlayıcı proteinler, çözeltide bulunan metal iyonlarını çeker ve metal şaperonların (özel protein şelatörleri) metalleri uygun reseptör proteinine aktardığı sitozole taşınmaya yardımcı olur. Metal bağlayıcı proteinlerin bağlanma bölgeleri, genetik teknik kullanılarak heterolog metal proteinler gibi diğer proteinlere iyileştirilmiştir [92], [104], [119].

2.4 Ağır Metal Biyoremediasyonunda Mantarların Kullanımı

Biyoremediasyonda mantar türlerinin uygulamaları, mantar ıslahı veya mikoremediasyon olarak iyi bilinmektedir. Mantarlar, amilaz, proteaz, lipaz, nükleaz gibi hücre duvarlarını, proteinleri, lipitleri, DNA'yı ve diğer organik maddeleri parçalayan çeşitli enzimler üreterek biyokütle kalıntılarını ve kimyasal kirleticileri ayrıştırır. Bu mantarlar, organik atık maddelerin biyotransformasyonunda ve kirleticilerin ortamdan uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Mantarlar, kimyasal modifikasyon yoluyla ve/veya kimyasal biyoyararlanımı etkileyerek enzimleri ve diğer kimyasalları salgılayarak organik kimyasalları, metalleri, metaloitleri ve radyonüklidleri parçalayabilirler. Sürekli olarak farklı koşullarda hayatta kalmayı da benimsemiştir. Mantarlar, çeşitli çevresel kimyasalları metabolize etme ve herhangi bir ek beslenmeye ihtiyaç duymadan hayatta kalmak için ürününü kullanma konusunda yetkindir. Çeşitli kirleticilerle birlikte lignoselülozları ayrıştırmak için kirleticileri birkaç hücre dışı oksidoredüktaz yoluyla bozar. Mantarlar, mikosferdeki metalleri, metaloidleri ve radyonüklidleri metabolize eder ve hareketsizleştirir, hücrenin çeşitli kısımlarında depolar veya mantar hifleri yoluyla yer değiştirir. Bu özellikler, mantarların toprak, su ve havadaki organik veya metal kirleticileri uzaklaştırmak için potansiyel aday olmalarını sağlar ve uygun maliyetli ve doğa dostu yöntemlerle biyoremediasyon için kullanılabilir [120]–[122].

Mikoremediasyon, çevreden toksik uzaklaştırma için mantarların kullanımına dayanan biyolojik prosedürdür. Bu teknik genellikle biyosorpsiyon, adsorpsiyon, biyobirikim/biyovolatilizasyon veya biyolojik bozunma süreçlerini içerir. Biyosorpsiyon, toksinlerin inaktif biyolojik materyaller veya türevleri tarafından pasif olarak alınmasından oluşur. Herhangi bir biyomalzemenin bir biyosorbent olma potansiyeli, biyokütlenin doğası, konsantrasyonu, pH ve iyonik kuvveti ile belirlenir.

Adsorpsiyon, belirli bir yüzeye (fungi biyokütle) fiziksel yapışma veya bağlanma olarak tanımlanabilir. Toksinlerin canlı hücrelere hücre içi alımı gerçekleştiğinde, süreç, toksinlerin kimyasal dönüşümlerinin genellikle uçucu olan metillenmiş veya alkile edilmiş ürünlerle sonuçlandığı biyoakümülasyon olarak bilinir. Gaz halindeki bileşiklerin hücrelerden çevreye salınması biyovolatilizasyon olarak bilinir. Dahası, biyolojik bozunma, bir maddenin enzimatik reaksiyonlarla yeni bileşiklere dönüşümlerini gerçekleştirmek için canlı organizmaların kullanılmasıdır. Bu mikroorganizmalar tehlikeli kontaminantları daha az zararlı bileşiklere kimyasal olarak değiştirebildikleri için mantarlar iyileştirme için kullanılabilir [123]–[126].

2.4.1 Biyoremediasyon İçin Mantar Enzimleri

Birçok mantar türü aynı veya benzer enzimleri üretebilme özelliğine sahiptir. Bu da mantar türleri farklı da olsa aynı kirleticileri veya birkaç kirleticiyi aynı anda metabolize etmesine olanak tanır. Örneğin *Phanerochaete chrysosporium* benzen, etilbenzen, ksilen, toluen, organoklorinler, N-heterosiklik patlayıcılar, polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), nitroaromatik bileşikler, pestisitler, sentetik boyalar, poliklorlu dibenzo-p-dioksinler ve sentetik polimerler gibi birçok zararlı kimyasalı parçalayan bir kabuk mantarıdır. Atık materyallerin ve kirleticilerin bozunmasında yer alan başlıca enzim grupları, hücre dışı oksidoredüktazlar, hücreye bağlı enzimler ve diğer transferaz enzimlerini içerir [122], [127].

2.4.2 Mantarların Ağır Metal Giderimindeki Önemi

Kirleticilerin (metaller, metaloidler ve radyonüklidler) arıtımı için kullanılan mantarlar morfolojik, ekolojik ve biyokimyasal özelliklere göre gruplandırılır. Doğa ve toprakta toksik metallerin birikmesi, metal cevherlerinin çıkarılmasından metal içeren tehlikeli maddelerin nihai bertarafına kadar, metalik maddelerin yaşam döngüsünün farklı aşamalarında katılması ile gerçekleştirilir. Metallerin jeoteknik kaynaklardan, tarım alanlarından ve tarımsal alanların hasat sonrası yakılması sonucu serbest hale geçerek sulara ve atmosfere karışması doğal kaynakların kirlenmesine neden olur. Metallerle kirlenmiş ortam, esas olarak cevher madenleri ve izabe tesislerinin yakınında veya uygun iyileştirmenin yeterli olmadığı bertaraf alanlarında tehlikeli olabilir. Metalik ürünlerin ana riski tamamen parçalanamayan element ile ilişkilidir. Bu nedenle, biyolojik yöntemler metal toksisitesini geri döndürülemez bir şekilde azaltma yeteneğine sahip değildir. Bu tür elementlerden kaynaklanan riskler biyolojik olarak

daha az toksik türlere dönüştürme veya etkilenen biyotadan ayırma yoluyla aşılabilir. Teknolojinin ilerlemesiyle birlikte, değerli metallerin restorasyonu için atık su akımlarından metallerin uzaklaştırılmasına da büyük ilgi çekmiştir. Mikrosferde mobilizasyon ve immobilizasyon, hücre duvarlarına emilim ve mantar hücrelerine alım gibi yöntemlerle gerçekleşir. Metaller, mantara dahil edildikten sonra kimyasal olarak dönüştürülebilir ve hücrenin farklı kısımlarında birikebilir veya mantar hiflerinden simbiyotik bitkiye yer değiştirebilir [122], [128], [129].

2.4.3 Ekstremofilik Mantarlar

Ekstremofilik mantarlar, termo tolerans, pH toleransı ve diğer stres koşullarına dayanıklılık gibi çeşitli benzersiz özelliklere sahip ekstremofilik enzimler üreten endüstriler prosesler için önemlilik arz eden mantarlardır. Atık su arıtma tesisi, endüstriyel atıklardan kaynaklanan yüksek seviyedeki kirleticilerde farklı biyoremediasyon uygulamaları ile mantarları hedefleyen güçlü bir nişe sahiptir. Bu tür özelliklere sahip ekstremofilik mantarlar, ekonomik seviye ve çevre dostu olmanın yanı sıra, gıda endüstrilerinde, tekstillerde ve hayvan yemi hazırlamada hammaddelerin biyo-dönüşümü için daha iyi adaylardır. Psikrofilik bir mantar olan *Cryptococcus sp.* derin deniz çökeltilerinde meydana gelen yüksek miktardaki ağır metalleri (100 mg/L) $ZnSO_4$, $CuSO_4$, $Pb(CH_3COO)_2$ ve $CdCl_2$'ye tolere etme kabiliyetine sahiptir. Birkaç hidrolitik enzim ayrıca ekstremofilik koşullarda aktivite sergiler ve petrol kuşaklarının yüksek tuzluluk ve ekstra ağır ham petrol (ECHO) kontaminasyonu gibi stres koşulları altında iyileştirme yöntemlerine katılır. Aşırı ortam altındaki lakkaz aktivitesi, Pestalotiopsis palmarum'da buğday kepeği varlığında biyoremediasyon işlemlerinde kullanılır ve lignin peroksidazlar, karbon ve enerji kaynağı olarak ekstra ağır ham petrolden üretilir. Psikrofilik bir mantar olan Lecanicillium muscarium'dan elde edilen kitinazlar gibi enzimler, insektisitlerin aktivitesini arttırmak için kullanılır. Ekstremofilik mantarların, Antarktika'nın Erebus Dağı'nda fumarolik buz mağaralarına sahip derin biyosfer habitatı gibi aşırı ortamlardan biyoremediasyon süreçleri için izolasyonu, bu tür aşırı yerlerde insan kontaminasyonunu iyileştirmek için enerji kaynağı olarak kullanılan diğer benzersiz mantarları karakterize etmek için de kullanılır [122], [130], [131].

3
MATERYAL-METOT

Bu bölümde besiyeri, besiyeri hazırlama teknikleri ve Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile ilgili tanımlayıcı ve öğretici notlar bulunmaktadır. Bir sonraki konu başlığında deneysel çalışma düzeneği aşamaları adım adım açıklanmıştır.

3.1 Besiyeri ve Besiyeri Hazırlama

Canlılar büyümek, üremek ve gelişmek için besine ihtiyaç duyarlar. Her canlının besin gereksinimi birbirinden farklıdır. Besin isteklerinin değişim göstermesi, mikroorganizmaların genetik yapılarının ve enzim sistemlerinin birbirinden farklı olmasının bir sonucudur.

Besiyerleri (besi ortamı, kültür ortamı) mikroorganizmaların yapay ortamlarda hızlı bir şekilde geliştirmek için oluşturulan mikroorganizmaların tüm besi ihtiyaçlarını karşılayan ortamlardır.

Bu ortamlar mikroorganizmaların;

- İzolasyonu
- Üretilmesi-çoğaltılması-saflaştırlması
- Duyarlılık testleri
- Sterilite kontrolleri
- Gıda su ve çevre kontrolleri
- Endüstriyel ürün elde edilmesi
- Antibiyotik analizleri vb. amaçlarla kullanılabilir.

Bu araştırmada sadece mantarların üreyebileceği seçici (selektif) besiyerlerini sıvı ve katı fazlarında cansız besiyeri olarak hazırlayıp bu besiyerinde hızlı üreyen mantar türlerini izole ederek sentetik atıksulardan ağır metal giderimi yapılmıştır.

Besiyerleri hazırlanırken aşağıdaki adımlar takip edilebilir:

Cam malzeme Seçimi: İyice yıkanıp, destile sudan geçirilir. Ardından kırık veya çatlak olup olmadığına bakılır. Yapılacak işleme göre beher glass ya da erlen mayer şişeleri

kullanılır. Çoğu zaman besiyeri hacminin iki katı büyüklüğünde cam malzeme tercih edilir. Sıvı besiyerlerinde ise sıvının cam malzemenin hacminin yaklaşık ¾ ü olması istenir.

Hesaplama: Hazırlanması istenen besiyeri miktarı tespit edilir. Besiyeri için ihtiyaç duyulan maddeler belirlenir. Ardından orantısal hesaplama yapılır. Gereken destile su miktarı için mezür kullanılır.

Tartım ve Eritme: Hassas terazinin hatasız tartım yapabilmesi için, kalibrasyon kontrolü yapılmalıdır. Tartım esnasında hava akımı olmamalıdır. Bununla birlikte tartım kağıtları ve spatülün temiz olmasına dikkat edilmelidir. Toz besiyerlerinin kapakları uzun süre açık bırakılmamalıdır. Bu maddelerin temasından ve solunmasından uzak durulmalıdır. Tartım yapılırken hassas terazi de temiz olmalıdır, gerekiyorsa %70'lik etanollü gazlı bez yardımıyla silinebilir.

Tartılan maddeler tek tek cam kap içine konur ve destile su eklenir. Kaba yapışan malzemeler karıştırılır ve eritilir. Gerekirse manyetik karıştırıcılar kullanılabilir.

Katı besiyeri hazırlanıyor ise agar eklendikten sonra agarın erimesi ve homojen biçimde dağılımı sağlanmalıdır. Buharlaşmanın önüne geçmek için alüminyum folyo ile kaplar kapatılabilir. Besiyerinin taşmaması ya da yanmaması gerekir.

pH Ölçümü: Bu ölçüm oda sıcaklığında (25 °C) yapılır. HCl ve NaOH kullanılır. Çözeltilere ara ara bakılarak bulanıklık kontrolü yapılmalıdır. Katı besiyerleri için pH ayarı agar eklenmeden önce yapılır. Sıvı besiyeri için manyetik karıştırıcılar ile pH metre probu zarar görmeyecek biçimde karıştırılır ve ölçülür. Bu sırada Pasteur pipeti ile akıtma gerçekleştirilir. İstenen pH sağlanıncaya kadar işleme devam edilir. Ölçümlerden önce pH metre kalibrasyonu kontrol edilmelidir. Prob yıkanmalı ve ucunun kurumasına engel olunmalıdır.

Taksimat: pH ayarlamalarının ardından katı besiyerleri tüplere, sıvı besiyerleri tüplere ve erlen mayer şişesine taksim edilir. Tüp ve erlen mayer şişesi gazlı bez ve hidrofobik pamuk ile tamponlanır. Dağıtım işlemi ise otoklav sterilizasyonundan sonra gerçekleştirilir.

Sterilizasyon: Hazırlanan malzemeler alüminyum folyo ile kaplanır. 120 °C'de 15 dakika ya da 110 °C'de 25 dakika 1.5 atm basınç altında nemli sıcak hava ile sterilizasyonu sağlanır.

Petri Kutularına Dağıtım: Besiyerleri dairesel hareketler ile karıştırılıp 45 °C'de aseptik şartlar altında sterilize edilmiş petri kutularına besiyeri kalınlığı 2 mm olmak üzere dağıtılır. Dağıtılırken oluşan hava kabarcıkları bunzen beki alevi ile giderilebilir.

Petri kutusunun kapağında su buharı oluşmamalıdır. Bunu sağlamak için aşılama kabini kapağı aralarda açılarak kurutma işlemi gerçekleştirilebilir.

Besiyerleri +4 °C'de buzdolabında ters biçimde korunabilir. Depolama uzun zaman boyunca ise kurumanın önüne geçmek adına kutular alüminyum folyo ile kaplanabilir.

Tüplerde Katı Besiyerlerinin Dondurulması: Besiyerleri 45 °C'ye geldiğinde otoklavdan alınır. Agar hazırlığı varsa yatay ve yerden 1 cm yüksekte olacak biçimde bekletilir. Dik agar hazırlığı varsa besiyerlerinin donması beklenir.

Besiyerlerine Katkıların İlavesi: Otoklav sterilizasyonu esnasında vitamin, protein, antibiyotik vb. maddeler bozulabilir. Bozulduktan sonra milipor filtrasyonu ile sterilizasyonu sağlanır. Ardından sıvı ya da katı besiyerlerine eklenerek karıştırılır [132]–[134].

3.1.1 Besiyeri Bileşimine Giren Başlıca Maddeler

Besiyerleri bileşimine giren maddeler tek tek tartılarak ya da gama radyasyonla sterilize hale getirilmiş hazır dehidrate formlardan doğrudan tartılıp destile su içinde çözülerek besiyeri hazırlanır.

Sıvı örneklerde mikroorganizma varlığını ya da sayısını öğrenmek için milipor filtreler kullanılabilir. Ardından kullanılmış filtre kâğıdı kurutulur ve destile su ile ıslatılır, sterilize edilmiş besiyerlerine konur, inkübasyona kaldırılır. Besiyerleri besin maddeleri ve suyu kapsar. Mikroorganizmaların oluşması için enerji, karbon ve azot kaynağı, mineraller, üreme faktörleri ve suya ihtiyaç vardır. İstenmeyen mikroorganizmalar olduğunda inhibitörler besiyerlerine eklenebilir.

Karbonhidratlar besiyeri için karbon ve enerji kaynağıdır.

Aminoasitler, peptonlar ya da amonyum fosfat ise azot kaynağıdır.

Mikroorganizmaların çoğalması için magnezyum, sodyum, potasyum, demir gibi minerallere ihtiyaç duyulur.

Üreme faktörüne örnek olarak; aminoasitler ya da vitaminler verilebilir. Bunlar mikroorganizmaların kendiliğinden üretemeyip dışarıdan aldığı maddelerdir.

Genel olarak besiyeri bileşimine giren maddeler aşağıdaki gibi sıralanabilir:

Peptonlar, Maya özütü, Et özütü, Malt özütü, Agar, Karbonhidratlar, Tuz, Tampon maddeler, pH indikatörleri, İnhibitör maddeler, Su [132]–[134].

3.1.2 Genel Besiyeri

İsminden de göründüğü gibi pek çok mikroorganizmanın gelişiminin sağlanması adına ihtiyaç duyulan besini yeterli miktarda bulunduran, inhibitör içermeyen, rutin olarak kullanılan esas ya da basit besiyerleridir. Bu besiyerleri;

- İzolasyan
- Sayım
- Canlandırma besiyerleri
- Farmasötik bir preparatta sterilite kontrolü
- Gıda maddelerinde bozulma kontrolü
- Enfektif mikroorganizma oluşumu alanlarında kullanılabilir.

Genel besiyerlerine proteince yoğun maddeler (süt, yumurta, kan vb.) eklenir. Böylece mikroorganizma gelişimi daha elverişli hale gelir ve zenginleştirilmiş besiyerleri hazırlanabilir. Bakteriler için peptonlu su ve agar karışımı, mantarlar için ise "Malt extract agar" genel üretim besiyerleridir. "Kanlı Agar" ilave edildiğinde ise bakteri gelişimi hızlanır ve hemoliz özelliğinin tespitini sağlamada kullanılır [132]–[134].

3.1.2.1 Özel Besiyeri

Mikrobiyolojik alanda özel bir amaç ya da tek bir mikroorganizma için kullanılır. Özel maddeler ve indikatörler barındırabilir.

- Özgül Besiyerleri: Sadece tek bir cinsin üretilmesi amacıyla kullanılır.
- Seçici Besiyerleri: Karışık bir kültürde istenmeyen mikroorganizmaların gelişimini engelleyen ve öbürünün üremesine yardımcı olan maddeler ile hazırlanır. Antibiyotik, boya eklenmesine bağlı olarak seçilir.
- Ayırt Edici Besiyerleri: Mikroorganizma karakterine göre kimyasal reaksiyon oluşumuna neden olan maddeleri kapsar.
- Hem Ayırt Edici Hem Seçici Besiyerleri: Seçici ve ayırt edici besiyerlerinin özelliklerini taşıyan ve bir arada gösteren besiyerleridir [132]–[134].

3.1.2.2 Besiyerinin Sahip Olması Gereken Özellikler

Yeterli seviyede su bulunmalıdır, su aktivitesi yüksek olmalıdır.

- Mikroorganizmaların ihtiyaçlarını gidermeyi sağlayacak düzeyde besin maddesi olmalıdır.
- Uygun pH dengesi sağlanmalıdır.
- Fiziksel özellikleri uygun olmalıdır.
- Osmotik basıncı, indirgenme/yükseltgenme potansiyeli mikroorganizmalara uymalıdır.
- Sterilizasyon tam anlamıyla sağlanmalıdır.
- Ekim öncesi sterilizasyon hazırlığı yapılmalı ve sterilizasyon uygulamasına özen gösterilmelidir.
- Dış ortamdaki mikroorganizma kontaminasyonundan korunmak için özel kaplar kullanılmalıdır [132]–[134].

3.2 Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

1955 yılından sonra ortaya çıkmaya başlamıştır. Atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), elektromanyetik dalgaların gaz durumundaki atomların absorpsiyon faaliyeti ile ışığın şiddetinde ne adar azalma olduğunu ölçer. Çoğu zamana ultraviyole ve görünür ışınlar absorplanır.

Herhangi bir elemente ait atomik absorpsiyon spektrumu, temel durumda ve uyarılmış rezonans çizgilerini kapsar. Özellikle temel durum ile bir üst enerji durumu arasında bulunan geçiş en güçlü absorpsiyon çizgisi kabul edilir. Oluşturulan absorpsiyon piklerinin hat şeklinde olması istenir.

AAS analizi yaparken ilk olarak element nötral hale, ikinci olarak buhar haline getirilir. Bu adımların ardından elementin elektromanyetik ışın demetinin yoluna dağılmasına ihtiyaç vardır. Bunu gerçekleştirebilmek için, element bir çözeltinin yüksek sıcaklıktaki alev içine püskürtülebilir veya elementi barındıran numunenin karbon numune kabına alınarak kabın elektrik arkıyla akkor durumuna gelmesi sağlanabilir.

Absorbansın gerçekleştiği dalga boyunda birden absorbans sinyali başlar, pik noktasına ulaşır, ardından hızla sıfıra düşer. Bu sayede dar ve simetrik sinyal ortaya çıkar. Oluşan sinyal atomlaşmanın oldukça hızlı olduğunu göstermekle beraber tekrar aynı hız

değerinde atomların ışın yolundan uzaklaşmakta olduğunu gösterir. Bu olayların hepsi saniye ile açıklanacak bir sürede olmaktadır [135]–[137].

AAS cihazı yardımı ile Na, K, Mg, Cr(III), Mo, Ca, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Pb, Zn, Al, Sr, Sb, Li, Hg gibi elementler ppm düzeyinde rahatlıkla belirlenebilirler. Ancak her elementin kendine özgü analiz koşulları vardır. Bu koşullar yerine getirilmediğinde hatalar meydana gelebilir. Doğru sonuçların elde edilmesi cihazın mekanik, optik ve elektronik kısımlarının doğru kullanımına bağlıdır.

Atomik absorpsiyon spektrofotometresi 4 kısımdan oluşur. Bunlar:

- Işın kaynağı
- Atomlaştırıcı
- Monokromatör
- Dedektör

İncelenen element, çok dar dalga boyu aralığında absorbasyon yapmaktadır. Bu sebeple absorpsiyon hattından daha dar emisyon hattı veren spektral kaynak tercih edilmesi tasarımda büyük avantaj sağlar.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde oyuk katot lambalar ve elektrotsuz boşaltım lambaları ışın kaynağı olarak kullanılır [135]–[137].

3.2.1 Atomik Absorpsiyon Spektrometresi ile Demir, Bakır ve Alüminyum Analizi

Atomik absorpsiyon spektrometresi esnasında yapılan metal analizi metal ve metal konsantrasyonuna göre değişiklik gösterir ve her metale uygun yöntemler tercih edilir. Bunların bazıları aşağıda özetlenmiştir.

- Hava- asetilen alevi: bor, kobalt, krom, kalsiyum, bakır, demir, kurşun, gümüş, sodyum, kalay, çinko, magnezyum metalleri için kullanılır
- Azotoksit-asetilen: alüminyum, baryum, kalsiyum, molibden, silisyum gibi metaller için kullanılır
- Soğuk buhar tekniği: cıva için kullanılır.
- Hidrür yöntemi: arsenik ve selenyum için kullanılır.

Demir analizleri 248.3 nm dalga boyunda, bakır analizleri 324.8 nm dalga boyunda ve hava-asetilen yöntemi kullanılarak temiz ve kuru hava oluşturmak için yağ, su ve diğer yabancı maddeleri uzaklaştırabilecek filtrelerden geçirilir. Bu işlem için kompresör kullanılmalı veya gerekli işlemlerden geçerek tüplere konmuş hava kullanılabilir. Asetonun basıncı 689 kPa'a düştüğü zaman asetilen silindirleri değiştirilmelidir. Reaktif hazırlama ve seyreltme için sular metal içermemelidir. Destile suyun analizi yapılan metalden önce bu metalin içeriği kontrol edilmelidir [138].

3.3 Deneysel Çalışma Düzeneği

3.3.1 Taşlardan Örnek Alma

Yıldız Teknik Üniversitesi Davutpaşa Kampüsü'nde eskiden su kanalı kontrol kulesi olarak kullanılan yapı (Mescit), Otağ-ı Hümayun ve Çit Kasrında bulunan tarihi taşlardan yer seviyesinden 2 m yükseklikteki kısımlarından örnekler alınmıştır (Şekil 3.1).

Şekil 3.1 Numunenin alındığı taşlar

Numuneler bisturi yardımı ile taşların nemli ve üremeye elverişli bölgelerinden kalıntılara herhangi bir zarar verilmeden dikkatlice toplanmıştır. Alınan numuneler UV ile steril edilmiş ağzı kilitli poşetlere koyulmuştur (Şekil 3.2).

Şekil 3.2 Alınan numune örneği

3.3.2 Besiyeri Hazırlama

Mikroorganizmaları saflaştırmak için 1 litrelik balon jojeler için Dichloran Rose-Bengal Chloramphenicol Agar (DBRC) besiyeri (31,6g/l) ve Malt Extract Agar (MEA) besiyerlerinden (48 g/lt) belirli ölçüde alınarak mantarlar için uygun besiyerleri hazırlanmıştır (Şekil 3.3).

Şekil 3.3 Tartılan katı besiyerleri

DRBC (31,6 g/1 L) 1 litrelik saf suya 31,6 gr DRBC koyulup iyice karıştırılmıştır.

MEA (48 g/1 L) 1 litrelik saf suya 48 gr MEA koyulup iyice karıştırılmıştır.

Hazırlanan besiyerleri sterilizasyon için 1.5 atm'de ve 121ºC'a ayarlanmış otoklava koyularak 20 dakika steril edilmiştir. 20 dakikalık sterilizasyon koşullarının sağlanması otoklavda yaklaşık 1,5 saatlik bir süre almaktadır.

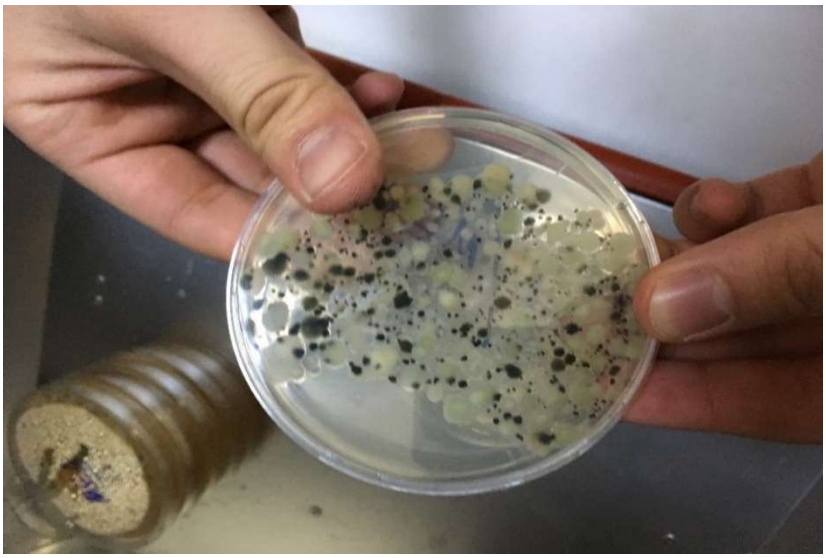
Bu işlemin ardından steril (aseptik) bir ortamın sürdürülebilmesi için ispirto ocaklarının etrafında petri kaplarına dökülmüştür. Petri kaplarındaki sıvının katılaşıp katı besiyeri halini alması için buzdolabında bekletilmiştir (Şekil 3.4).

Şekil 3.4 Ekim için hazır hale gelmiş katı besiyerleri

3.3.3 Numunelerin Ekimi

Taş üzerinden alınan numuneler ekim aşamasına geçilmeden önce tartılarak değerleri kaydedilmiştir.

Seçtiğimiz bölgelerden alınan taş örneklerinin her biri 250 ml olan fizyolojik tuzlu suya koyulup 15 dakika boyunca shakerda iyice karıştırılarak taşlardaki mikroorganizmalar sıvı ortama geçirilmiştir. Karıştırılma işlemi bittikten sonra seyreltilen numunelerin her birinden katı besiyerine 1 ml ekim yapılmıştır. Ekim yapıldıktan sonra 1 hafta üreme gerçekleşmesi için inkübatörde bekletilmiştir (Şekil 3.5). 1 hafta sonra üremesi gerçekleşen örnekler tespit edilerek saflaştırma aşamasına geçilmiştir.



Şekil 3.5 Üreme gerçekleşmiş katı besiyeri

3.3.4 Saflaştırma

Saflaştırma esnasında birçok mikroorganizma türü izole edilmiştir. Bu türler içerisinde kolonilerde görsel olarak en hızlı üreyenler katı besiyerlere alınarak yeniden kültüre edilmiştir. Üremesi iyi olan ve tercih edilen kolonilerden steril hale getirilmiş öze ile örnek alınıp steril ortam şartlarında yeni katı besiyerlerine ekim yapılmıştır. Ekimi yapılan yeni besiyerlerinde üreme gerçekleşmesi için 1 hafta boyunca inkübatörde bekletilmiştir (Şekil 3.6). Böylelikle *Penicillium Jensenii* ve *Penicillium frequentans* saf kültürleri elde edilmiştir.

Şekil 3.6 Saflaştırma sonrası katı besiyerleri

3.3.5 Sentetik Atıksu için Kimyasal Hazırlama

- Demir (II) Sülfat ($FeSO_4$) Hazırlama

$FeSO_4 \cdot 4H_2O$ = 278,02 g/mol

1 mol $FeSO_4$ içinde 55,885 gram demir vardır.

100 mg demir için 0,4978 g ˜ 0,498 g $FeSO_4$ gereklidir. 0,498 g demir sülfat 1 litre saf suda çözündürülerek 100 mg/L demir sülfat çözeltisi hazırlanmıştır. İkinci ve üçüncü analizler için 50 mg ve 200 mg/L demir içerecek şekilde çözelti hazırlandı. 1 litrelik çözelti 250 ml'lik erlenlere dağıtılmıştır.

- Alüminyum Sülfat ($Al_2(SO_4)_3$) Hazırlama

$Al_2(SO_4)_3$. $18H_2O$ = 666,42 g/mol

1 mol $Al_2(SO_4)_3$. $18H_2O$ içerisinde 53,96 gr alüminyum vardır.

100 mg alüminyum için 0,1235 g ˜ 0,1235 g $Al_2(SO_4)_3$. $18H_2O$ gereklidir. 0,1235 g alüminyum sülfat 1 litre saf suda çözündürülerek 100 mg/L alüminyum sülfat çözeltisi hazırlanmıştır. İkinci ve üçüncü analizler için 50 mg ve 200 mg alüminyum içerecek şekilde çözelti hazırlandı. 1 litrelik çözelti 250 ml'lik erlenlere dağıtılmıştır.

- Bakır (II) Sülfat ($CuSO_4$) Hazırlama

$CuSO_4$. $5H_2O$ = 249,7 g/mol ˜ 250 g/mol

1 mol $CuSO_4$. $5H_2O$ içerisinde 63,55 gr bakır vardır.

100 mg bakır için 0,3928 g ˜ 0,393 g $CuSO_4$. $5H_2O$ gereklidir. 0,393 g bakır sülfat 1 litre saf suda çözündürülerek 100 mg/L bakır sülfat çözeltisi hazırlanmıştır. İkinci ve üçüncü analizler için 50 mg ve 200 mg bakır içerecek şekilde çözelti hazırlandı. 1 litrelik çözelti 250 ml'lik erlenlere dağıtılmıştır.

Başlangıç pH'larını değiştirmek için 0,01 M'lık HCl ve NaOH çözeltileri hazırlandı.

3.3.6 Sıvı Besiyeri Hazırlama ve Kimyasaların İlavesi

Sıvı besiyerini hazırlamak için kullanılan ham madde Malt Extract (17,0 g/L) Broth'dur. 1 litre olacak şekilde saf su içinde eritilir sonra, otoklavda 121 ^oC'de 15-20 dakika boyunca sterilize edilir. Hazırlanan sıvı besiyeri berrak ve sarı renktedir. Bir önceki başlıkta gösterilen işlemler doğrultusunda kimyasal çözeltiler besiyerlerine ilave edilmiştir (Şekil 3.7). Böylece sentetik atık su hazırlanmıştır.

Şekil 3.7 Çözelti eklenmiş şekilde sıvı besiyerleri

Besiyeri konsantrasyonunun yarı yarıya ve dörtte bire indirildiği koşullar hazırlanırken 17,0 g/L Malt Extract Broth besiyeri ile içerisine çalışılacak olan ağır metal konsantrasyonunun iki katı kirletici konulmuş ve steril edilmiş sentetik atıksu aseptik (steril) koşullarda besiyerine eklenmiştir. Örneğin ½ oranında seyreltme ile 50 mg/L bakır sülfat çalışılırken 500 ml besiyeri üzerine içerisinde 100 mg/L bakır bulunan 500 ml steril sentetik atıksu eklenmiştir. Böylece 50 mg/L'lik atıksu hazırlanmıştır. Ve 100 mg/L bakır sülfat çalışılırken 500 ml besiyeri üzerine içerisinde 200 mg/L bakır bulunan 500 ml steril sentetik atıksu eklenmiştir.

3.4 Metot

3.4.1 Biyoremediasyon Çalışmaları

Biyoremediasyon işlemi için 17,0 g/L Malt Extract (17,0 g/L) Broth'dan hazırlanmış steril sıvı besiyerine aseptik koşullarda 50, 100 ve 200 mg/L ağır metal (demir, bakır ve alüminyum) eklenerek çalkalayıcıda homojen hale gelinceye kadar 30 dakika çalkalanmıştır. Bilahare saflaştırılmış *Penicillium jensenii ve Penicillium frequentans* mantarlarından ekim yapılarak inkübatöre aktarılarak biyoremediasyon işlemine başlanmıştır. Sıvı besi ortamında gelişen mantarların ortamlardaki metalleri bünyelerine alarak üreyip çoğalmaları ön görülmüştür. En verimli zaman veya zaman aralığını belirlemek adına optimum sıcaklıkta biyoremediasyon çalışmaları yapılmıştır (Şekil 3.8). Biyoremediasyon esnasında belirli aralıklarla 3, 5, 7 ve 10. günlerde numuneler alınmıştır. Alınan numuneler atomik absorpsiyon işlemine gönderilmeden önce analizin

kolay yapılabilmesi ve AAS'nin verimli çalışabilmesi adına seyreltilmiştir. Seyreltilen numuneler atomik absorpsiyon işlemi için laboratuvarda analiz edilmiştir.

Deneysel parametreler olarak sıcaklık, pH, besiyeri konsantrasyonu, ağır metal konsantrasyonu değiştirilerek araştırmalara devam edilmiştir (Şekil 3.9).

pH aralığı olarak pH değeri 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 olarak ayarlanarak deneylere devam edilmiştir. pH ayarlamalarında seyreltik sülfirik asit ve sodyum hidroksit çözeltileri kullanılmıştır.

Besiyeri konsantrasyonu olarak 17,0 g/L normal doz, 1/2 (8.5 g/L) yarım doz ve 1/4 (4.25 g/L) dörtte bir doz oranlarında besiyeri hazırlanarak deneylere devam edilmiştir.

Ağır metal konsantrasyonu olarak 50, 100 ve 200 mg/L aralıkları çalışılmış, 200 mg/L'den sonra üreme azaldığı için deneylere son verilmiştir.

Biyoremediasyon işlemleri sonucunda ne kadar mantar ürediğini (mantarların biyokütlesini) tespit etmek için 10 günlük deneylerin sonucunda sıvı besiyerleri steril edilip soğutulduktan sonra filtrasyon işlemi yapılarak 80 ºC'de kurutularak tartımları yapılmış ve gelişen mikroorganizma kuru ağırlıkları tespit edilmiştir (Şekil 3.10).

Şekil 3.8 Optimum sıcaklıkta ve karıştırma hızında biyoremediasyon

Şekil 3.9 Üreme gerçekleşmiş sıvı besiyerleri

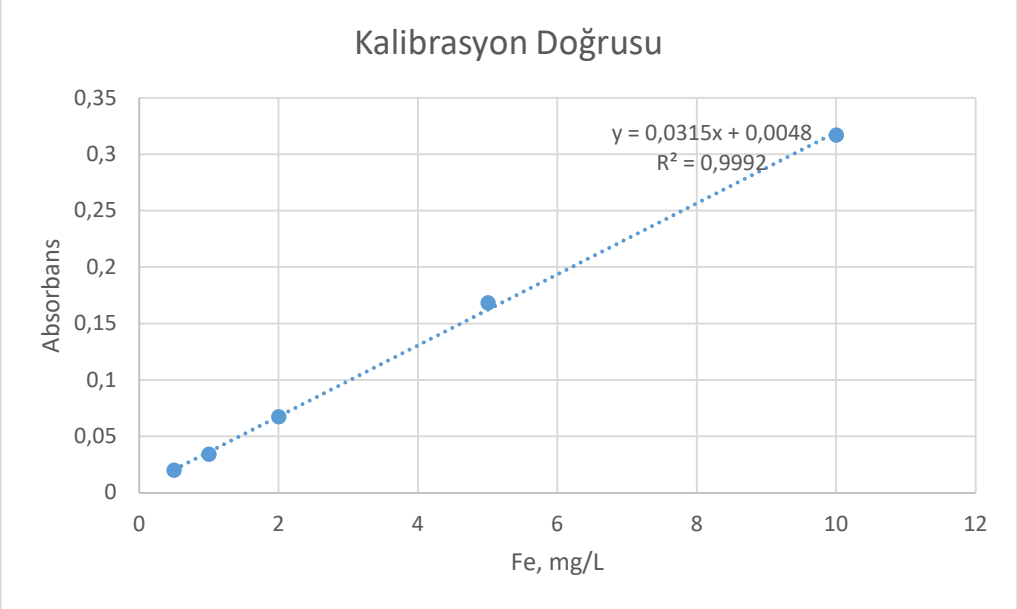
Şekil 3.10 Kuru mantar kütlesi

3.4.2 Demir ve Bakır Ölçümü

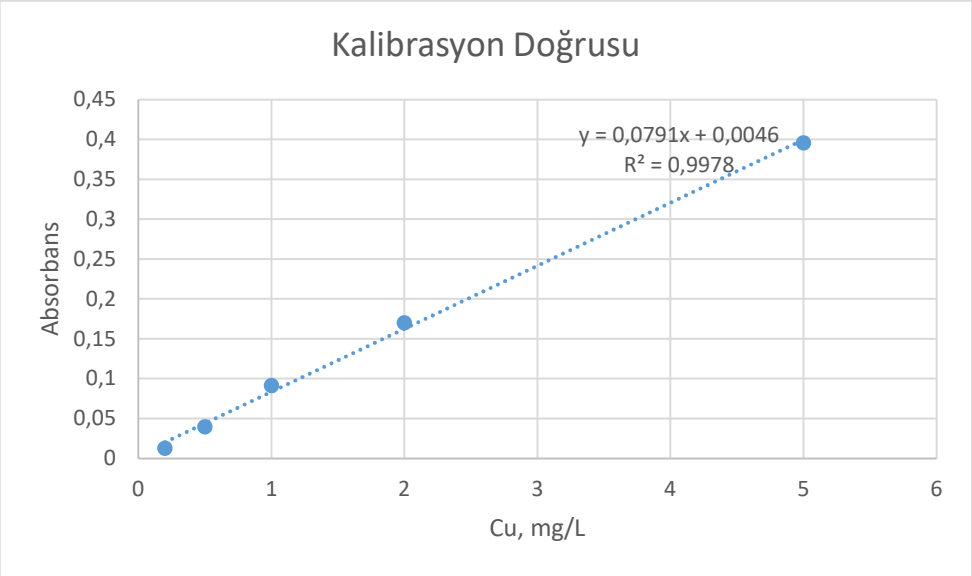
Öncelikle numunelere ön işlem yapılarak saf su ile 2, 5 ve 10 kat seyreltilmiştir. Daha sonra numunelerin absorpsiyon değerleri Atomik absorpsiyon Spektrofotometresi'nde demir ve bakırın dalga boyuna göre ayarlanıp ölçülmüştür.

Atomik absorpsiyon spektrofotometrede absorbans değerleri ölçülerek kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur (Şekil 3.11 ve Şekil 3.12).

Oluşturulan kalibrasyon eğrisi ile demir ve bakırın absorbans değerleri bulunup konsantrasyonları hesaplanmıştır.



Şekil 3.11 Demir için kalibrasyon eğrisi

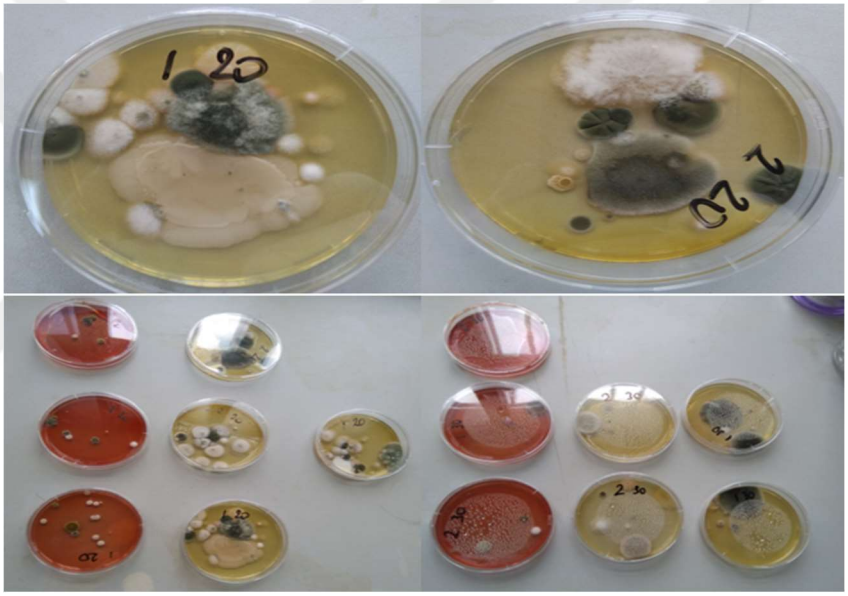


Şekil 3.12 Bakır için kalibrasyon eğrisi

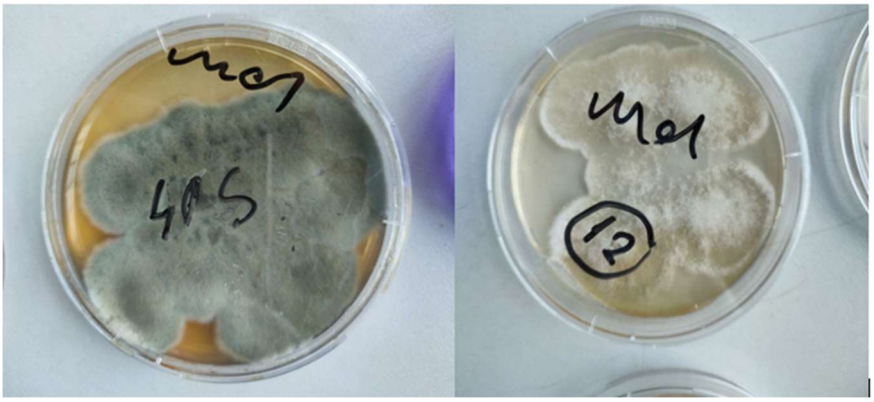
4
BULGULAR

4.1 Mikroorganizma Tür Teşhisi

Bu çalışmamızda taştan alınan örnekler katı besiyerlerine yapılan ekimler sonucunda farklı mikroorganizma türleri gözlemlenmiş olup saflaştırma işleminden sonra baskın olan iki mantar türü ile çalışma gerçekleştirilmiştir (Şekil 4.1). Bu mantar türleri olarak *Penicillium Jensenii* ve *Penicillium frequentans* türleri seçilmiştir (Şekil 4.2). Bu iki mantar türü ile biyoremediasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.1 Üreme gerçekleşmiş katı besiyeri



Şekil 4.2 Üreme gerçekleşmiş katı besiyeri

4.2 Ağır Metal Konsantrasyonunun Biyoremediasyona Etkisi

Penicillium Jensenii ve *Penicillium frequentans* mantar türlerinin biyoremediasyon ile ağır metal giderimini belirlemek amacı ile Fe, Cu, Al kirleticileri değişen konsantrasyonlara bağlı olarak optimum sıcaklıkta araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Biyoremediasyonda kullandığımız ağır metallerin besiyeri ortamında toksik etki yapıp yapmadığını belirlemek ve kontrol etmek için içerisinde hiç ağır metal olmayan (boş) besiyerlerinde *Penicillium jensenii* ve *Penicillium frequentans* mikroorganizmaları üretilmiş ve 10 gün süren deneyler sonucunda tam ve 1/2 besiyeri içeren ortamlardaki biyokütle miktarı ölçülmüştür. Tam ve 1/2 besiyerinde *Penicillium jensenii* 222 ve 203 mg kuru madde ölçülmüştür. *Penicillium frequentan*'da tam, 1/2 besiyeri içeren ortamlardaki üreme (biyomas) 195 ve 193 mg olarak ölçülmüştür.

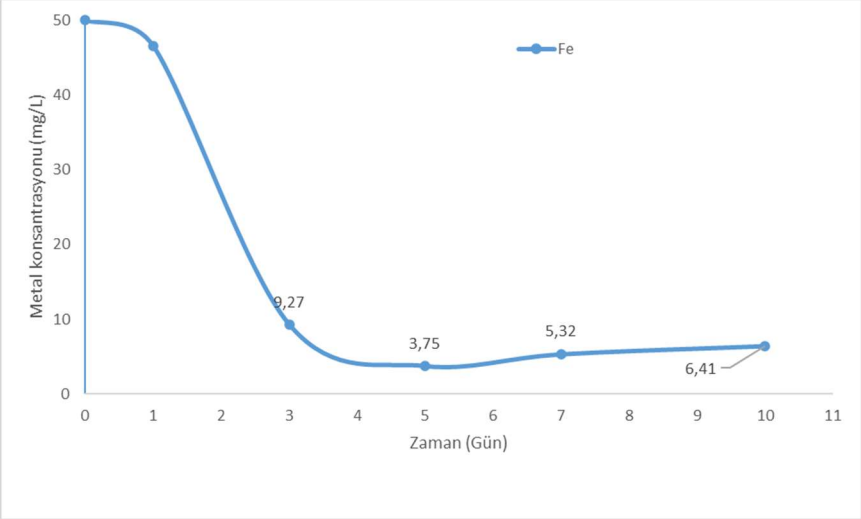
4.2.1 Penicillium jensenii ile Yapılan Demir Biyoremediasyonu

10 gün süren deneysel çalışmalar sonucunda 50 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu-besiyeri ortamında bulunan *Penicillium jensenii* mantarı demir konsantrasyonunu 5. günde 3,75 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 6,41 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %92,5 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.1) (Şekil 4.3). 5. günden sonra ağır metal gideriminin azalması veya yakalanan ağır metallerin geri verilmesi üreyen mantarların ölerek ortama geçerken yakaladıkları ağır metalleri geri vermesi ile açıklanabilir.

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 313,5 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.1). Deneysel koşulların bozulmaması için toplam mantar konsantrasyonu deneyler sona erdikten sonra yapılmıştır. Mantar kültürü üremesine devam ederken besiyeri içerisinde homojen olarak dağılmadığı için ara günlerde örnek alınamamıştır.

Tablo 4.1 *P. jensenii* ile 50 mg/L demirin biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	9,27	3,75	5,32	6,41
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	313,5				



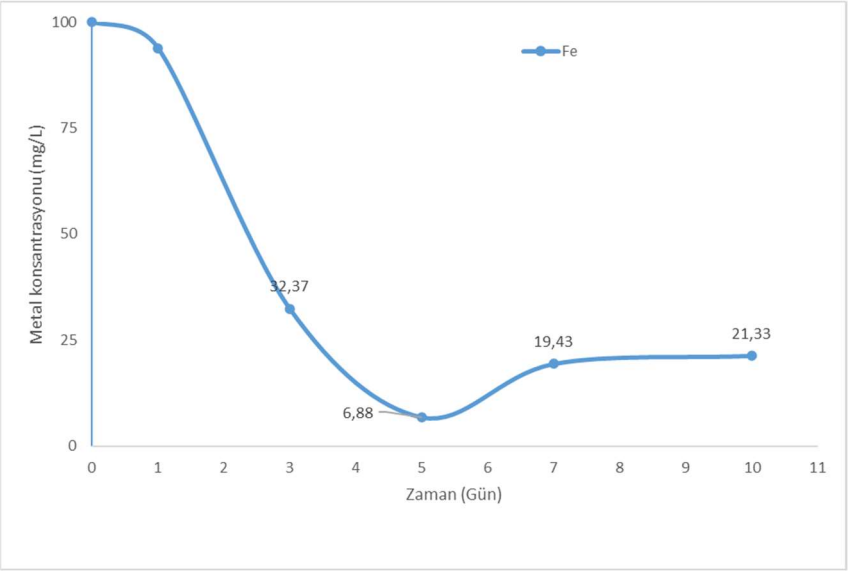
Şekil 4.3 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30)

100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak 3 farklı deneme gerçekleştirilmiştir. 1. deneme 10 gün boyunca sürmüş, 2. ve 3. denemeler ise 5. günde sonlandırılmıştır. 1. denemede sentetik atıksu-besiyeri ortamında bulunan mantar demir konsantrasyonunu 5. günde 6,98 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 21,33 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %93,02 oranında giderim sağlanmıştır. 1. denemede 10. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 252,90 mg ölçülmüştür. 2. denemede sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 6,55 mg/L değerine düşürmüştür. 5. gündeki metal konsantrasyonuna göre %93,45 oranında giderim sağlanmıştır. 2. denemede 5. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 261,9 mg ölçülmüştür. 3. denemede sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 7,13 mg/L değerine düşürmüştür. 5. gündeki metal konsantrasyonuna göre %92,87 oranında giderim sağlanmıştır. 3. denemede 5. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 273,70 mg ölçülmüştür. Metal

giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir. Denemelerin ortalaması alındığında giderim verimi %93,12 ve kuru mantar kütlesi 262,80 mg olarak bulunmuştur. Tablo 4.2'de biyoremediasyon sonuçları, biyokütle ve denemelerin ortalama değerleri verilmiştir. Şekil 4.4'te denemelerin ortalama sonuçlarına göre çizilen grafik gösterilmektedir.

Tablo 4.2 *P. jensenii* ile 100 mg/L demirin biyoremediasyon denemeleri

Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Deneme No	Gün						Biyokütle*
		0	1	3	5	7	10	
	1	100	-	29,41	6,98	19,43	21,33	252,90
	2	100	96,32	34,48	6,55	-	-	261,90
	3	100	95,26	33,23	7,13	-	-	273,70
Ortalama (tek grafik)		100	95,79	32,37	6,88	19,43	21,33	262,80



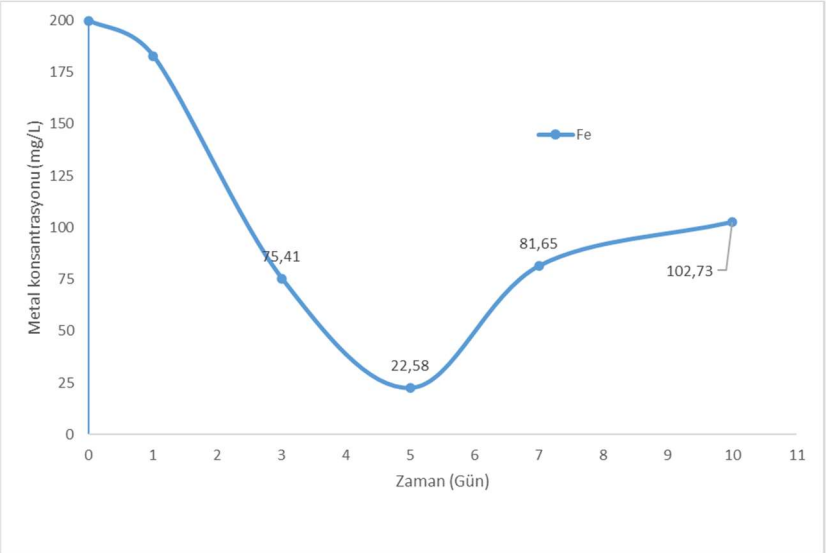
Şekil 4.4 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30)

5. günden sonra ağır metal gideriminin azalması veya yakalanan ağır metallerin geri verilmesi üreyen mantarların ölerek ortama geçerken yakaladıkları ağır metalleri geri vermesi ile açıklanabilir. Deneylerde optimum giderim süresi 5 gün olarak belirlenmiştir.

200 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak 3 farklı deneme gerçekleştirilmiştir. 1. deneme 10 gün boyunca sürmüştür. 2. ve 3. denemeler ise 5. günde sonlandırılmıştır. 1. denemede sentetik atıksu-besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 23,65 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 102,73 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %88,17 oranında giderim sağlanmıştır. 1. denemede 10. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 326,90 mg ölçülmüştür. 2. denemede sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 21,13 mg/L değerine düşürmüştür. 5. gündeki metal konsantrasyonuna göre %89,43 oranında giderim sağlanmıştır. 2. denemede 5. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 473,10 mg ölçülmüştür. 3. denemede sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 22,98 mg/L değerine düşürmüştür. 5. gündeki metal konsantrasyonuna göre %88,51 oranında giderim sağlanmıştır. 3. denemede 5. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 410,2 mg ölçülmüştür. Denemelerin ortalaması alındığında giderim verimi %88,71 ve kuru mantar kütlesi 403,40 mg olarak bulunmuştur. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir. Tablo 4.3'te biyoremediasyon sonuçları, biyokütle ve denemelerin ortalama değerleri verilmiştir. Şekil 4.5'te denemelerin ortalama sonuçlarına göre çizilen grafik gösterilmektedir.

Tablo 4.3 *P. jensenii* ile 200 mg/L demirin biyoremediasyon denemeleri

	Deneme No	Gün						Biyokütle*
		0	1	3	5	7	10	
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	1	200	-	75,62	23,65	81,65	102,73	326,90
	2	200	185,26	72,66	21,13	-	-	473,10
	3	200	180,62	77,95	22,98	-	-	410,20
Ortalama		200	182,94	75,41	22,58	81,65	102,73	403,40



Şekil 4.5 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30)

Şekil 4.5 incelendiğinde 5. günden sonra yakalanan ağır metallerin geri verilmesi üreyen mantarların ölerek ortama geçerken yakaladıkları ağır metalleri geri vermesi ile açıklanabilir. Burada gözlenen bir başka bulgu ise ağır metal konsantrasyonu arttıkça toksik etkinin de artarak mantar ölümlerinin artması ve 5. günden sonra yakalanan ağır metalleri daha hızlı bir şekilde geri vermesidir. Yapılan tüm deneylerde optimum giderim süresi 5 gün olarak belirlenmiştir.

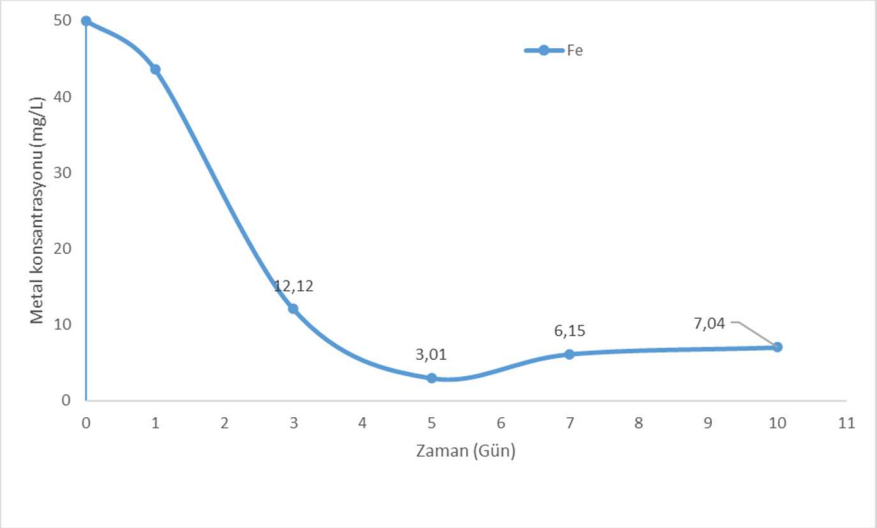
4.2.2 Penicillium frequentans ile Yapılan Demir Biyoremediasyonu

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu-besiyeri ortamında bulunan *Penicillium frequentans* mantarı demir konsantrasyonunu 5. günde 3,01 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 7,04 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %93,98 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.4) (Şekil 4.6).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 346,1 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 P. *frequentans* ile 50 mg/L demirin biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	12,12	3,01	6,15	7,04
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	346,1				



Şekil 4.6 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30)

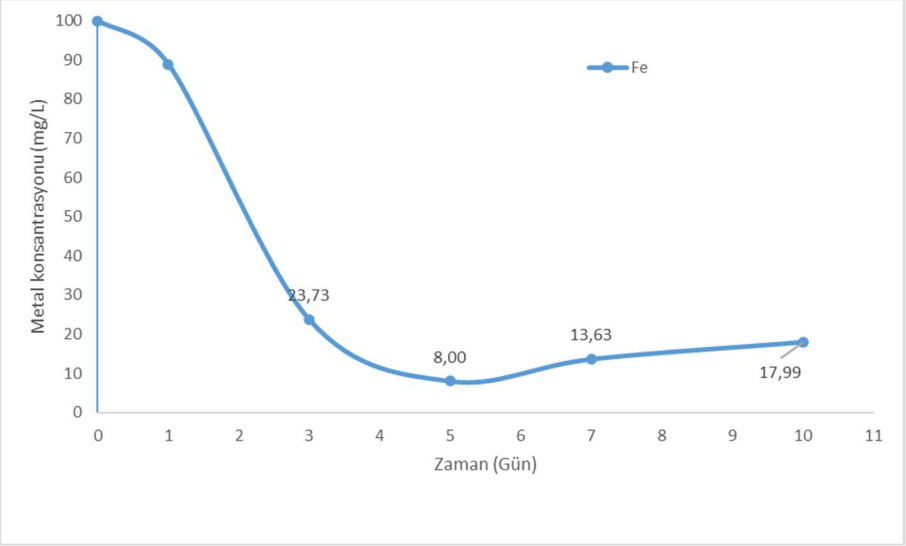
Şekil 4.6 incelendiğinde 5. günden sonra yakalanan ağır metallerin geri verilmesi üreyen mantarların ölerek ortama geçerken yakaladıkları ağır metalleri geri vermesi ile açıklanabilir. Ancak *P. frequentans*'ın kirleticileri geri vermesi *P. jensenii*'ye göre daha az olduğu görülmektedir.

100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak 2 farklı deneme gerçekleştirilmiştir. 1. ve 2. denemeler 10 gün boyunca sürmüştür. 1. denemede sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar demir konsantrasyonunu 5. günde 7,90 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 19,74 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %92,10 oranında giderim sağlanmıştır. 1. denemede 10. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 243,90 mg ölçülmüştür. 2. denemede sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar demir konsantrasyonunu 5. günde 8,10 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 16,25 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %91,90 oranında giderim sağlanmıştır.

2. denemede 10. günün sonunda tartımlarda kuru mantar kütlesi 214,6 mg ölçülmüştür. Denemelerin ortalaması alındığında giderim verimi %92,00 ve kuru mantar kütlesi 229,25 mg olarak bulunmuştur. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir. Tablo 4.5'te biyoremediasyon sonuçları, biyokütle ve denemelerin ortalama değerleri verilmiştir. Şekil 4.7'te denemelerin ortalama sonuçlarına göre çizilen grafik gösterilmektedir.

Tablo 4.5 *P. frequentans* ile 100 mg/L demirin biyoremediasyon denemeleri

Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Deneme No	Gün						Biyokütle*
		0	1	3	5	7	10	
	1	100	-	22,42	7,90	14,5	19,74	243,90
	2	100	-	25,04	8,10	12,76	16,25	214,60
Ortalama		100	-	23,73	8,00	13,63	17,99	229,25



Şekil 4.7 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30)

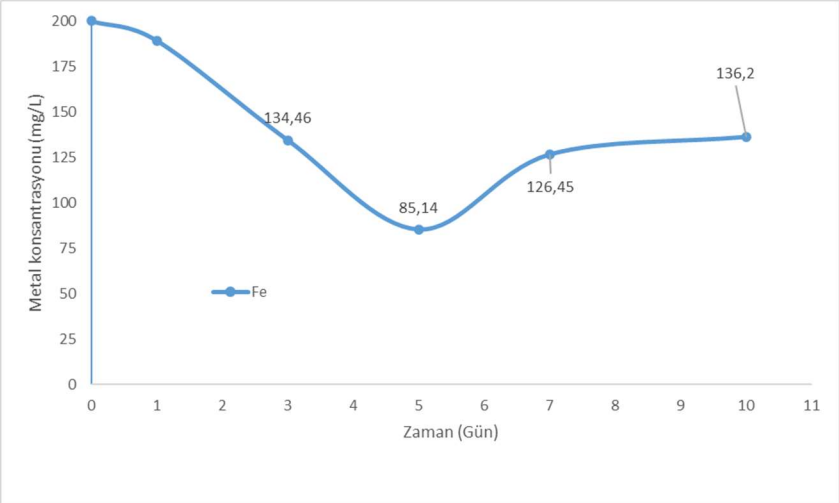
Şekil 4.7 incelendiğinde optimum arıtma süresinin 5 gün olacağı görülmektedir. Burada da *P. frequentans*'ın kirleticileri geri vermesi *P. jensenii*'ye göre daha az olduğu görülmektedir.

10 gün süren çalışma sonucunda 200 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu-besiyeri ortamında bulunan mantar demir konsantrasyonunu 5. günde 85,14 mg/L değerine düşürmüştür. 5. gündeki metal konsantrasyonuna göre %57,43 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.6) (Şekil 4.8). Grafik incelendiğinde optimum arıtma süresinin 5 gün olacağı görülmektedir.

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 196,9 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.6).

Tablo 4.6 *P. Frequentans* ile 200 mg/L demirin biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	200	134,46	85,14	126,45	136,2
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	196,9				



Şekil 4.8 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,30)

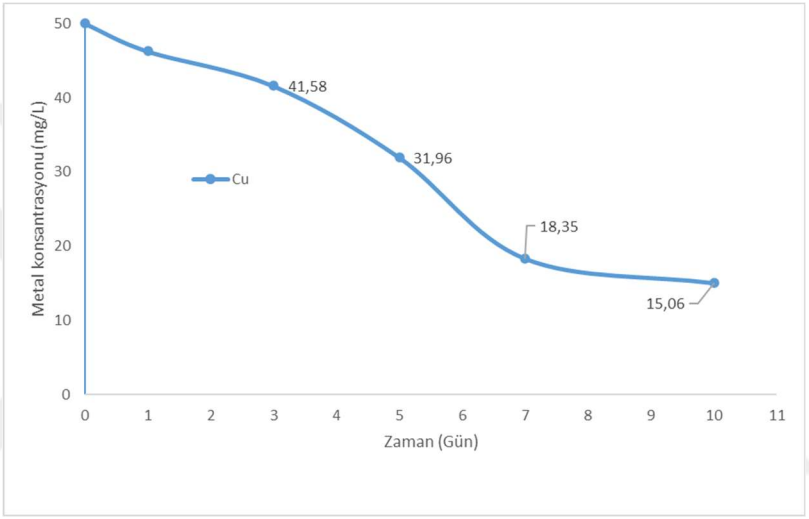
4.2.3 Penicillium jensenii ile Yapılan Bakır Biyoremediasyonu

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu-besiyeri ortamında bulunan *Penicillium jensenii* mantarı, bakır konsantrasyonunu 10. günde 15,06 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gündeki metal konsantrasyonuna göre %69,88 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.7) (Şekil 4.9).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 203,5 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7 *P. jensenii* ile 50 mg/L bakırın biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	41,58	31,96	18,35	15,06
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	203,5				



Şekil 4.9 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30)

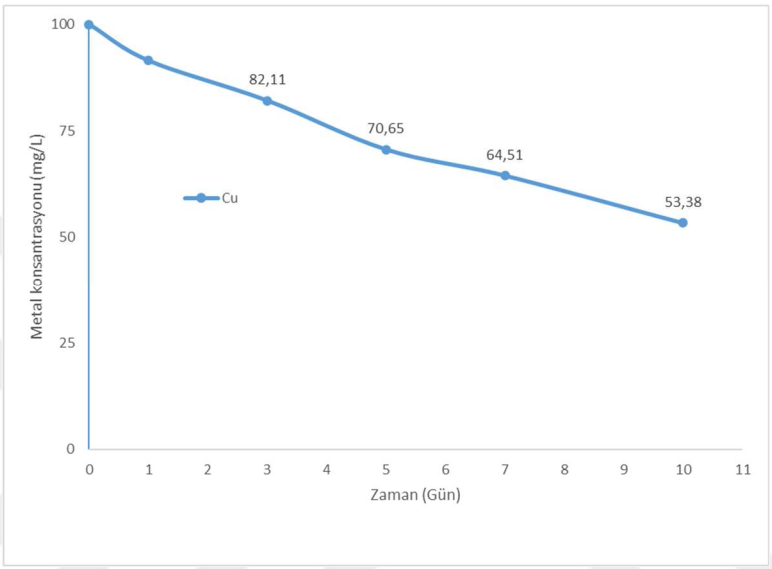
Şekil 4.9 incelendiğinde 10 günlük deney esnasında her geçen gün arıtım olduğu ve arıtımın artarak devan ettiği görülmektedir. Optimum giderim süresin 10 günü 1-2 gün aşabileceği görülmektedir. Ancak 7. günden sonra arıtım veriminin gittikçe düştüğü de görülmüştür.

10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 10. günde 53,38 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gündeki metal konsantrasyonuna göre %46,62 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.8) (Şekil 4.10).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 130,2 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.8).

Tablo 4.1 *P. jensenii* ile 100 mg/L bakırın biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	100	82,11	70,65	64,51	53,38
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	130,2				



Şekil 4.10 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30)

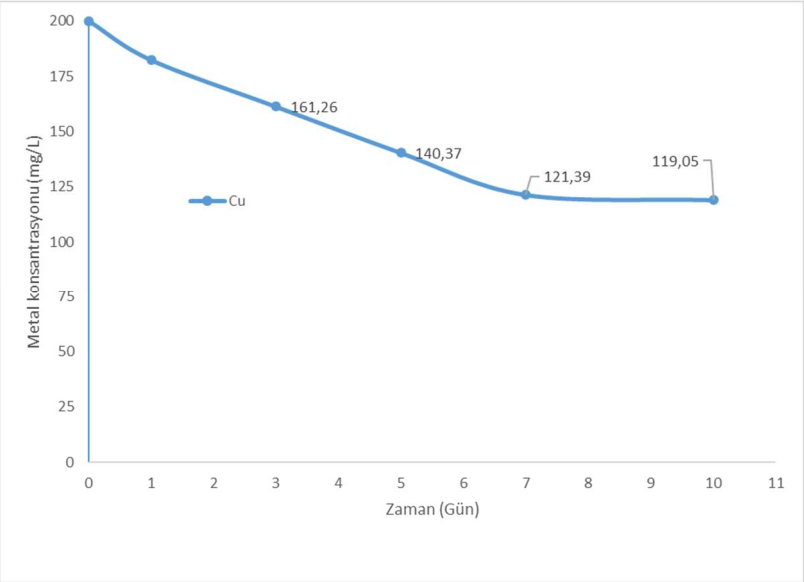
Şekil 4.10 incelendiğinde 10 günlük deney esnasında her geçen gün arıtım olduğu ve arıtımın artarak devan ettiği görülmektedir. Optimum giderim süresin 10 günü aşabileceği ancak arıtım veriminin yüksek olmadığı görülmüştür.

10 gün süren çalışma sonucunda 200 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 10. günde 119,05 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gündeki metal konsantrasyonuna göre %40,47 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.9) (Şekil 4.11).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 146,4 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.9).

Tablo 4.9 *P. Jensenii* ile 200 mg/L bakırın biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	200	161,26	140,37	121,39	119,05
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	146,4				



Şekil 4.11 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30)

Şekil 4.11 incelendiğinde 10 günlük deney esnasında her geçen gün arıtım olduğu ve arıtımın artarak devan ettiği görülmektedir. Optimum giderim süresin 10 günü aşabileceği ancak arıtım veriminin yüksek olmadığı ve 7. günden sonra arıtım veriminin hızlı bir şekilde düşerek sabitlenmeye doğru gittiği görülmüştür.

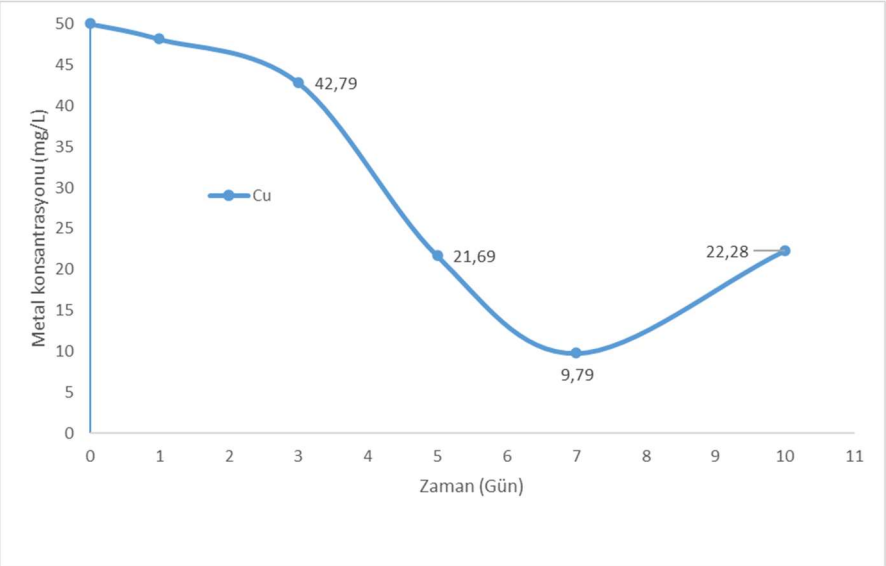
4.2.4 Penicillium frequentans ile Yapılan Bakır Biyoremediasyonu

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan *Penicillium frequemtans* mantarı bakır konsantrasyonunu 7. günde 9,79 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 22,28 mg/L değerinde ölçülmüştür. 7. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %80,42 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.10) (Şekil 4.12).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 611,2 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.10).

Tablo 4.10 *P. frequentans* ile 50 mg/L bakırın biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	42,79	21,69	9,79	22,28
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	611,2				



Şekil 4.12 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30)

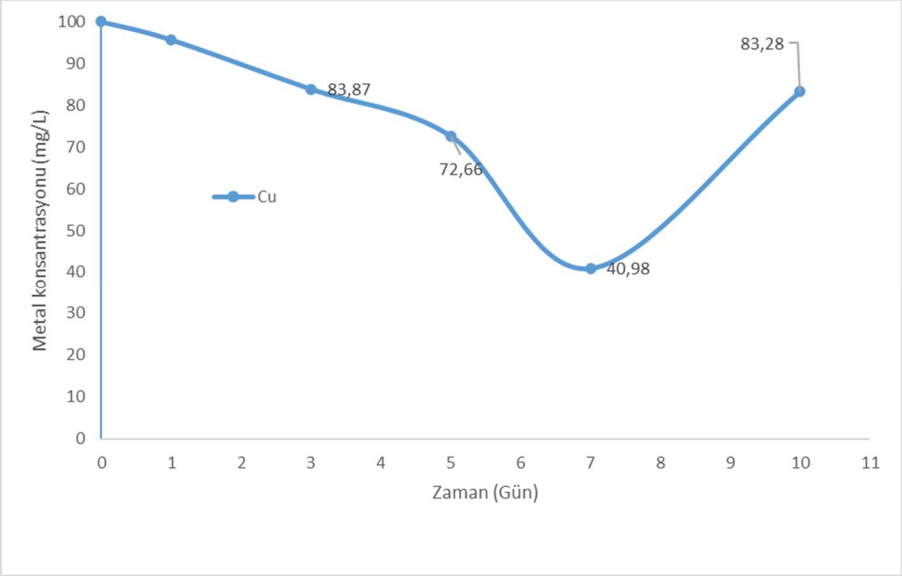
Şekil 4.12 incelendiğinde ağır metal gideriminin 7. güne kadar devam ettiği, optimum giderim süresinin 7 gün olduğu görülmektedir. 7. günden sonra yakalanan ağır metallerin geri verilmesi başladığı görülmektedir.

10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 7. günde 40,98 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 83,28 mg/L değerinde ölçülmüştür. 7. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %59,02 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.11) (Şekil 4.13). Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 280,6 mg

ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.11).

Tablo 4.11 *P. frequentans* ile 100 mg/L bakırın biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	100	83,87	72,66	40,98	83,28
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	280,6				



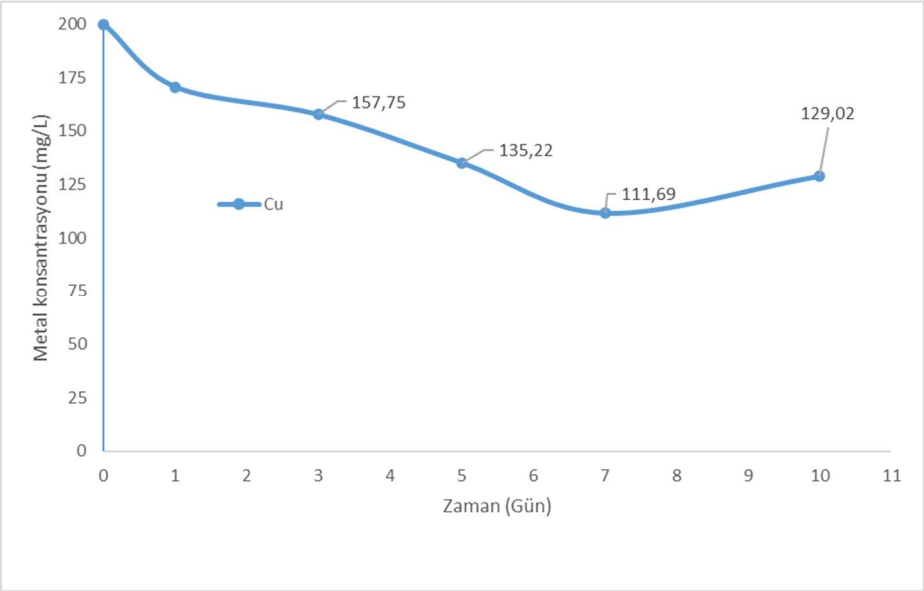
Şekil 4.13 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30)

Şekil 4.13 incelendiğinde burada da ağır metal gideriminin 7. güne kadar devam ettiği, optimum giderim süresinin 7 gün olduğu, 7. günden sonra yakalanan ağır metallerin geri verilmesi başladığı görülmektedir.

10 gün süren çalışma sonucunda 200 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 7. günde 111,69 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 129,02 mg/L değerinde ölçülmüştür. 7. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %44,15 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.12) (Şekil 4.14). Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 210,7 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.12).

Tablo 4.12 *P. frequentans* ile 200 mg/L bakırın biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	200	157,75	135,22	111,69	129,02
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	210,7				



Şekil 4.14 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4,30)

Şekil 4.14 incelendiğinde yükselen bakır sülfat konsantrasyonunu toksik etkisi sonucu giderimin az olduğu, 7. güne kadar devam ettiği, optimum giderim süresinin 7 gün olduğu görülmektedir. 7. günden sonra yakalanan ağır metallerin geri verilmesi başladığı görülmektedir. Burada gözlenen bir başka bulgu ise ağır metal konsantrasyonu arttıkça toksik etkinin de artarak mantar ölümlerinin artması ile gidrim oranın önemli ölçüde düşürdüğü konusudur.

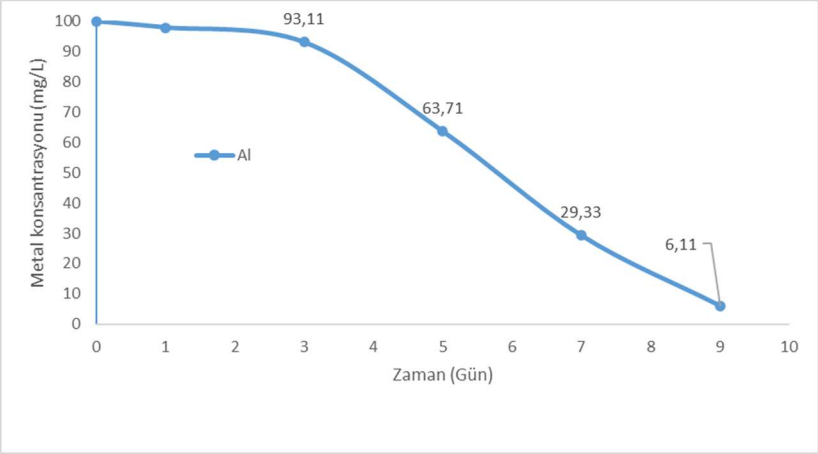
4.2.5 Penicillium jensenii ile Alüminyum Biyoremediasyonu

P. jensenii ile yapılan alüminyum biyoremediasyon çalışmaları aslında ön araştırma sonuçlarıdır ve 9 gün devam etmiştir. Ana araştırma sonuçları henüz okunmamıştır. Derin dondurucuda beklemektedir. Ön araştırmalarda 9 gün süren biyoremediasyon çalışmaları sonucunda 100 mg/L alüminyum içeren Alüminyum (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan *Penicillium jensenii* mantarı, alüminyum konsantrasyonunu 9. günde 6,11 mg/L değerine düşürmüştür. 9. gündeki

metal konsantrasyonuna göre %93,89 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.13) (Şekil 4.15). Burada da ağır metal gideriminin 9. güne kadar devam ettiği, optimum giderim süresinin biraz daha devam edebileceği ancak 9. günden sonra yakalanan ağır metal gideriminin azaldığı görülmektedir. Yapılan çalışma sonucunda 9. günün sonunda kuru mantar kütlesi 709,8 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.13).

Tablo 4.13 *P. jensenii* ile 100 mg/L alüminyumun biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	9
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	100	93,11	63,71	29,33	6,11
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	709,8				



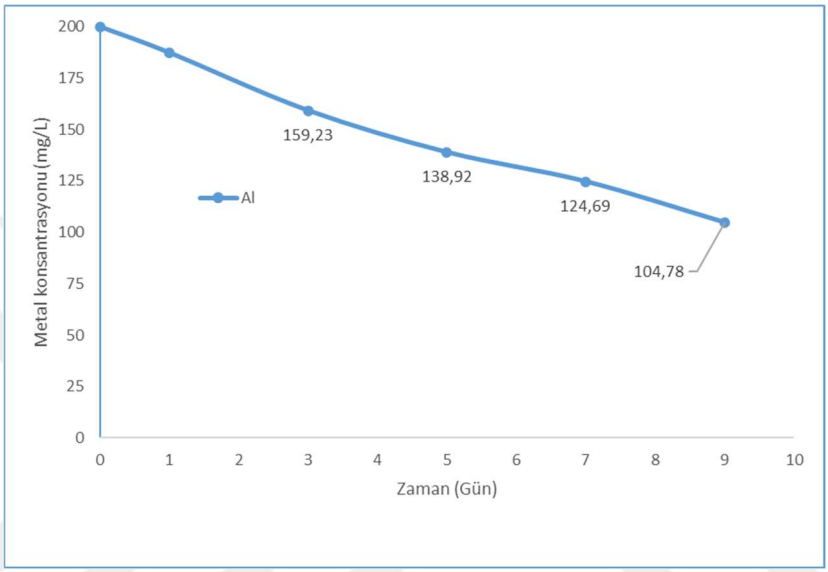
Şekil 4.15 *P. jensenii* ile alüminyumun zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 3,60)

9 gün süren çalışma sonucunda 200 mg/L alüminyum içeren Alüminyum (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksuda bulunan mantar, alüminyum konsantrasyonunu 9. günde 104,78 mg/L değerine düşürmüştür. Araştırmada %47,61 oranında metal giderim sağlanmıştır (Tablo 4.14) (Şekil 4.16).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 620,7 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.14).

Tablo 4.14 *P. jensenii* ile 200 mg/L alüminyumun biyoremediasyonu

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	200	159,23	138,92	124,69	104,78
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	620,7				



Şekil 4.16 *P. jensenii* ile alüminyumun zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 200 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 3,60)

Şekil 4.16 incelendiğinde ağır metal gideriminin 9. güne kadar devam ettiği, giderim süresinin biraz daha devam edebileceği ancak 9. günden sonra ağır metal gideriminin azaldığı görülmektedir.

4.3 pH Değişiminin Biyoremediasyon Üzerindeki Etkileri

Başlangıç pH'sının biyoremediasyona etkisini belirlemek üzere *Penicillium Jensenii* ve *Penicillium frequentans* mantar türleri ile sabit ağır metal konsantrasyonları ile biyoremediasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Başlangıç pH'ları değerleri olarak sırası ile 4,5,6,7,8,9,10,11 alınmıştır. Sabit metal konsantrasyonu olarak demir 100 mg/L ve bakır 50 mg/L olarak deneyler yapılmıştır.

4.3.1 pH'ın Penicillium jensenii ile Demir Giderimi üzerine Etkisi

Penicillium jensenii mantarı ile demir gideriminde pH'ının etkisi pH aralığı 1 ile 10 arasında değiştirilerek araştırılmıştır. Bu araştırma 100 mg/L sabit demir (II) sülfat konsantrasyonunda 10 gün süren deneyler ile test edilmiştir.

Çalışma sonucunda başlangıç pH değeri 4 olarak hazırlanmıştır. 10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak yapılan araştırmada *Penicillium jensenii* mantarı, demir konsantrasyonunu 5. günde 6,98 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 13,40 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %93,02 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 283,9 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 5 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 7,15 mg/L'ye düşürmüş, 10. gün sonunda ise bu değer 12,13 mg/L olarak ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %92,85 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 242,5 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 6 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 4,32 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 33,71 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %95,68 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 356,3 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 7 olarak hazırlanan sentetik atıksu örneklerinde mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 4,98 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 57,84 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %95,02 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 271,20 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 8 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 19,65 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 86,86 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %80,35 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 191,70 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 9 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 24,26 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 81,22 mg/L değerinde ölçülmüştür. Optimum arıtma süresi 5 gün olarak belirlenirken 5. günden sonra giderilen ağır metal geri verilmeye başlanmıştır. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %75,74 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 152,6 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 10 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 50,12 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 83,87 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %49,88 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 131,4 mg ölçülmüştür.

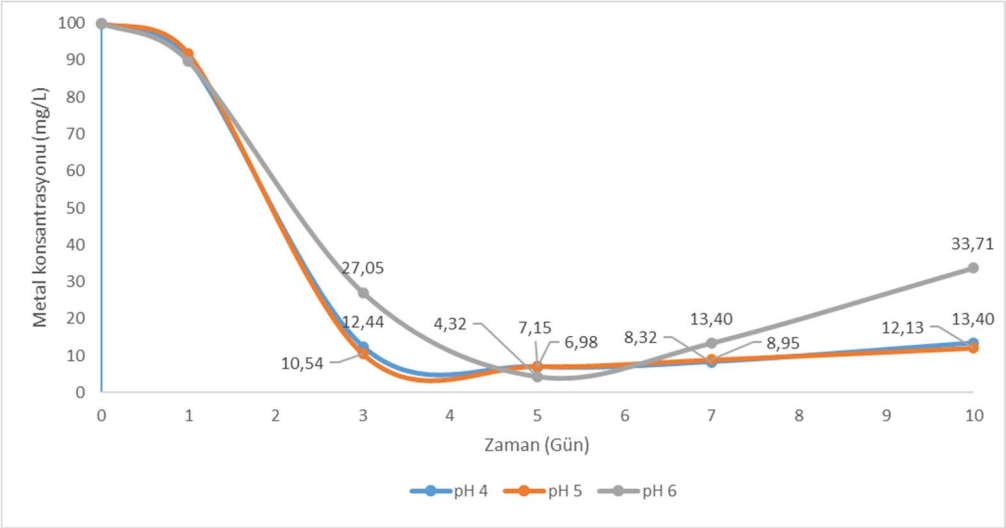
Başlangıç pH'larına göre ağır metalin biyoremediasyon sonuçları Tablo 4.15'te, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18'de gösterilmiştir. Zamana bağlı mantarın kuru mantar ağırlığı Şekil 4.19'da gösterilmiştir.

Tablo 4.15 Başlangıç pH'ının *P. Jensenii* ile demirin biyoremediasyonuna etkisi

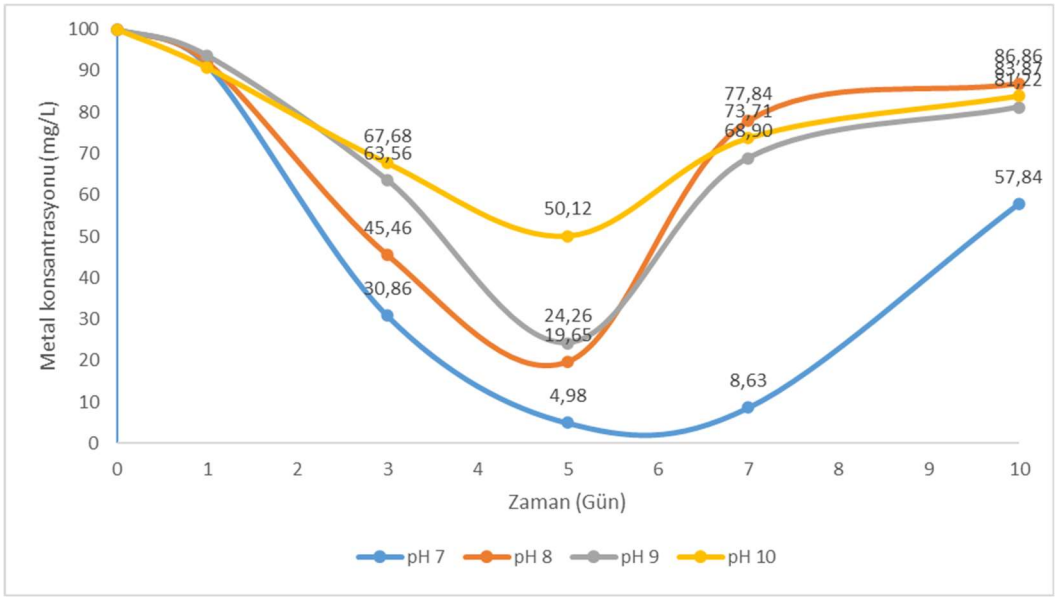
pH \ Gün	0	3	5	7	10	Biyokütle
4	100	12,44	6,98	8,32	13,40	283,90
5	100	10,54	7,15	8,95	12,13	242,50
6	100	27,05	4,32	13,40	33,71	356,3
7	100	30,86	4,98	8,63	57,84	271,20
8	100	45,46	19,65	77,84	86,86	191,70
9	100	63,56	24,26	68,90	81,22	152,60
10	100	67,68	50,12	73,71	83,87	131,40

Tablo 4.15 incelendiğinde tüm pH değerlerinde optimum giderime 5. günde ulaşıldığı, 5. ve bundan sonra yakalanan ağır metallerin geri verilmesi başladığı görülmektedir. Burada gözlenen bir başka bulgu ise ağır metal konsantrasyonu arttıkça toksik etkinin artarak mantar ölümlerinin artması ile giderim oranın önemli ölçüde düşürdüğü konusudur.

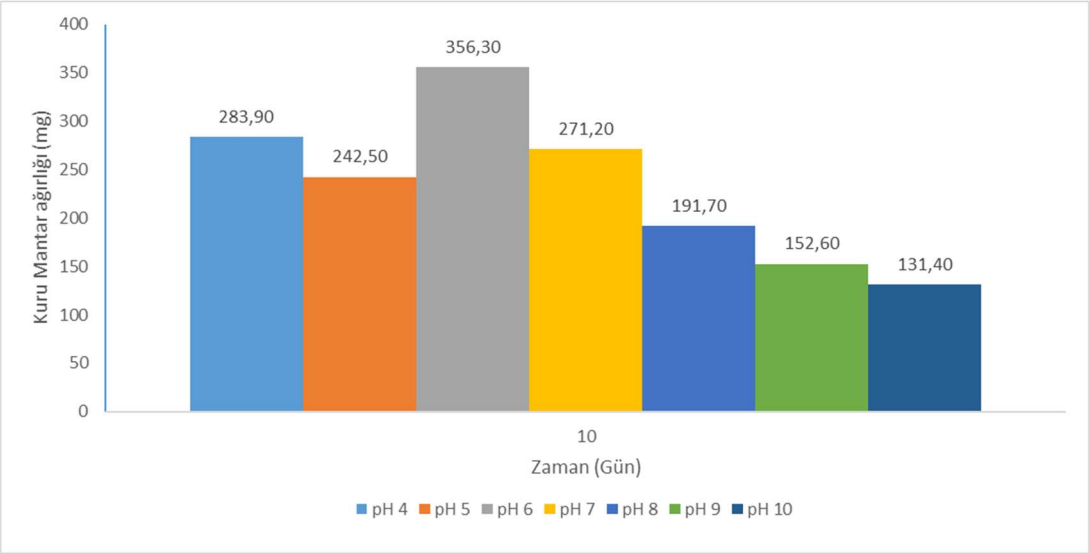
pH değerine bağlı olarak en iyi ağır metal giderimi %95.68 ve %95.02 giderim verimi ile pH= 6 ve 7 değerlerinde olduğu görülmüştür. pH=4 ve pH=5 değerlerinde de %93.02 ve %92.85 giderim ile kabul edilebilir giderim sağlanmıştır. En iyi giderim pH= 6 değerinde sağlanmıştır.



Şekil 4.17 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6)



Şekil 4.18 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7-8-9-10)



Şekil 4.19 *P. jensenii*'nin başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10)

Şekil 4.19 incelendiğinde kütlesel olarak mantar üretiminin sırasıyla 6, 4, 7 ve 5 pH değerlerinde oluştuğu görülmüştür.

4.3.2 pH'ın Penicillium frequentans ile Demir Giderimi üzerine Etkisi

10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'ı 4 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan *Penicillium frequentans* mantarı, demir konsantrasyonunu 5. günde 10,86 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 14,44 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %89,14 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 183,2 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 5 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 5,90 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 9,27 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %94,1 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 214,9 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 6 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 16,55 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 54,03 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük

metal konsantrasyonuna göre %83,45 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 189,40 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 7 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 10,86 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 51,17 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %89,14 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 242,70 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 8 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 8,14 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 14,98 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %91,86 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 283,30 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 9 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 9,85 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 49,27 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %90,15 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 213,70 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 10 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 40,98 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 81,65 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %59,02 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 166,50 mg ölçülmüştür.

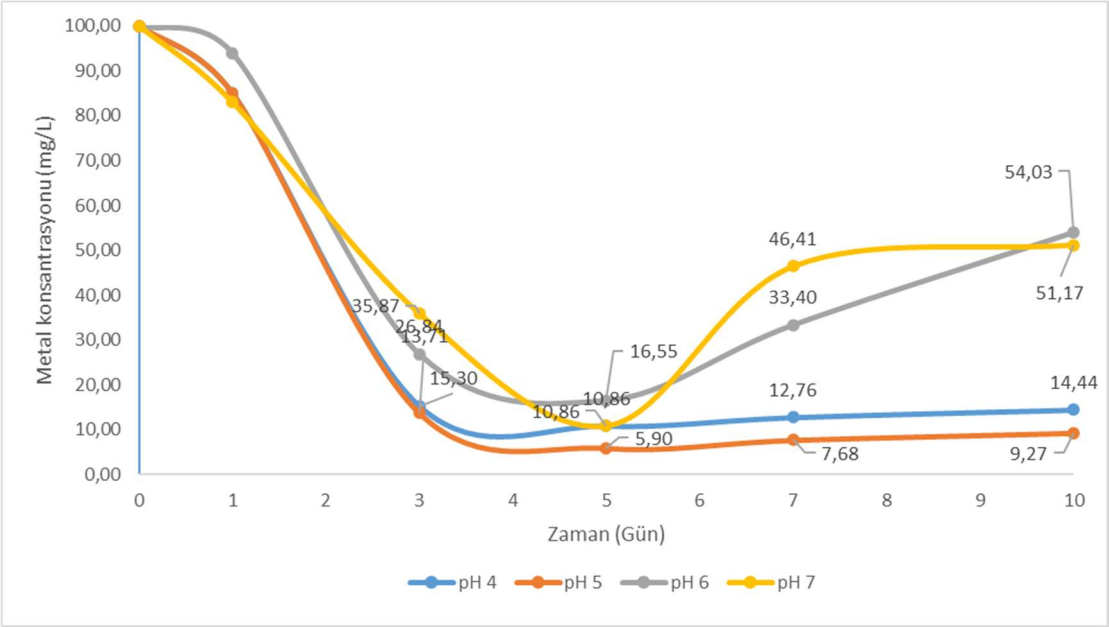
Başlangıç pH'ı 11 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 38,98 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 97,84 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %61,02 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 134,80 mg ölçülmüştür. Başlangıç pH'larına göre ağır metalin biyoremediasyon sonuçları Tablo 4.16'da, Şekil 4.20 ve Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Zamana bağlı mantarın kuru mantar ağırlığı Şekil 4.22'de gösterilmiştir.

Tablo 4.16 Başlangıç pH'ının *P. frequentans* ile demirin biyoremediasyonuna etkisi

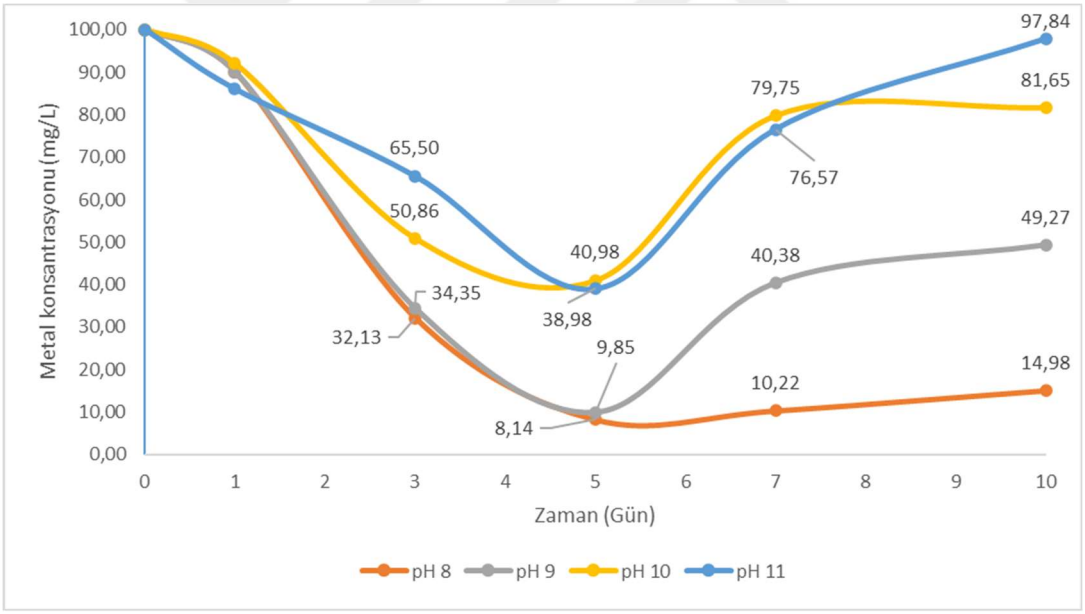
pH \ Gün	0	3	5	7	10	Biyokütle
4	100	15,30	10,86	12,76	14,44	183,20
5	100	13,71	5,90	7,68	9,27	214,90
6	100	26,84	16,55	33,40	54,03	189,40
7	100	35,87	10,86	46,41	51,17	242,70
8	100	32,13	8,14	10,22	14,98	283,30
9	100	34,35	9,85	40,38	49,27	213,70
10	100	50,86	40,98	79,75	81,65	166,50
11	100	65,50	38,98	76,57	97,84	134,80

Tablo 4.16 incelendiğinde tüm pH değerlerinde optimum giderime 5. günde ulaşıldığı ve bundan sonra yakalanan ağır metallerin geri verilmesi başladığı görülmektedir. Burada gözlenen bir başka bulgu ise ağır metal konsantrasyonu arttıkça toksik etkinin artarak mantar ölümlerinin artması ile giderim oranın düştüğü konusudur.

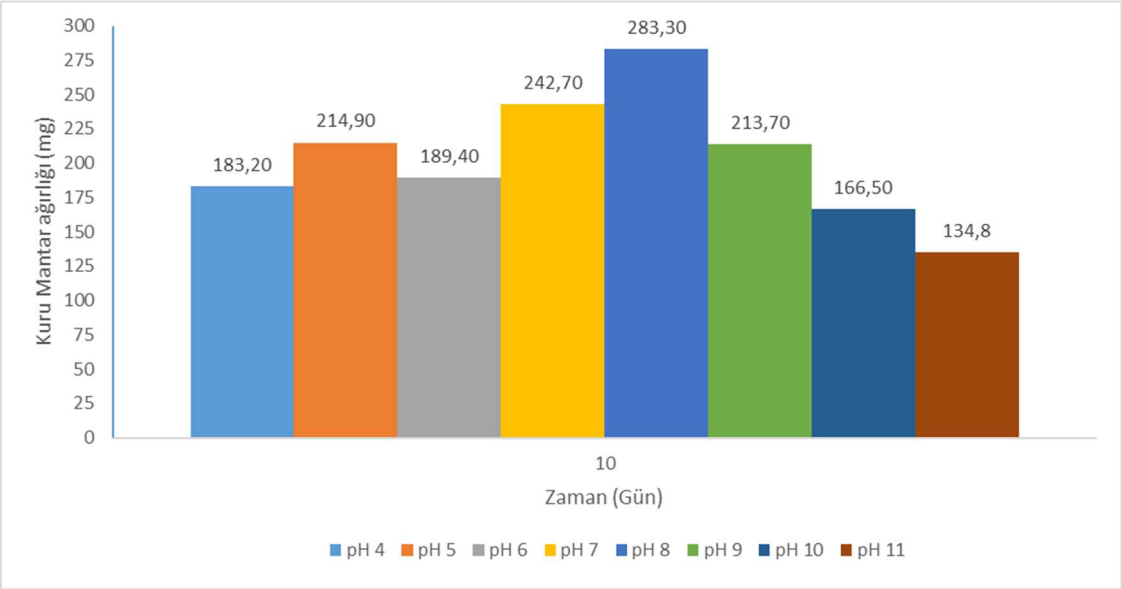
pH değerine bağlı olarak en iyi ağır metal giderimi %94.10, %91.86 ve %90.15 giderim verimi ile pH= 5, 8 ve 9 değerlerinde olduğu görülmüştür. En iyi giderim pH=5 değerinde sağlanmıştır.



Şekil 4.20 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7)



Şekil 4.21 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 8-9-10-11)



Şekil 4.22 *P. frequentans*'ın başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10-11)

Şekil 4.22 incelendiğinde kütlesel olarak mantar üretiminin sırasıyla 8, 7 ve 5 pH değerlerinde oluştuğu görülmüştür.

4.3.3 pH'ın Penicillium jensenii ile Bakır Giderimi üzerine Etkisi

Başlangıç pH'sının biyoremediasyona etkisini belirlemek üzere *Penicillium Jensenii* ile sabit ağır metal konsantrasyonları ile biyoremediasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Başlangıç pH'ları değerleri olarak sırası ile 4,5,6,7,8,9 ve 10 alınmıştır. Sabit metal konsantrasyonu olarak bakır 50 mg/L olarak deneyler yapılmıştır.

10 gün süren araştırmalar sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat içeren atıksu örneği başlangıç pH'sı 4 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında 10. günde 36,58 mg/L değerine düşmüştür. 10. gündeki metal konsantrasyonuna göre %26,84 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 80,8 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 5 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 10. günde 19,77 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gündeki metal konsantrasyonuna göre %60,46 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 288,70 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 6 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 5. günde 20,11 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda

ise ortamda metal konsantrasyonu 46,06 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %59,78 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 453,30 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 7 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 5. günde 30,48 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 45,43 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %39,04 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 399,5 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 8 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 5. günde 41,01 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 47,07 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki metal konsantrasyonuna göre %17,98 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 295,30 mg ölçülmüştür.

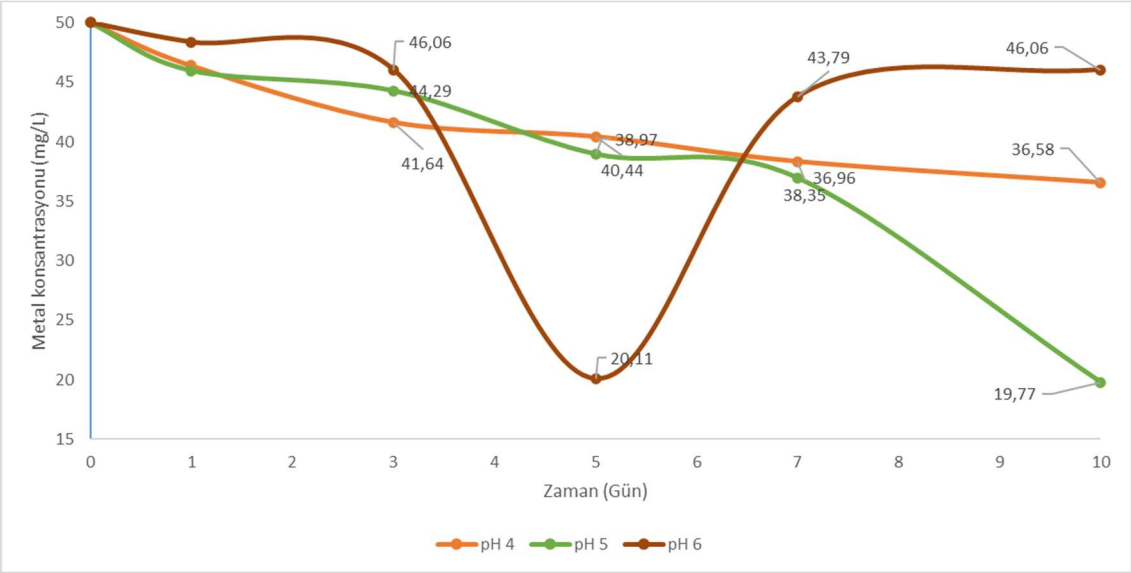
Başlangıç pH'ı 9 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 5. günde 26,95 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 43,03 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %46,10 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 324,7 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 10 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 5. günde 26,98 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 32,16 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %46,04 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 341,80 mg ölçülmüştür. Başlangıç pH'larına göre ağır metalin biyoremediasyon sonuçları Tablo 4.17'de, Şekil 4.23 ve Şekil 4.24'te gösterilmiştir. Zamana bağlı mantarın kuru mantar ağırlığı Şekil 4.25'te gösterilmiştir.

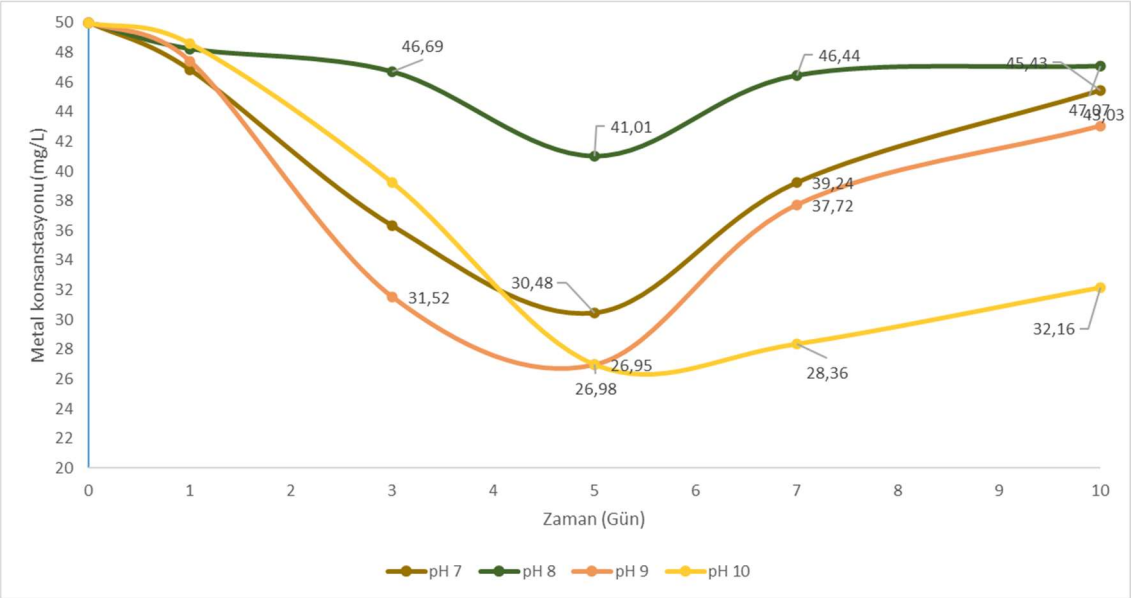
Tablo 4.17 Başlangıç pH'ının *P. jensenii* ile bakırın biyoremediasyonuna etkisi

pH \ Gün	0	3	5	7	10	Biyokütle
4	50	41,64	40,44	38,35	36,58	80,8
5	50	44,29	38,97	36,96	19,77	288,7
6	50	46,06	20,11	43,79	46,06	453,3
7	50	36,33	30,48	39,24	45,43	399,5
8	50	46,69	41, 01	46,44	47,07	295,3
9	50	31,52	26,95	37,72	43,03	324,7
10	50	39,24	26,98	28,36	32,16	341,8

Tablo 4.17 incelendiğinde tüm pH=4 ve 5 değerlerindeki giderim seyri ile pH=6-10 aralığındaki giderim seyrinin farklı olduğu görülmüştür. pH=4 ve 5 değerlerinde 10 günlük deney süresince ağır metal gideriminin devam ettiği görülmektedir. pH 6-10 aralığında ise ilk 5 günde ağır metal gideriminin arttığı ve daha sonra mantar ölümlerinin artması ile giderim oranın düştüğü görülmüştür. Ancak bakır sülfatın toksik etkisinin ağır basarak giderim veriminin az olduğu ortaya çıkmıştır. En iyi giderim %60,46 ile pH=5'te gerçekleşmiş olup pH= 9 ve 10'da %46 giderim sağlanmıştır.



Şekil 4.23 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6)



Şekil 4.24 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7-8-9-10)

Şekil 4.25 *P. jensenii*'nin başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10)

Şekil 4.25 incelendiğinde en iyi giderim oranlarına bağlı en yüksek mantar üremesi de pH=6, 7, 9 ve 10'da gerçekleştiği görülmektedir.

4.3.4 pH'ın Penicillium frequentans ile Bakır Giderimi üzerine Etkisi

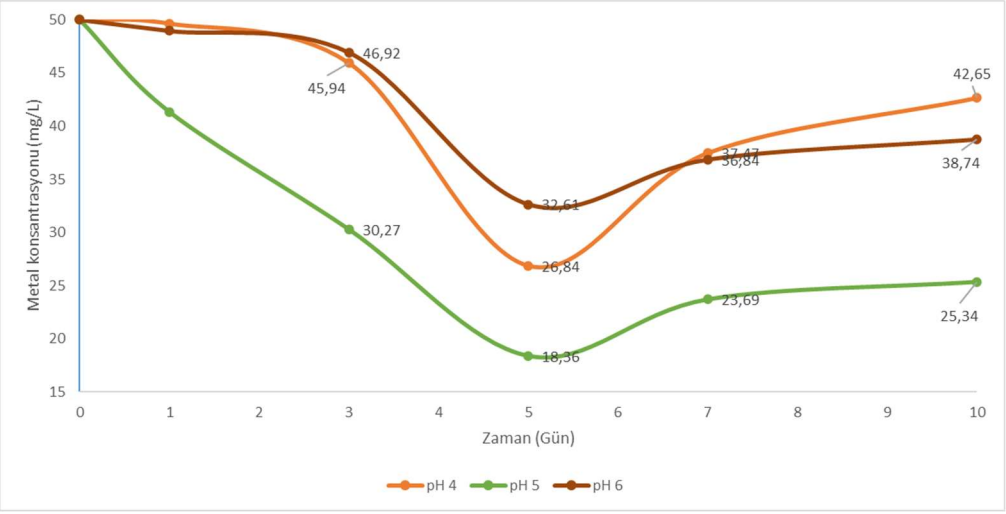
Penicillium frequentans mantarı ile Bakır gideriminde pH'ının etkisi pH aralığı 1 ile 10 arasında değiştirilerek araştırılmıştır. Bu araştırma 50 mg/L sabit bakır sülfat konsantrasyonunda 10 gün süren deneyler ile test edilmiştir. Çalışma sonucunda başlangıç pH değeri 4 olarak hazırlanmıştır. Sentetik atıksu ortamında bulunan *Penicillium frequentans* mantarı 5. günlük deney işlemleri sonucunda bakır konsantrasyonunu 26,84 mg/L'ye düşürmüş ve 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 42,65 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %46,32 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 256,7 mg ölçülmüştür. Başlangıç pH değeri 5 olarak hazırlanan sentetik atıksu ortamında bakır konsantrasyonunu 5. günde 18,36 mg/L'ye düşürmüş, 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 25,34 mg/L değerinde ölçülmüştür. pH=5'de 5. Günlük deney işlemleri sonucunda %63,28 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 538,6 mg ölçülmüştür.

Başlangıç pH'ı 6'da bakır konsantrasyonunu 5. günde 32,61 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 38,74 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %34,78 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 469,3 mg ölçülmüştür. Başlangıç pH'ı 7'de bakır konsantrasyonunu 5. günde 34,21 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 38,72 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %31,58 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 420,6 mg ölçülmüştür. Başlangıç pH'ı 8 olarak hazırlanan sentetik atıksularda bakır konsantrasyonunu 5. günde 26,35 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 42,98 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %47,30 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 400,4 mg ölçülmüştür. Başlangıç pH'ı 9 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 5. günde 28,63 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 38,36 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %42,74 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 336,8

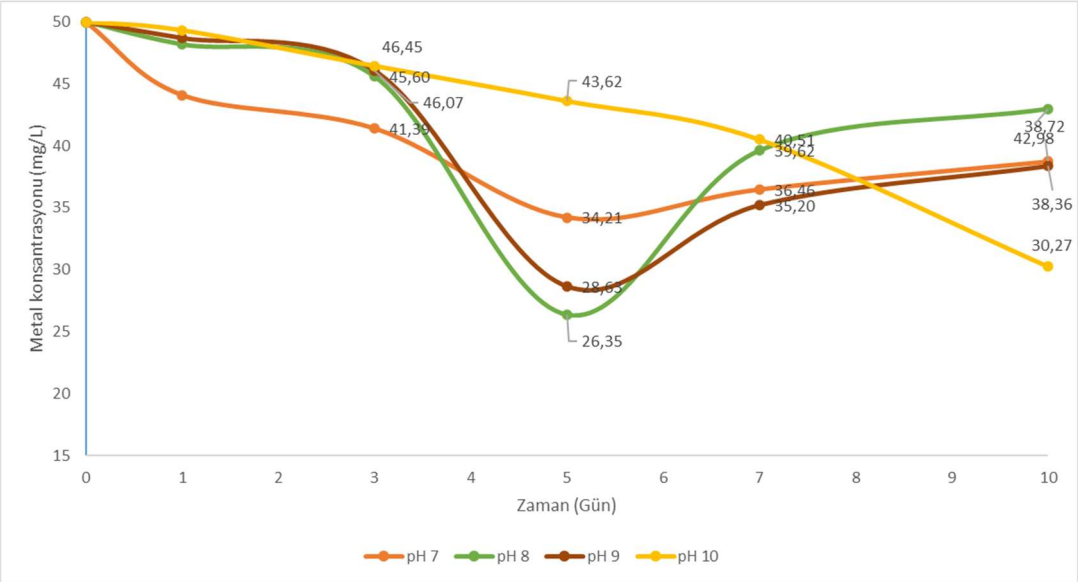
mg ölçülmüştür. Başlangıç pH'ı 10 olarak hazırlanan sentetik atıksu – besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 10. günde 30,27 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %39,46 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 316,9 mg ölçülmüştür. Başlangıç pH'larına göre ağır metalin biyoremediasyon sonuçları Tablo 4.18'de, Şekil 4.26 ve Şekil 4.27'de gösterilmiştir. Zamana bağlı mantarın kuru mantar ağırlığı Şekil 4.28'de gösterilmiştir.

Tablo 4.18 Başlangıç pH'ının *P. frequentans* ile bakırın biyoremediasyonuna etkisi

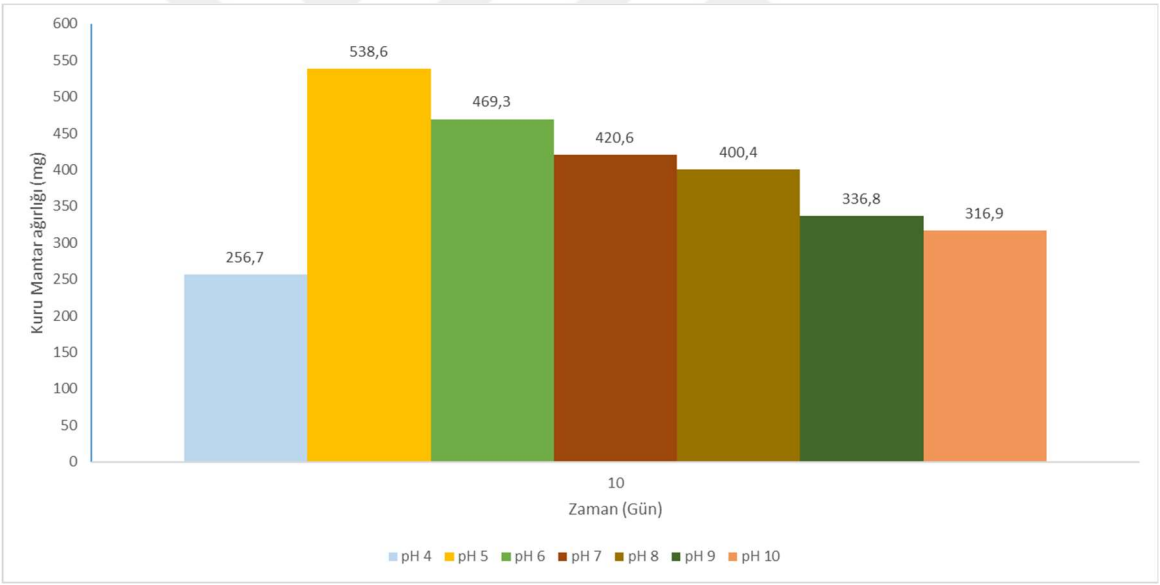
pH \ Gün	0	3	5	7	10	Biyokütle
4	50	45,94	26,84	37,47	42,65	256,7
5	50	30,27	18,36	23,69	25,34	538,6
6	50	46,92	32,61	36,84	38,74	469,3
7	50	41,39	34,21	36,46	38,72	420,6
8	50	45,60	26,35	39,62	42,98	400,4
9	50	46,07	28,63	35,20	38,36	336,8
10	50	46,45	43,62	40,51	30,27	316,9



Şekil 4.26 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6)



Şekil 4.27 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı ve başlangıç pH'ına göre biyoremediasyonu, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7-8-9-10)



Şekil 4.28 *P. frequentans*'ın başlangıç pH'ına göre zamana bağlı kütlesi, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Sıcaklık: 20 C, Besiyeri konsantrasyonu: 17 gr/L, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 4-5-6-7-8-9-10)

4.4 Besiyeri Konsantrasyonunun Biyoremediasyona Etkisi

Besiyeri miktarının biyoremediasyona etkisini belirlemek üzere *Penicillium Jensenii* ve *Penicillium frequentans* mantar türleri ile ağır metal giderimleri gerçekleştirilmiştir. Önceki çalışmalarda besiyeri miktarı 17gr/L olacak şekilde hazırlanmıştır. Bu çalışmada

ise besiyeri miktarı 8,5 gr/L ve 4,25 gr/L olacak şekilde azaltılmış ve optimum başlangıç pH'ına göre denenmiştir.

4.4.1 Besiyeri Dozunun Penicillium jensenii ile Demir Giderimi Üzerine Etkisi

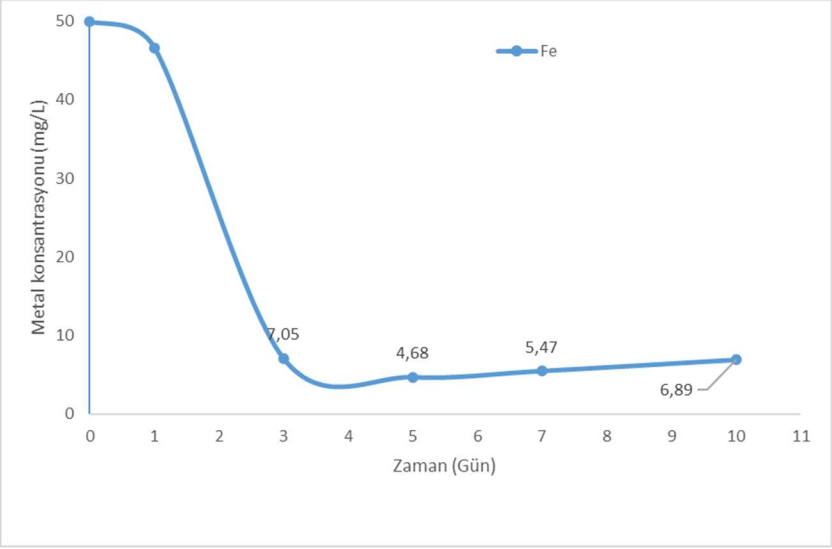
- 50 mg/L ağır metal ile azalan besiyeri miktarına göre biyoremediasyonu:

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu ve 1/2 besiyeri (8.5 g/L) ortamında bulunan *Penicillium jensenii* mantarı demir konsantrasyonunu 5. günde 4,68 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 6,89 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki metal konsantrasyonuna göre %90,64 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.19) (Şekil 4.29).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 214,4 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.19).

Tablo 4.19 Besiyeri azalışına göre (1/2) *P. Jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	7,05	4,68	5,47	6,89
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	214,4				

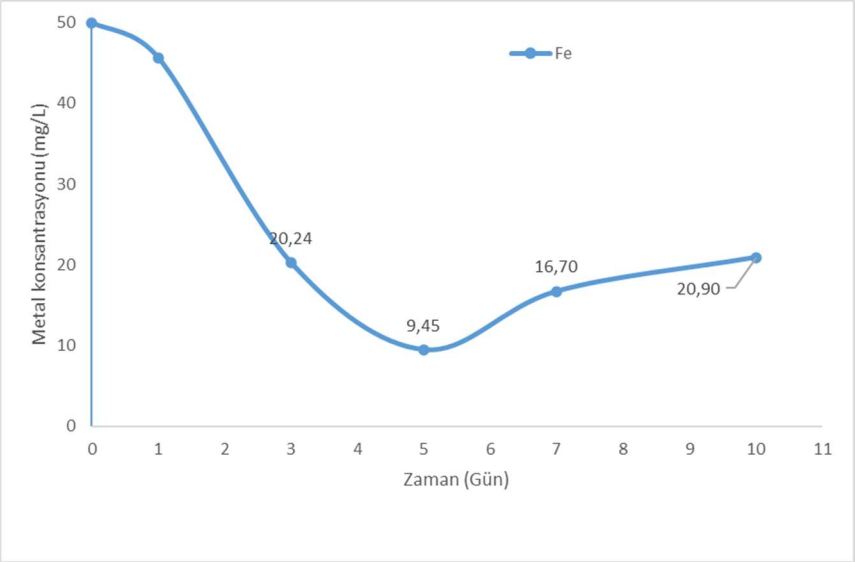


Şekil 4.29 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,98)

Besiyeri konsantrasyonu 1/4'e (4.25 g/L) düşürülünce ortamında bulunan *Penicillium jensenii* mantarı demir konsantrasyonunu 5. günde 9,45 mg/L'ye düşürerek %81,10 arıtım yapmıştır (Tablo 4.20) (Şekil 4.30). Ağır metal arıtımı tam besiyerinde %92,5, yarım besiyerinde %90.64 olduğu tespit edilmiştir. Besiyeri konsantrasyonu 1/4'e düşünce %81,10 giderim yaparak kabul edilebilir düzeyde olduğu görülmektedir. Bu araştırmada 1/2 oranında besiyeri kullanmanın rasyonel olacağı görülmektedir.

Tablo 4.20 Besiyeri azalışına göre (1/4) *P. jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	20,24	9,45	16,70	20,90
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	152,35				



Şekil 4.30 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6,10)

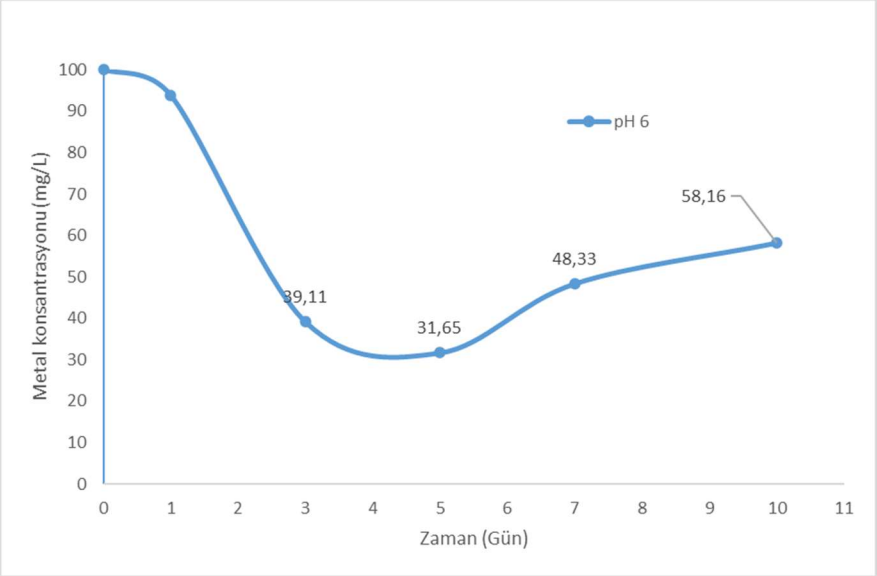
- 100 mg/L ağır metal ile azalan besiyeri miktarına göre biyoremediasyonu:

pH=6; 10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'sı 6 olarak hazırlanan sentetik atıksu - 1/4 besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 31,65 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 58,16 mg/L değerinde

ölçülmüştür. Optimum arıtma süresi olarak tespit edilen 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %68,35 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 132,9 mg ölçülmüştür (Tablo 4.21).

Tablo 4.21 Besiyeri azalışına ve pH: 6'ya göre *P. jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi

pH:6 Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	100	39,11	31,65	48,33	58,16
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	132,9				



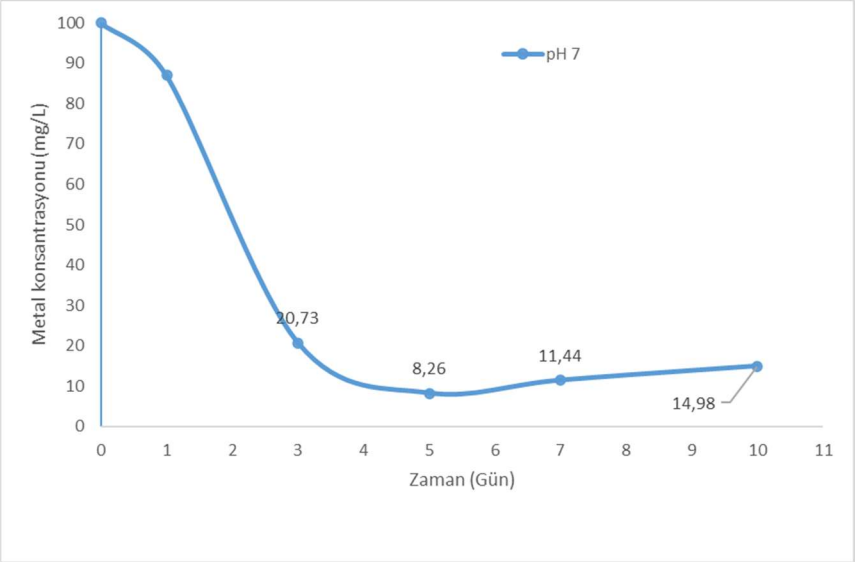
Şekil 4.31 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6)

pH=7; 10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'ı 7 olarak hazırlanan sentetik atıksu – 1/4 besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 8,26 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 14,98 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %91,74 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 281,4 mg ölçülmüştür (Tablo 4.22). Tam besiyeri ile arıtım kıyaslandığında tam besiyeri ile %92,87 oranında giderim sağlanmıştır. 1/4 besiyeri ile %91,74 oranında arıtım giderimi ile yaklaşık aynı arıtım sağlanmıştır. O nedenle besiyerinin azaltılması pH ayarlaması yapılarak, yani optimum pH'ta giderim yapılarak, giderimi verimini

önemli derecede etkilemiştir. Bu araştırmada 1/4 oranında besiyeri kullanmanın hem ekonomik hem de rasyonel olacağı görülmektedir.

Tablo 4.22 Besiyeri azalışına ve pH: 7'ye göre *P. jensenii*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi

Gün / pH:7	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	100	20,73	8,26	11,44	14,98
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	281,4				



Şekil 4.32 *P. jensenii* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 7)

4.4.2 Besiyeri Dozunun Penicillium frequentans ile Demir Giderimi Üzerine Etkisi

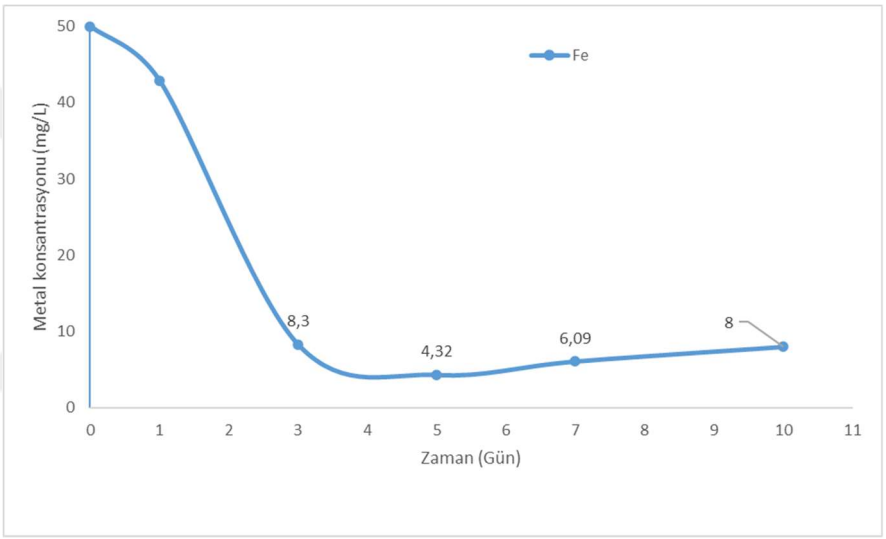
- 50 mg/L ağır metal ile azalan besiyeri miktarına göre biyoremediasyonu:

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu ve 1/2 besiyeri ortamında bulunan *Penicillium frequentans* mantarı demir konsantrasyonunu 5. günde 4,32 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 8 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %91,36 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.23) (Şekil 4.33).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 150,8 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.23).

Tablo 4.23 Besiyeri azalışına göre (1/2) *P. frequentans*'ın demir biyoremediasyonuna etkisi

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	8,3	4,32	6,09	8
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	150,8				



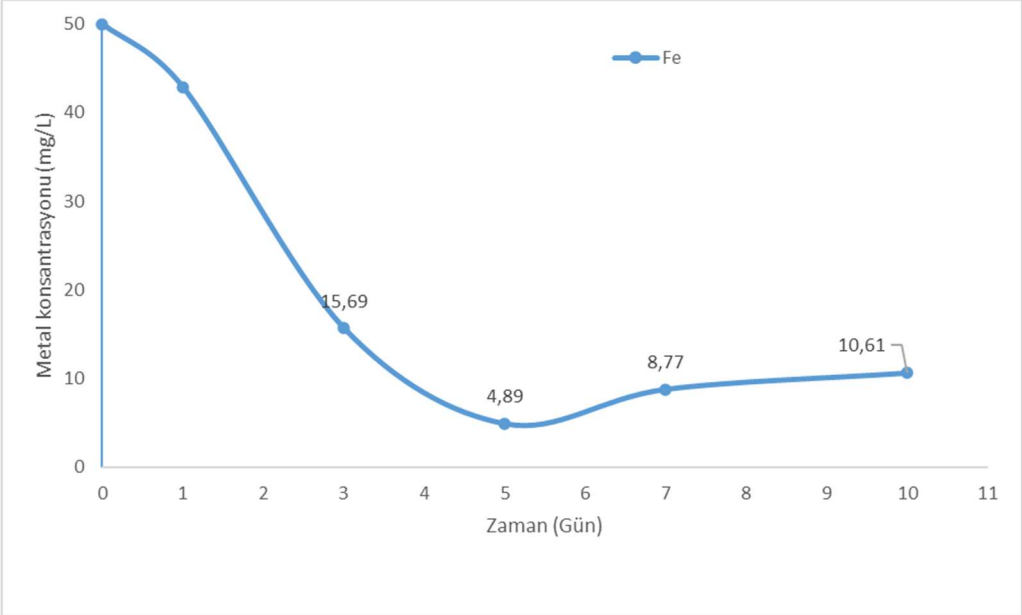
Şekil 4.33 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,98)

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu ve 1/4 besiyeri ortamında bulunan *Penicillium frequentans* mantarı demir konsantrasyonunu 5. günde 4,89 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 10,61 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %90,22 oranında giderim sağlanmıştır (Tablo 4.24) (Şekil 4.34).

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 130,7 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.24).

Tablo 4.24 Besiyeri azalışına göre (1/4) *P. frequentans*'nin demir biyoremediasyonuna etkisi

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	15,69	4,89	8,77	10,61
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	130,7				



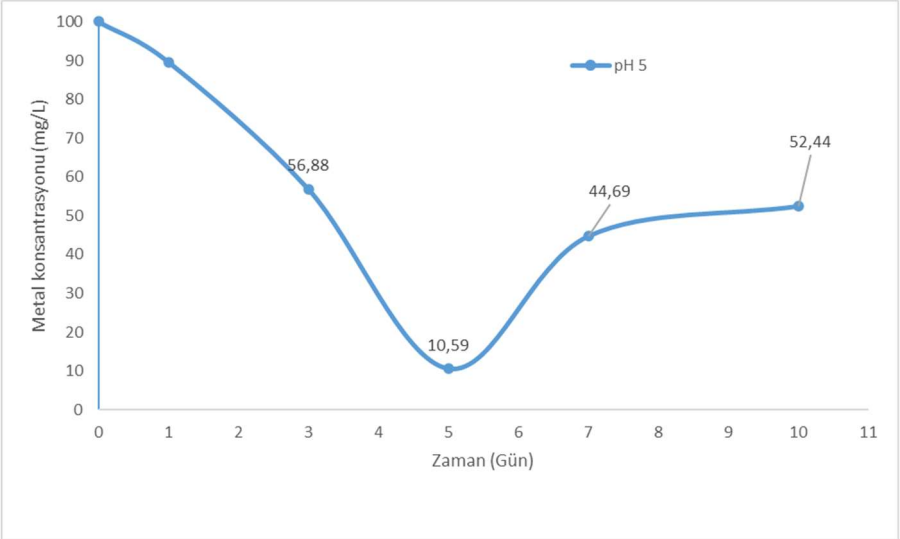
Şekil 4.34 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6,10)

- 100 mg/L ağır metal ile azalan besiyeri miktarına göre biyoremediasyonu:

10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'ı 5 olarak hazırlanan sentetik atıksu – 1/4 besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 10,59 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 52,44 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %89,41 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 216,4 mg ölçülmüştür (Tablo 4.25).

Tablo 4.25 Besiyeri azalışına ve pH:5'e göre *P. frequentans*'ın demir biyoremediasyonuna etkisi

pH:5 Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	100	56,88	10,59	44,69	52,44
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	216,4				

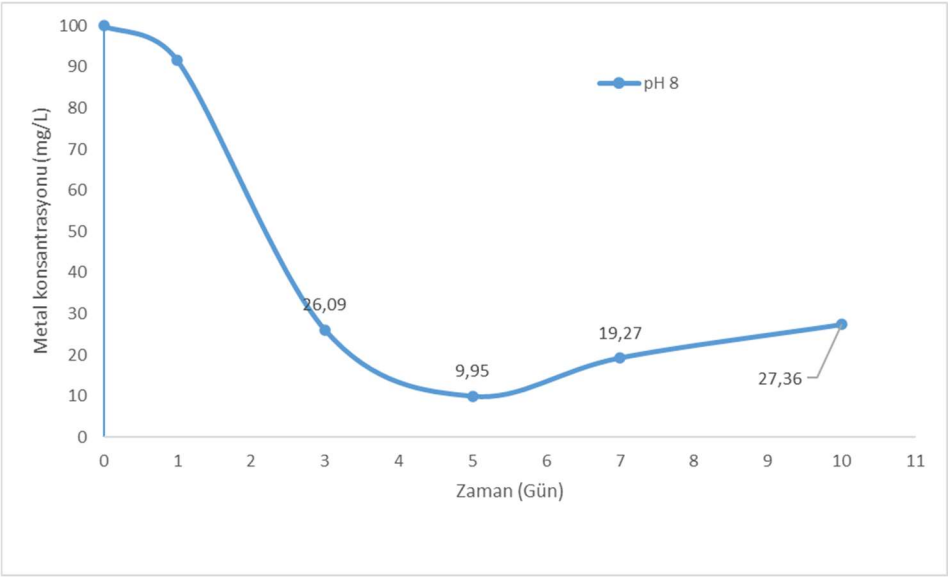


Şekil 4.35 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5)

10 gün süren çalışma sonucunda 100 mg/L demir içeren Demir (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'ı 8 olarak hazırlanan sentetik atıksu – 1/4 besiyeri ortamında bulunan mantar, demir konsantrasyonunu 5. günde 9,95 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 27,36 mg/L değerinde ölçülmüştür. 5. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %90,05 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 264,2 mg ölçülmüştür (Tablo 4.26).

Tablo 4.26 Besiyeri azalışına ve pH:8'e göre *P. frequentans*'ın demir biyoremediasyonuna etkisi

pH:8 Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	100	26,09	9,95	19,27	27,36
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	264,2				



Şekil 4.36 *P. frequentans* ile demirin zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 100 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 8)

Çalışmalar kıyaslanarak değerlendirildiğinde; yani 1/4 besiyerinin ile arıtımın tam besiyeri ve yarım besiyeri arıtımıyla kıyaslanması sonucu, 50 mg/L kirletici tam besiyeri ile %93,98 oranında, 1/2 besiyeri ile %91,36 ve 1/4 besiyeri ile %90,22, 100 mg/L kirletici tam besiyeri ile %92,00 oranında, 1/4 besiyeri ile %90,05 giderim sağlandığı görülmektedir. Giderim oranlarının tam ve 1/4 besiyeri ile yaklaşık aynı arıtım sağlandığı görülmektedir. Bu nedenle besiyerinin azaltılması pH ayarlaması yapılarak, yani optimum pH'ta giderim yapılarak, giderim verimini önemli derecede etkilememiştir. Buradan da besiyeri miktarının 1/4 oranında kullanılmasının hiçbir mahsurunun olmayacağı ortaya çıkmaktadır.

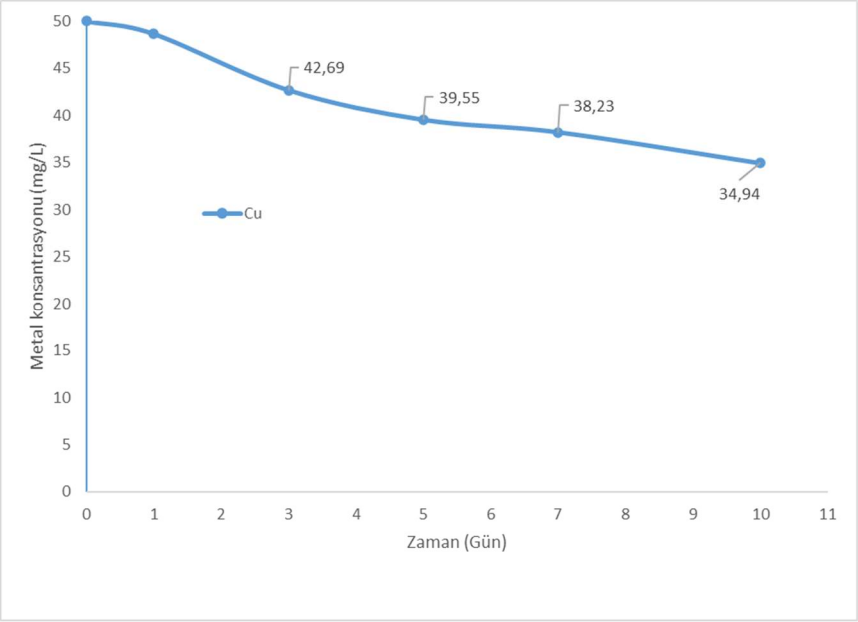
4.4.3 Besiyeri Dozunun Penicillium jensenii ile Bakır Giderimi Üzerine Etkisi

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu ve 1/2 besiyeri ortamında bulunan *Penicillium jensenii* mantarı bakır konsantrasyonunu 10. günde 34,94 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gündeki metal konsantrasyonuna göre %30,12 oranında giderim sağlanmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 120,6 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.27).

Tablo 4.27 Besiyeri azalışına göre *P. jensenii*'nin bakır biyoremediasyonuna etkisi

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	42,69	39,55	38,23	34,94
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	120,6				



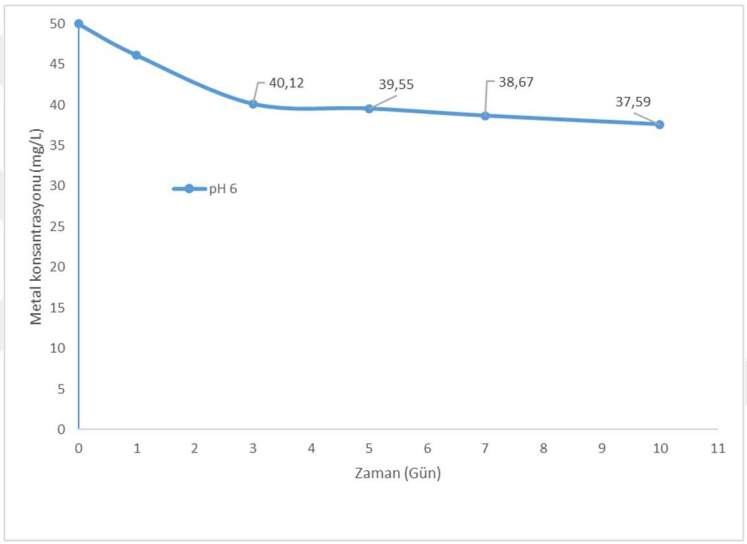
Şekil 4.37 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,16)

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'ı 6 olarak hazırlanan sentetik atıksu – 1/4 besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 10. günde 37,59 mg/L değerine düşürmüştür. 10.

gündeki metal konsantrasyonuna göre %24,82 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 62,4 mg ölçülmüştür (Tablo 4.28).

Tablo 4.28 Besiyeri azalışına ve pH:6'ya göre *P. jensenii*'nin bakır biyoremediasyonuna etkisi

pH:6 Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	40,12	39,55	38,67	37,59
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	62,4				



Şekil 4.38 *P. jensenii* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6)

P. jensenii ile bakır gideriminde arıtma seyri 10 gün boyunca azalarak devam etmekte ve pH: 5,16'da ve 1/2 besiyeri ortamında 10. günde 50 mg/L bakırın %30,12 giderdi, optimum giderim verimi olan pH: 6'da 1/4 besiyeri ortamında 50 mg/L bakırın %24,82 giderim yapmıştır. Bakırın toksik etkisi dikkate alındığında besiyeri oranı düştükçe bakır sülfat giderimi azalmaktadır.

4.4.4 Besiyeri Dozunun Penicillium frequentans ile Bakır Giderimi Üzerine Etkisi

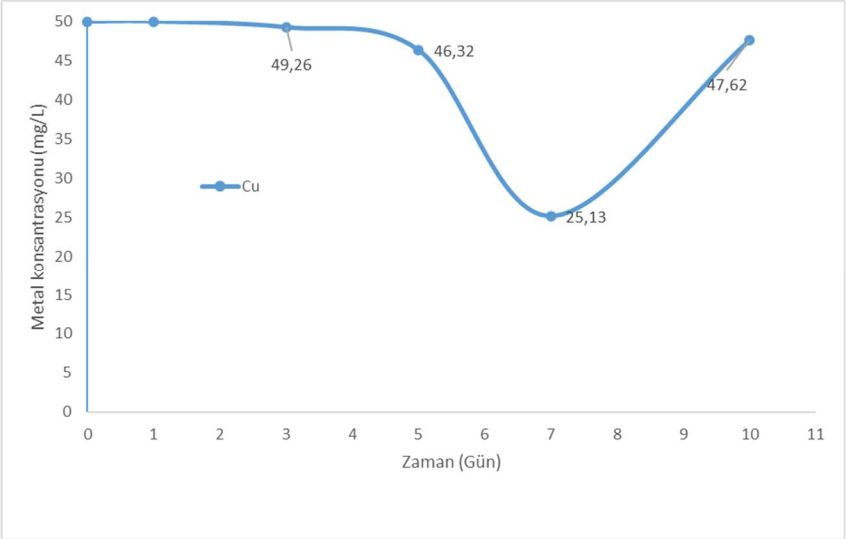
10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak hazırlanan sentetik atıksu ve 1/2 besiyeri ortamında bulunan *Penicillium frequentans*

mantarı bakır konsantrasyonunu 7. günde 25,13 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 47,62 mg/L değerinde ölçülmüştür. 7. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %49,74 oranında giderim sağlanmıştır.

Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 105,3 mg ölçülmüştür. Metal giderimiyle orantılı bir şekilde mikroorganizma büyümesi olduğu gözlemlenmiştir (Tablo 4.29).

Tablo 4.29 Besiyeri azalışına göre *P. frequentans*'ın bakır biyoremediasyonuna etkisi

Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	49,26	46,32	25,13	47,62
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	105,3				

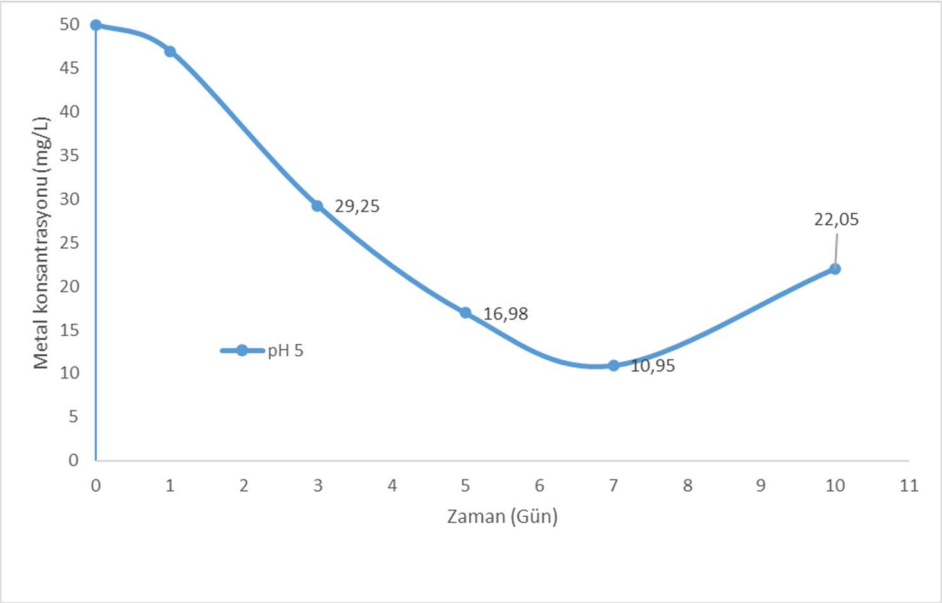


Şekil 4.39 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 8,5 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5,16)

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'ı 5 olarak hazırlanan sentetik atıksu – 1/4 besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 7. günde 10,95 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 22,05 mg/L değerinde ölçülmüştür. 7. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %78,1 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 140,8 mg ölçülmüştür (Tablo 4.30).

Tablo 4.30 Besiyeri azalışına ve pH:5'e göre *P. frequentans*'ın bakır biyoremediasyonuna etkisi

pH:5 Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	29,25	16,98	10,95	22,05
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	140,8				

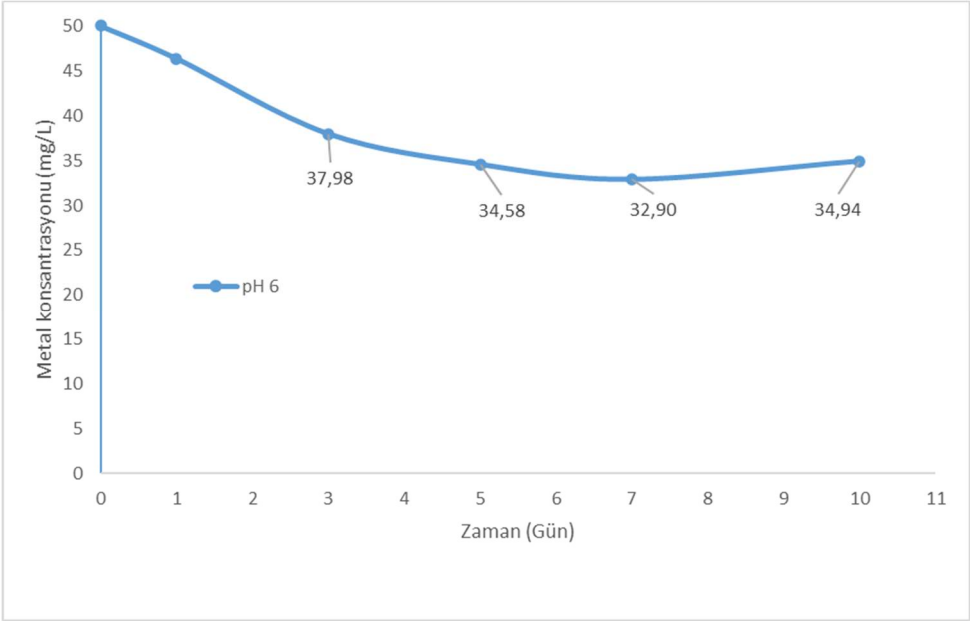


Şekil 4.40 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 5)

10 gün süren çalışma sonucunda 50 mg/L bakır içeren Bakır (II) sülfat kullanılarak ve başlangıç pH'ı 6 olarak hazırlanan sentetik atıksu – 1/4 besiyeri ortamında bulunan mantar, bakır konsantrasyonunu 7. günde 32,90 mg/L değerine düşürmüştür. 10. gün sonunda ise ortamda metal konsantrasyonu 34,94 mg/L değerinde ölçülmüştür. 7. gündeki en düşük metal konsantrasyonuna göre %34,2 oranında giderim sağlanmıştır. Yapılan çalışma sonucunda 10. günün sonunda kuru mantar kütlesi 90,7 mg ölçülmüştür (Tablo 4.31).

Tablo 4.31 Besiyeri azalışına ve pH:6'ya göre *P. frequentans*'ın bakır biyoremediasyonuna etkisi

pH:6 Gün	0	3	5	7	10
Metal Konsantrasyonu (mg/L)	50	37,98	34,58	32,90	34,94
Kuru Mantar Kütlesi (mg)	90,7				



Şekil 4.41 *P. frequentans* ile bakırın zamana bağlı biyoremediasyonu ve mantar ağırlığı, deneysel koşullar (Kirletici Konsantrasyonu: 50 mg/L, Besiyeri konsantrasyonu: 4,25 gr/L Sıcaklık: 20 C, Karıştırma Hızı: 140 rpm, pH: 6)

P. frequentans ile bakır gideriminde optimum pH: 5'te %78,1 ile en iyi giderim sağlanmıştır.

4.5 Biyoremediasyon Mekanizmasının Aydınlatılması: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi (FTIR) Spektroskopisi Analiz Sonuçları

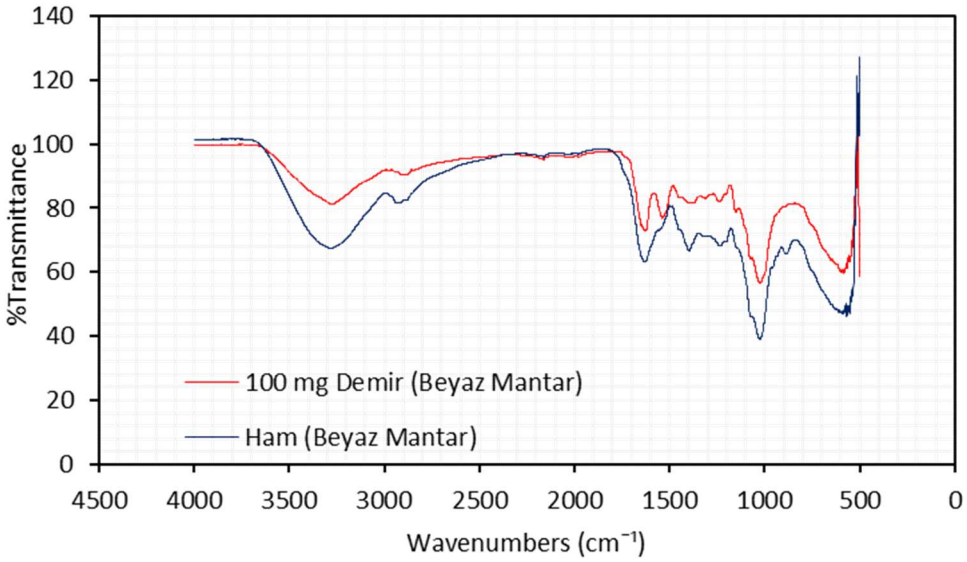
Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, küçük yapısal değişikliklere duyarlı olan amino asitlerin ve kofaktörlerin titreşim özelliklerini araştırır. Bu yöntem asıl olarak moleküllerin içindeki bağların üstüne düşen kızılötesi ışınların, bağların titreşim ve dönme hareketleri ile soğurulmasına dayanır. Bu tekniğin özgüllüğünün olmaması, hemen hemen tüm kofaktörlerin, amino asit yan zincirlerinin ve su moleküllerinin titreşimsel özelliklerini doğrudan araştırmamıza izin verir. Ancak bu olay sadece dipol momente sahip polar moleküllerde gözlenir. Bu yöntem ile; molekül içi bağların tayini, molekül yapısının tayini, molekül içi fonksiyonel grupların incelenmesi, kütüphane taraması ile bilinmeyen molekül tayini, kantitatif program ile numune içerisindeki bileşenlerin miktar tayini yapılabilmektedir. Bu cihaz bu çalışmada molekül içi bağların tayini ve molekül içi fonksiyonel grupların incelenmesi amacıyla kullanılmıştır [139].

Bu amaçla yaptığımız biyoremedisasyon çalışmalarında mantarların ağır metal giderim mekanizmasında hangi kimyasal bağlar ve aktif grupları kullanarak ağır metal

giderimini yaptığını açıklayabilmek için kullanılan *Penicillum jensenii* ve *Penicillum frequentans* mantar biyokütlelerinin biyoremediasyondan önce ve biyoremediasyondan sonra FTIR spektrumları çekilmiştir. Alınan bu spektrumlarda biyoremediasyondan önce ve biyoremediasyondan sonra alınan pikler ile biyoremediasyondan sonra molekül içi bağların ve fonksiyonel grupların tayini yapılarak biyoremediasyon mekanizması aydınlatılmıştır.

4.5.1 Penicillium jensenii ile Demir Biyoremediasyonu Sonucu FTIR Analizi

Penicillum jensenii mantarı ile demir giderimi analiz spektrumları Şekil 4.42'ta ve bu spektrumların incelenmesi sonucu reaksiyona giren molekül içi bağlar ve fonksiyonel grupların değerlendirme sonuçları Tablo 4.32'da verilmiştir.



Şekil 4.42 *P. jensenii* mantarı ile demir giderim analiz spektrumları

Tablo 4.32 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları

Reaksiyona giren aktif grupların spektrumları			Aktif Grup
Biyoremediasyondan önce	Biyoremediasyondan sonra	Fark	
3250	3250	0	Bonded –OH groups, –NH stretching
2946	2950	4	Aliphatic C-H group

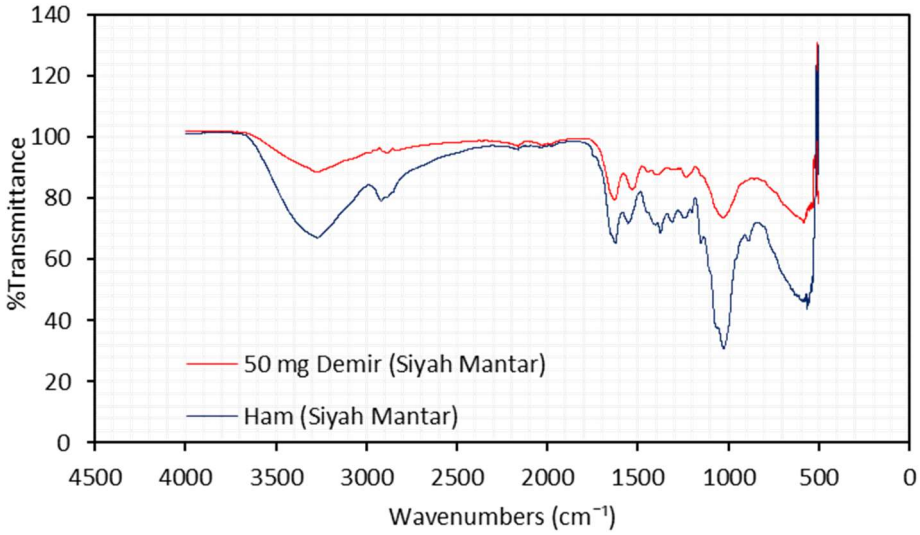
Tablo 4.32 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları (devamı)

2932	2919	-3	Aliphatic C-H group C–H stretching
2913	2910	-3	C–H stretching
2159	2148	-11	Carbonyl (C=O) stretching
1618	1577	41	C = O stretching
1551	1517	34	Secondary amine group
1388	1364	24	Carboxyl groups
1276	1297	-21	-SO3 stretching
1222	1223	-1	-SO3 stretching
1123	1116	7	C - O stretching
1077	1111	-34	C - O stretching
1016	982	34	C = O stretching
876	876	0	Aromatic -CH stretching
552	591	-39	-C-C- group
567	531	36	CN stretching

Tablo incelendiğinde; *Penicillum Jensenii* ile demir gideriminde, Carbonyl (C=O) stretching, C = O stretching, Secondary amine group, Carboxyl groups, -SO3 stretching, C-O stretching, -C-C- group, CN stretching grupları aktif olarak reaksiyona girerek biyoremediasyon işleminde görev aldığı görülmektedir[140], [141].

4.5.2 Penicillium frequentans ile Demir Biyoremediasyonu Sonucu FTIR Analizi

Penicillum frequentans mantarı ile demir giderimi analiz spektrumları Şekil 4.43'te ve bu spektrumların incelenmesi sonucu reaksiyona giren molekül içi bağlar ve fonksiyonel grupların değerlendirme sonuçları Tablo 4.33'te verilmiştir.



Şekil 4.43 *P. frequentans* mantarı ile demir giderim analiz spektrumları

Tablo 4.33 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları

Reaksiyona giren aktif grupların spektrumları			Aktif Grup
Biyoremediasyondan önce	Biyoremediasyondan sonra	Fark	
3259	3263	-3	Bonded –OH groups, –NH stretching
2926	Pik kayboldu	Bilinmiyor	C–H stretching
2157	2172	-15	Carbonyl (C=O) stretching
1966	1991	-25	C-C groups
1620	1670	-50	C = O stretching
1546	1496	50	Secondary amine group
1369	1370	-1	Carboxyl groups
1303	Pik kayboldu	Bilinmiyor	–SO3 stretching
1226	Pik kayboldu	Bilinmiyor	–SO3 stretching
1198	1213	-15	C–O stretching
1145	1155	-10	C - O stretching

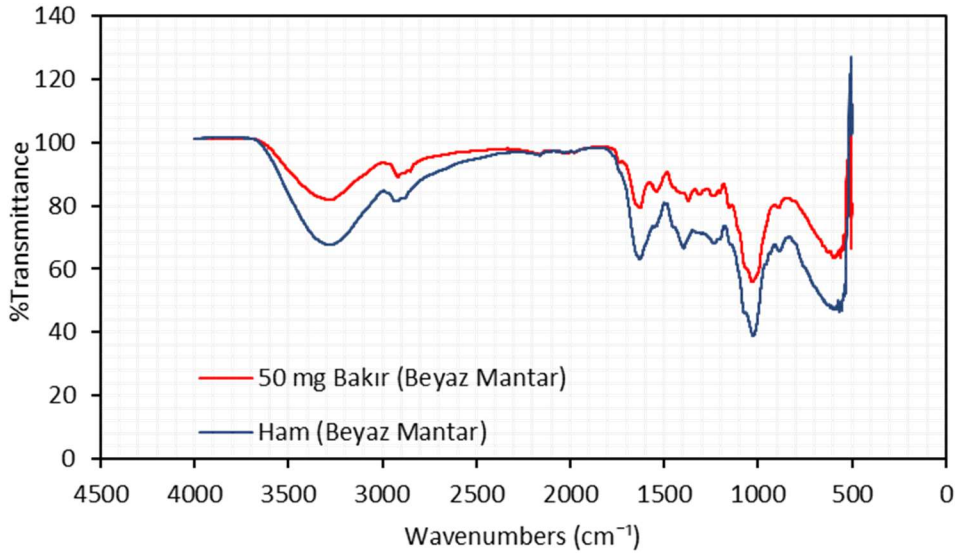
Tablo 4.33 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları (devamı)

1018	1013	5	C = O stretching
885	Pik kayboldu	Bilinmiyor	–C–C– group
562	586	-24	-C-C- group

Penicillum frequentans ile demir gideriminde; Bonded –OH groups,-NH stretching, C–H stretching Carbonyl (C=O) stretching, C-C groups, C = O stretching, Secondary amine group, -SO3 stretching, C - O stretching, -C-C- group grupları aktif olarak reaksiyona girerek biyoremediasyon işleminde görev almıştır[140], [141].

4.5.3 Penicillium jensenii ile Bakır Biyoremediasyonu Sonucu FTIR Analizi

Penicillum jensenii mantarı ile bakır giderimi analiz spektrumları Şekil 4.44'te ve bu spektrumların incelenmesi sonucu reaksiyona giren molekül içi bağlar ve fonksiyonel grupların değerlendirme sonuçları Tablo 4.34'te verilmiştir.



Şekil 4.44 *P. jensenii* mantarı ile bakır giderim analiz spektrumları

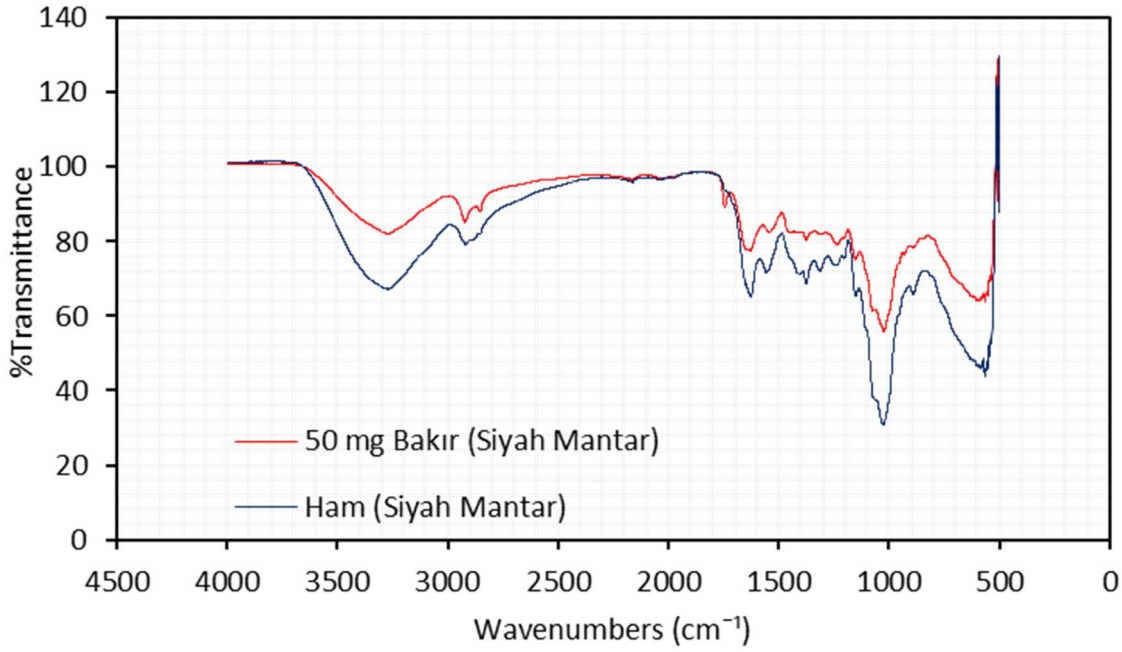
Tablo 4.34 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları

Reaksiyona giren aktif grupların spektırumları			Aktif Grup
Biyoremediasyondan ö.	Biyoremediasyondan s.	Fark	
3250	3256	-6	Bonded –OH groups, –NH stretching
2943	2910	33	Aliphatic C-H group C–H stretching
2864	2845	19	Aliphatic C–H group C–H stretching
2152	2152	0	Carbonyl (C=O) stretching
2016	2016	0	Carbonyl (C=O) stretching
1969	1969	0	C-C groups
1718	1741	-23	C=O stretching
1619	1621	-2	C=O stretching
1392	1365	27	Carboxyl groups
Pik yok	1304	Bilinmiyor	–SO3 stretching
1225	1225	0	-SO3 stretching
1197	1165	32	C–O stretching
1133	Pik yok	Bilinmiyor	C- O stretching
1077	Pik yok	Bilinmiyor	C- O stretching
1021	985	36	C = O stretching
876	883	-7	Aromatic -CH stretching
580	582	-2	-C-C- group
552	529	23	CN stretching

Penicillum Jensenii ile bakır gideriminde; Bonded –OH groups, -NH stretching, Aliphatic C-H group, C–H stretching, C=O stretching, Carboxyl groups, C–O stretching, Aromatic -CH stretching, CN stretchi grupları aktif olarak reaksiyona girerek biyoremediasyon işleminde görev almıştır[140], [141].

4.5.4 Penicillium frequentans ile Bakır Biyoremediasyonu Sonucu FTIR Analizi

Penicillum frequentans mantarı ile bakır giderimi analiz spektrumları Şekil 4.45'te ve bu spektrumların incelenmesi sonucu reaksiyona giren molekül içi bağlar ve fonksiyonel grupların değerlendirme sonuçları Tablo 4.35'te verilmiştir.



Şekil 4.45 *P. frequentans* mantarı ile bakır giderim analiz spektrumları

Tablo 4.35 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları

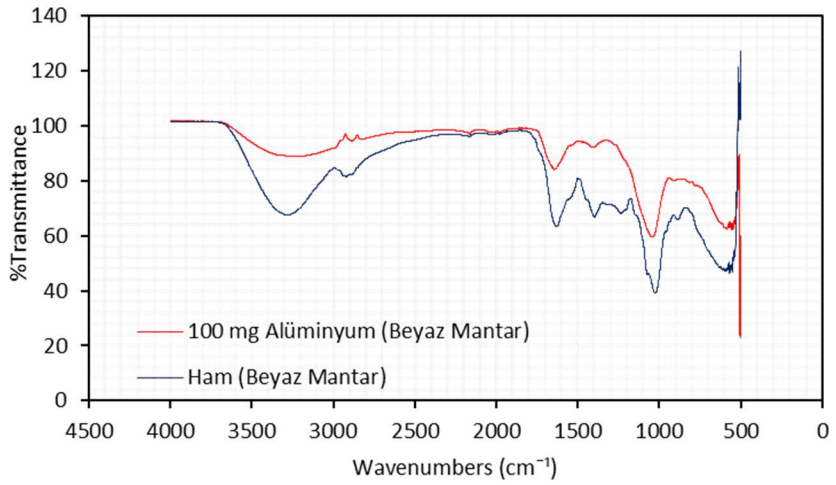
Reaksiyona giren aktif grupların spektırumları			Aktif Grup
Biyoremediasyondan önce	Biyoremediasyondan sonra	Fark	
3259	3245	14	Bonded –OH groups, –NH stretching
2910	2949	-39	C–H stretching
2846	2812	34	Aliphatic C–H group C–H stretching
2150	2147	3	Carbonyl (C=O) stretching
Pik yok	1696	Bilinmiyor	C = O stretching
1620	1590	30	C = O stretching
1546	1502	44	Secondary amine group
1395	Pik kayboldu	Bilinmiyor	Carboxyl groups
1369	1369	0	Carboxyl groups
1303	Pik kayboldu	Bilinmiyor	–SO3 stretching
1226	1195	31	–SO3 stretching
1199	1192	7	C–O stretching
1145	1167	-22	C - O stretching
1020	965	55	C - O stretching
883	883	0	–C–C– group
563	531	32	–C–C– group

Penicillum frequentans ile bakır gideriminde; Bonded –OH groups, -NH stretching, Aliphatic C–H group C–H stretching, C- O stretching, Secondary amine group,

Carboxyl groups, -SO3 stretching, C–O stretching, grupları aktif olarak reaksiyona girerek biyoremediasyon işleminde görev almıştır[140], [141].

4.5.5 Penicillium jensenii ile Alüminyum Biyoremediasyonu Sonucu FTIR Analizi

Penicillum jensenii mantarı ile alüminyum giderimi analiz spektrumları Şekil 4.46'te ve bu spektrumların incelenmesi sonucu reaksiyona giren molekül içi bağlar ve fonksiyonel grupların değerlendirme sonuçları Tablo 4.36'te verilmiştir.



Şekil 4.46 *P. jensenii* mantarı ile alüminyum giderim analiz spektrumları

Tablo 4.36 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları

Reaksiyona giren aktif grupların spektrumları			Aktif Grup
Biyoremediasyondan önce	Biyoremediasyondan sonra	Fark	
3300	3216	84	Bonded –OH groups, –NH stretching
2945	2937	8	Aliphatic C–H group
2910	2910	0	Aliphatic C–H group
2150	2125	25	Carbonyl (C=O) stretching
1617	1692	-75	C = O stretching

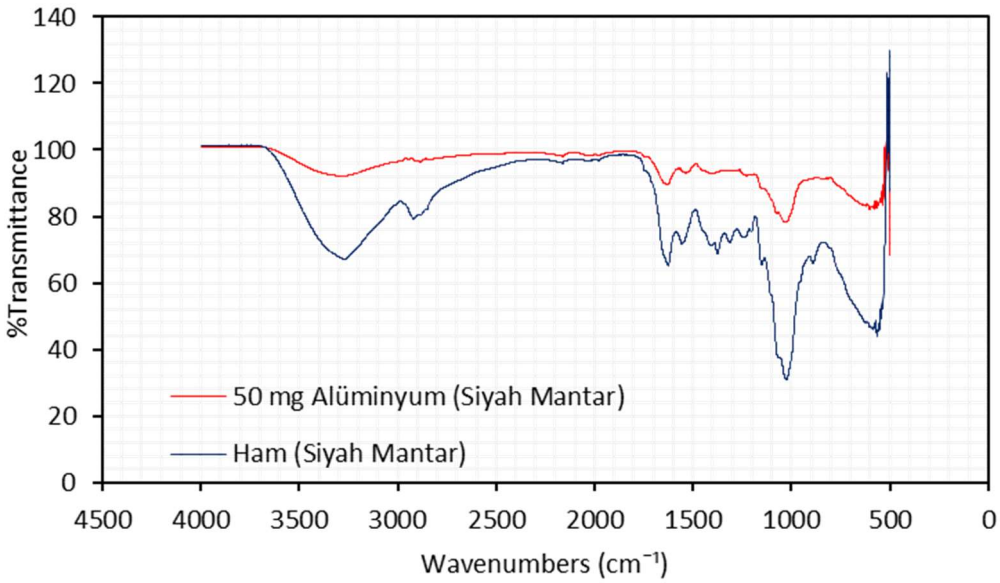
Tablo 4.36 *P. jensenii* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları (devamı)

1389	1464	-75	Carboxyl groups
1220	Pik yok oldu	Bilinmiyor	–SO3 stretching
1078	Pik yok oldu	Bilinmiyor	C - O stretching
1017	1099	-82	C = O stretching
927	929	-2	–C–C– group
873	Pik yok oldu	Bilinmiyor	–C–C– group
585	603	-18	–C–C– group
552	529	23	CN stretching
553	530	23	CN stretching

Penicillum Jensenii ile alüminyum gideriminde; Bonded –OH groups,-NH stretching, Aliphatic C-H group, Carbonyl (C=O) stretching, C = O stretching, Carboxyl groups, C = O stretching, CN stretching grupları aktif olarak reaksiyona girerek biyoremediasyon işleminde görev almıştır[140], [141].

4.5.6 Penicillium frequentans ile Alüminyum Biyoremediasyonu Sonucu FTIR Analizi

Penicillum frequentans mantarı ile alüminyum giderimi analiz spektrumları Şekil 4.47'te ve bu spektrumların incelenmesi sonucu reaksiyona giren molekül içi bağlar ve fonksiyonel grupların değerlendirme sonuçları Tablo 4.37'te verilmiştir.



Şekil 4.47 *P. frequentans* mantarı ile alüminyum giderim analiz spektrumları

Tablo 4.37 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları

Reaksiyona giren aktif grupların spektırumları			Aktif Grup
Biyoremediasyondan önce	Biyoremediasyondan sonra	Fark	
3293	3245	48	Bonded –OH groups, –NH stretching
2926	2963	-37	C–H stretching
2844	2910	-66	Aliphatic C–H group C–H stretching
2149	2120	29	Carbonyl (C=O) stretching
1999	1999	0	C-C groups
1619	1618	1	C = O stretching
1540	1514	26	Secondary amine group
1369	1366	3	Carboxyl groups

Tablo 4.37 *P. frequentans* mantarı ile biyoremediasyondan sonrası piklerinin değerlendirme sonuçları (devamı)

1302	Pik kayboldu	Bilinmiyor	–SO3 stretching
1224	1201	23	–SO3 stretching
1167	1168	-1	C - O stretching
1144	1112	32	C - O stretching
1019	1014	5	C - O stretching
883	Pik kayboldu	Bilinmiyor	–C–C– group
562	520	42	–C–C– group

Penicillum frequantans ile alüminyum gideriminde; Bonded –OH groups,-NH stretching, C–H stretching, Aliphatic C–H group C–H stretching, Carbonyl (C=O) stretching, Secondary amine group, Carboxyl groups, -SO3 stretching, C–O stretching, –C–C– group grupları aktif olarak reaksiyona girerek biyoremediasyon işleminde görev almıştır[140], [141].

4.5.7 Aktif Grupların Reaksiyona Girdiği Organik Moleküller ve Biyoremediasyon mekanizması

FTIR analiz sonuçları incelendiğinde biyoremediasyon mekanizmalarında bulunan aktif gruplar ve bu grupların reaksiyona girdiği muhtemel organik bileşikler araştırılarak Tablo 4.38'de gösterilmiştir [140]–[145]. Böylece biyoremediasyonda hangi bağların hangi molekül ve organik bileşikler ile reaksiyona girerek mikrobiyal metabolizmada görev aldığı belirlenerek biyoremediasyon mekanizması açıklanmıştır.

Tablo 4.38 Aktif grupların reaksiyona girdiği muhtemel organik moleküller

Aktif Grup	Band genişliği	Reaksiyona girdiği muhtemel organik moleküller
–NH stretching	3300	Şekerler, Amino asitler, proteinler
CN stretching	3259	Şekerler, Amino asitler

Tablo 4.38 Aktif grupların reaksiyona girdiği muhtemel organik moleküller (devamı)

Bonded –OH groups	3245, 3250	Şekerler, Amino asitler
Aliphatic C-H group	2812,2845,2910,2945	Şekerler
C–H stretching	2845,2910,2949,2963	b-anomerik: şekerler; m (CH) simetrik: ana şekerler
Carbonyl (C=O) stretching	2125, 2149	Karboksilik asitler veya bunların esterleri Lignin ve pektin bağları
C = O stretching	1590,1621,1741,1692 ,1696	Proteinler; birincil amidler: amino asitler
Secondary amine group	1502, 1540	Amino asitler; seconder amidlerdeki peptit bağları
Carboxyl groups	1365, 1369, 1395, 1464	Lignin, pektin, hemiseluloz ve extraktif maddeler, amino asitler
-SO3 stretching	1195, 1225, 1303, 1304	Şekerler; m (CN): amino asitler, simetrik sulfonatlar, (SiOSi) antisimetrik: biosilikalar
C - O stretching	965, 1014,1078,1133, 1144, 1165, 1167, 1199	Şekerler; m (CN): amino asitler, asimetrik sulfonatlar, (SiOSi) antisimetrik: biosilikalar, ketonlar, aldehitler ve laktonlar.
Aromatic -CH stretching	883	b-anomerik şekerler; m (COS) simetrik fucoidanlar, SiOH içinde m (SiO): biyosilikalar hidroksiller, karboksilik asitler, amid ve fosfatlar
-C-C- group	582,563,873,883	Antisimetrik: fucoidanlar ve sülfatlar
CN stretching	529,553	Anomerik ana şeker molekülleri

Bu konuda Yaşar Nuhoğlu ve araştırma ekibi tarafından yapılan araştırmalarda Carboxy fonksiyonel gruplarının bu araştırmada arıtımını yaptığımız demir, aliminyum ve bakır

gibi metal katyonlarının atıksulardan veya mikroorganizmaların yaşadığı ortamlardan gideriminde/arıtılmasında rol oynadığı ortaya konulmuştur [140]. Aynı araştırma grubu yaptığı bir başka araştırmada metal iyonlarının bitki ve dolayısı ile mantar dokularında bulunan ve bol miktarda carboxl grubu içeren moleküller olan lignin, pektin, hemiseluloz ve extraktif maddeler tarafından yakalandığı tespit edilmiştir. Araştırmamızda kullandığımız *Penicillum* mantarları pektin, hemiseluloz ve extraktif maddeler bakımından zengin organizmalardır. Araştırmamızda karboksil fonksiyonel gruplarının etken grup olarak tespit edilmesi ve bu grupların pektin, hemiseluloz ve extraktif maddelerin sentezinde görev alması; giderim yaptığımız demir, aliminyum ve bakır gibi metal katyonlarının metabolizmada da görev aldığı ve atıksulardan ağır metal gideriminde rol oynadığını ortaya çıkmaktadır.

Yapılan diğer araştırmalarda biyisorpsiyon ve biyoremediasyona katılan aktif gruplar incelendiğinde 3300 cm band genişliğindeki –NH stretching bağları, 3259 bandındaki CN stretching bağları ve 3250 bandındaki Bonded –OH grouplarının mantarlardaki şeker ve amino asit sentezinde görev aldığı ortaya konmuştur. Şeker ve amino asitler karbonhidrat, yağ ve proteinlerin temel yapı taşları olduğu için arıtımını gerçekleştirdiğimiz metal sülfatların metabolizma faaliyetlerinde ve dolayısıyla biyoremediasyonda görev aldığı ortaya çıkmaktadır. Ancak yapılan deneylerde konsantrasyon arttıkça giderimin azalması bu metallerin konsantrasyon yükseldikçe toksik etki ettiğini göstermektedir. 2800-2900 bantlarında yer alan aliphatic C-H group bileşiklerinin şeker oluşumunda, yine yaklaşık aynı aralıkta yer alan C–H stretching bağlarının ise b-anomeric şekerler ve m (CH) symmetric ana şeker moleküllerinin sentezinde yer alarak biyoremediasyonda görev aldığı görülmektedir. 1500-1600 bantlarındaki C = O stretching bağlarının protein, primer amid ve amino asitlerlerin sentezinde, yine aynı aralıktaki sekonder amine grupların amino asitler ve sekonder amidlerdeki peptit bağları yapımında etkin rol alarak biyoremediasyonda etkili olduğu görülmektedir. 1300-1450 bandındaki karboxyl groupların lignin, pektin, hemiseluloz, extraktif maddelera ve mino asit sentezinde, 1100-1300 bandındaki -SO3 stretching bağlarının şekerler, m (CN): amino asitler, simetrik sulfonatlar, (SiOSi) antismetrik biosilika sentezinde etkili olduğu görülmektedir. 960-1200 bandındaki C - O stretching bağları şekerler; m (CN): amino asitler, asimetrik sulfonatlar, (SiOSi) antisimetrik biosilika sentezinde etkili olduğu, 883 bandında aromatic -CH stretching bağlarının b-anomerik şekerler; m (COS) simetrik fucoidanlar, m (SiO), SiOH ve biosilika

sentezinde, 500-880 bandındaki -C-C- gruplarının antisimetrik fucoidanlar ve sülfat sentezinde ve son olarak da 520-550 bandındaki CN stretching bağlarının anomerik ve ana şeker moleküllerinin sentezinde görev aldığı görülmektedir [140]–[145].

Bu bulgular biyoremediasyon mekanizmasında görev alan aktif grupların bu araştırmada kullandığımız mantarların giderim esnasındaki metabolizmalarında aktif görev aldığını ortaya koymuştur. Ancak şu andaki teknolojik seviye ile bu yöntemle giderdiğimiz demir sülfat, bakır sülfat ve alüminyum sülfatların canlı metabolizmasına hangi konsantrasyonlarda geçtiğini tespit etmek mümkün değildir [141].

Biyoremediasyon çalışmalarında görev alan mikroorganizmalar adsorpsiyon, absorpsiyon, mineralizasyon, mikrobiyal özütleme ve bunların tümünü kapsayan biyoremediasyon yolu ile ağır metal veya toksik maddeleri gidermektedir. Bu mekanizmalar zaman zaman girişim yaparak birbiri ile aynı maddeyi kullanabildiği için hangi yolun ağır metal veya kirletici arıtımında kantitatif olarak daha etkili olduğunu ortaya koymak zor ve çoğu zaman imkânsız hale gelmektedir. Ancak bu araştırmada atomik absorpsiyon ile ölçülen ağır metal giderimi bu beş mekanizmanın toplamı olarak net sonuçlar vermektedir.

5
SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1 Genel Değerlendirme

Çalışmada, mantar kültürlerinin ağır metalleri biyoremediasyon yöntemi ile arıtılabilirliği incelenmiştir. Çalışmanın ilk aşamasında iki farklı mantar türü ile artan ağır metal konsantrasyonlarına göre biyoremediasyonu yapılmış, ikinci aşamada ise başlangıç pH'larının iki farklı mantar türü ile sabit ağır metal konsantrasyonlarında biyoremediasyonu incelenmiştir. Üçüncü aşamada ise besiyeri miktarı belirli oranlarda azaltılarak ve optimum başlangıç pH'ına göre iki farklı türün ağır metal biyoremediasyonu incelenmiştir. Çalışmada elde edilen sonuçlar aşağıda verilmektedir:

- *P. jensenii* mantar türü ile yapılan 50 mg/L, 100 mg/L ve 200 mg/L demir konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre giderim verimleri sırası ile %92,50, %93,12 ve %88,71 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 313,5 mg, 262,80 mg ve 403,40 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile yapılan 50 mg/L, 100 mg/L ve 200 mg/L demir konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre giderim verimleri sırası ile %93,98, %92,00 ve %57,43 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 346,1 mg, 229,25 mg ve 196,9 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile yapılan 50 mg/L, 100 mg/L ve 200 mg/L bakır konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile %69,88, %46,62 ve %40,47 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 203,5 mg, 130,2 mg ve 146,4 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile yapılan 50 mg/L, 100 mg/L ve 200 mg/L bakır konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile %80,42, %59,02 ve %44,15 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 611,2 mg, 280,6 mg ve 210,7 mg olarak ölçülmüştür.

- *P. jensenii* mantar türü ile yapılan 100 mg/L ve 200 mg/L alüminyum konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile %93,89 ve %47,61 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 709,8 mg ve 620,7 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile başlangıç pH'daki değişimin sabit demir konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile pH: 6'da %95,68 ve pH:7'de %95,02 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 356,3 mg ve 271,2 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile başlangıç pH'daki değişimin sabit demir konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile pH: 5'te %94,10 ve pH:8'de %91,86 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 214,9 mg ve 283,3 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile başlangıç pH'daki değişimin sabit bakır konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile pH: 5'te %60,46 ve pH:6'da %59,78 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 288,7 mg ve 453,3 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile başlangıç pH'daki değişimin sabit bakır konsantrasyonunda biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile pH: 5'te %63,28 ve pH:8'de %47,30 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 538,6 mg ve 400,4 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile sabit demir konsantrasyonunda ve 1/2 besiyeri oranındaki azalışa göre biyoremediasyon sonucu giderim verimi %90,64 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 214,4 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile sabit demir konsantrasyonunda ve 1/4 besiyeri oranındaki azalışa göre biyoremediasyon sonucu giderim verimi %81,10 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 152,35 mg olarak ölçülmüştür.

- *P. frequentans* mantar türü ile sabit demir konsantrasyonunda ve 1/2 besiyeri oranındaki azalışa göre biyoremediasyon sonucu giderim verimi %91,36 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 150,8 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile sabit demir konsantrasyonunda ve 1/4 besiyeri oranındaki azalışa göre biyoremediasyon sonucu giderim verimi %90,22 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 130,7 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile sabit bakır konsantrasyonunda ve 1/2 besiyeri oranındaki azalışa göre biyoremediasyon sonucu giderim verimi %30,12 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 120,6 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile sabit bakır konsantrasyonunda ve 1/2 besiyeri oranındaki azalışa göre biyoremediasyon sonucu giderim verimi %49,74 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 105,3 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile sabit demir konsantrasyonunda ve 1/4 besiyeri oranındaki azalışın biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile pH: 6'da %68,35 ve pH:7'de %91,74 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 132,9 mg ve 281,4 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile sabit demir konsantrasyonunda ve 1/4 besiyeri oranındaki azalışın biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile pH: 5'te %89,41 ve pH:8'de %90,05 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 216,4 mg ve 264,2 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. jensenii* mantar türü ile sabit bakır konsantrasyonunda ve 1/4 besiyeri oranındaki azalışın biyoremediasyon sonucuna göre en iyi giderim verimi pH: 6'da %24,82 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı 62,4 mg olarak ölçülmüştür.
- *P. frequentans* mantar türü ile sabit bakır konsantrasyonunda ve 1/4 besiyeri oranındaki azalışın biyoremediasyon sonuçlarına göre en iyi giderim verimi sırası ile pH: 5'te %78,1 ve pH:6'da %34,2 olarak bulunmuştur. Ayrıca zamana

bağlı olarak mantar büyümesinin kuru kütle ağırlığı sırası ile 140,8 mg ve 90,7 mg olarak ölçülmüştür.

Bu çalışmada elde edilen sonuçlara göre demir gideriminde konsantrasyonlar yükseldikçe *P. jensenii* mantar türünün biyoremediasyon ile ağır metal arıtımınında diğer mantar türüne göre daha iyi verim elde ettiği gözlemlenmiştir. Bu türün aksine bakır gideriminde *P. frequentans* mantar türünün biyoremediasyon ile ağır metal arıtımının diğer mantar türüne göre daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Çalışmanın ikinci aşamasında ise sabit konsantrasyonda demir ve bakırın farklı pH'lara göre biyoremediasyonunda iki mantar türünün de asidik ortamda daha iyi giderim sağladığı gözlemlenmiştir. Çalışmanın son aşamasında besiyeri konsantrasyonu düşürüldüğünde iki mantar türünün ortamdaki demiri tam besiyerinde olduğu gibi aynı oranda giderimini sağlamıştır. Ancak bakırda besiyeri konsantrasyonu azaldıkça iki mantar türüde üreyemediği için verimleri oldukça düşük bulunmuştur. Ayrıca demirin biyoremediasyonunda iki farklı mantar türü de 5. günün sonunda arıtımı maksimum düzeyde sağlamıştır. Sonraki 5 gün boyunca ise mantarlar ölerek ortama demiri tekrar bırakmıştır. Bakırda ise *P. jensenii* 10 gün boyunca biyoremediasyonunu sürdürmektedir. *P. frequentans* bakırı 7. günün sonunda maksimum düzeyde arıtmıştır. Sonraki 3 gün boyunca ise mantarlar ölerek ortama bakırı tekrar bırakmıştır.

FTIR araştırmaları ile ortaya konan aktif etken grupların canlıların yapı taşları olan şekerler, amino asitler, sülfonatlar gibi yapı taşlarındaki organik bağ oluşumuna katıldığı ve bu yolla canlı dokularının temel organik molekülleri olan karbonhidrat, yağ ve proteinlerin sentezinde etkili görev aldığı tespit edilmiştir. Bu bulgu bize arıtımını gerçekleştirdiğimiz metal sülfatların metabolizma faaliyetlerine katılarak biyoremediasyonda etkili olduğunu net olarak ortaya koymaktadır. Ancak şu andaki teknoloji ve bu yöntem ile kullandığımız demir sülfat, bakır sülfat ve alüminyum sülfatların canlı metabolizmasına hangi konsantrasyonlarda geçtiğini tespit edememekteyiz. Yaptığımız atomik absorpsiyon analizlerinde ortama verdiğimiz kirleticilerin ne kadarını arıttığımızı yani ortamdan uzaklaştırdığımızı miktarsal olarak (kantitatif=nicel) belirlemekteyiz ancak mikroorganizmalarımız bu giderimin (metalin) tümünü biyoremediasyonda yani metabolizmada kullanamamaktadır. Biyoremediasyon çalışmalarında kullanılan mikroorganizma hem kendi gelişimini devam ettirmekte hem de gelişimini sürdürürken ortamdaki ağır metalleri beş ayrı mekanizma ile arıtmaktadır. Bunlar; adsorpsiyon, absorpsiyon, mineralizasyon, mikrobiyal özütleme ve bunların

tümünü kapsayan biyoremediasyondur. Bu beş mekanizma zaman zaman girişim olarak birbiri ile aynı maddeyi kullanabildiği için hangi yolun ağır metal veya kirletici arıtımında kantitatif olarak daha etkili olduğunu ortaya koymak zor ve çoğu zaman imkânsız hale gelmektedir. Bu araştırmada atomik absorpsiyon ile ölçülen ağır metal giderimi bu beş yolun toplamı olarak değerlendirilmektedir.

KAYNAKÇA

[1] A. Malik, "Metal bioremediation through growing cells," *Environment International*, vol. 30, no. 2. Elsevier Ltd, pp. 261–278, 2004. doi: 10.1016/j.envint.2003.08.001.

[2] A. Malik, M. G. Dastidar, and P. K. Roychoudhury, "Biodesulphurization of coal: rate enhancement by sulphur-grown cells," Biotechnology Letters vol. 22, pp. 273–276, 2000.

[3] A. Malik and K. Kakii, "Pair-dependent co-aggregation behavior of non-flocculating sludge bacteria," Biotechnology Letters vol. 25, pp. 981–986, 2003.

[4] L. E. Macaskie, "An Immobilized Cell Bioprocess for the Removal of Heavy Metals from Aqueous Flows*," vol. 49, no. 4, pp. 357-379, 1990.

[5] C.-P. Huangi, C.-P. Huang, and A. L. Morehart, "The removal of Cu(II) from dilute aqueous solutions by saccharomyces cerevisiae," Vol.24 No.4 pp.433-439 ref.33, 1990.

[6] E. Krauter, R. Martinelli, K. Williams, and S. Martins, "Removal of Cr(VI) from ground water by Saccharomyces cerevisiae," Biodegradation volume 7, pages 277–286, 1996.

[7] D. Brady, A. D. Stoll, L. Starke, and J. R. Duncan, "Chemical and Enzymatic Extraction of Heavy Metal Binding Polymers from Isolated Cell Walls of Saccharom yces cerevisiae," Biotechnol Bioeng. Vol. 44 no. (3): pp. 297-302, 1994.

[8] S. v Averyt and J. M. Tobin, "Mechanism of Adsorption of Hard and Soft Metal Ions to Saccharomyces cerevisiae and Influence of Hard and Soft Anions," Appl Environ Microbiol. Vol. 59, no. (9), pp. 2851–2856. 1993.

[9] C. L. Brierley, "Bioremediation of metal-contaminated surface and groundwaters," *Geomicrobiol J*, vol. 8, no. 3–4, pp. 201–223, 1990, doi: 10.1080/01490459009377894.

[10] B. Volesky and Z. R. Holan+, "REVIEW Biosorption of Heavy Metals," Biotechnol. Prog. vol 11, pp. 235-250, 1995.

[11] H. Kambe-Honjoh, A. Sugawara, K. Yoda, K. Kitamoto, and M. Yamasaki, “Isolation and characterization of nickel-accumulating yeasts,” Appl Microbiol Biotechnol . vol. 48, no. 3, pp. 373-378, 1997.

[12] Springer-Verlag, E. Luef, T. Prey, and C. P. Kubicek, “Applied Microbiology Biotechnology Biosorption of zinc by fungal mycelial wastes,” Applied Microbiology and Biotechnology volume 34, pages 688–692, 1991.

[13] S. Senthilkumaar, S. Bharathi, D. Nithyanandhi, and V. Subburam, “Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solutions,” Bioresource Technology 75(2):163-165, 2000.

[14] B. Volesky, “Advances in biosorption of metals: Selection of biomass types,” Volume 14, Issue 4, Pages 291-302, 1994.

[15] P. Sar, S. Kazy, and S. Singh, “Intracellular nickel accumulation by Pseudomonas aeruginosa and its chemical natüre,” Letters in Applied Microbiology 32(4):257-61, 2001.

[16] Y. Yes¸i ˙ M Sag ˘, A. Kaya, and T. ˙ N. Kutsal, “Biosorption of Lead(II), Nickel(II), and Copper(II) on Rhizopus arrhizus from Binary and Ternary Metal Mixtures,” Separation Science And Technology, vol.35, pp.2601-2617, 2000.

[17] Q. Yu and P. Kaewsarn, “Adsorption of Ni2+ from aqueous solutions by pretreated biomass of marine macroalga Durvillaea potatorum,” *Sep Sci Technol*, vol. 35, no. 5, pp. 689–701, 2000, doi: 10.1081/SS-100100184.

[18] J.-S. Chang, R. Law, and C.-C. Chang, “Biosorption Of Lead, Copper And Cadmium By Biomass Of Pseudomonas Aeruginosa Pu21,” Volume 31, Issue 7, Pages 1651-1658 1997.

[19] A. Kapoor, T. Viraraghavan, and D. R. Cullimore, “Removal of heavy metals using the fungus Aspergillus niger,” Volume 70, Issue 1, Pages 95-104, 1999.

[20] Springer-Verlag, G. W. Garnham, G. A. Codd, and G. M. Gadd, “Kinetics of uptake and intracellular location of cobalt, manganese and zinc in the estuarine green alga Chlorella salina,” Appl Microbiol Biotechnol 37:270-276 1992.

[21] G. Dönmez and Z. Aksu, “The effect of copper(II) ions on the growth and bioaccumulation properties of some yeasts,” Volume 35, Issues 1–2, Pages 135-142, 1999.

[22] T. Matsunaga, H. Takeyama, T. Nakao, and A. Yamazawa, “Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater,” Volume 70, Issues 1–3, Pages 33-38, 1999.

[23] M. Pérez-Rama, C. H. López, J. A. Alonso, and E. T. Vaamonde, “Class III metallothioneins in response to cadmium toxicity in the marine microalga Tetraselmis suecica (Kylin) Butch,” *Environ Toxicol Chem*, vol. 20, no. 9, pp. 2061–2066, 2001, doi: 10.1002/etc.5620200927.

[24] L. Mogollon, R. Rodriquez, W. Larrota, N. Ramirez, and R. Torres, “Biosorption of Nickel Using Filamentous Fungi,” Applied Biochemistry and Biotechnology 70-72(1):593-601, 1998.

[25] P. Ahuja, R. Gupta, and R. K. Saxena, “Sorption and Desorption of Cobalt by Oscillatoria anguistissima,” Current Microbiology volume 39, pages49–52, 1999.

[26] S. K. Mehta and J. Prakash Gaur, “Characterization and optimization of Ni and Cu sorption from aqueous solution by Chlorella vulgaris,” Volume 18, Issue 1, Pages 1-13, 2001.

[27] S. L. Corder and M. Reeves, “Biosorption of Nickel in Complex Aqueous Waste Streams by Cyanobacteriat,” Appl Biochem Biotechnol., 45-46:847-59, 1994.

[28] C. Baudet, G. D. Sprott, and G. B. Patel, “Adsorption and uptake of nickel in Methanothrix concilii*,” Archives of Microbiology volume 150, pages 338–342, 1988.

[29] G. Basnakova and L. E. Macaskie, “Microbially Enhanced Chemisorption of Nickel into Biologically Synthesized Hydrogen Uranyl Phosphate: A Novel System for the Removal and Recovery of Metals from Aqueous Solutions,” Biotechnology and Bioengineering, Volume 54, Issue 4 p. 319-328, 2000.

[30] I. Savvaidis, M. N. Hughes, and R. K. Poole, “Differential pulse polarography: a method of directly measuring uptake of metal ions by live bacteria without separation of biomass and medium,” *FEMS Microbiol Lett*, vol. 92, no. 2, pp. 181–186, Apr. 1992, doi: 10.1111/j.1574-6968.1992.tb05256.x.

[31] Y. Sag and T. Kutsal, “Biosorption of heavy metals by Zoogloea ramigera: use of adsorption isotherms and a comparison of biosorption characteristics,” The

Chemical Engineering Journal and the Biochemical Engineering Journal, Volume 60, Issues 1–3, Pages 181-188, 1995.

[32] J. A. Scott, A. M. Karanjkar, and D. L. Rowe, “Bıofılm Covered Granular Actıvated Carbon For Decontamınatıon Of Streams Contaınıng Heavy Metals And Organıc Chemıcals,” Minerals Engineering Volume 8, Issues 1–2, Pages 221-230 1995.

[33] M. Tsezos, E. Remoudaki, and V. Angelatou, “A Systematic Study on Equilibrium and Kinetics of Biosorptive Accumulation. The Case of Ag and Ni,” International Biodeterioration & Biodegradation Volume 35, Issues 1–3, Pages 129-153, 1995.

[34] E. W. Wilde and J. R. Benemann1-, “Bıoremoval Of Heavy Metals By The Use Of Mıcroalgae,” Biotechnol Adv . 11(4):781-812. 1993.

[35] E. Sandau and Sandau P, “Heavy Metal Sorption by Microalgae,” Acta Biotechnologica, Volume 16, Issue 4 p. 227-235 1996.

[36] W. Gekeler, E. Grill, E.-L. Winnacker, and M. H. Zenk, “Algae sequester heavy metals via synthesis of phytochelatin complexes,” Archives of Microbiology volume 150, pages197–202, 1988.

[37] G. Donmez, Z. Aksu, “Bioaccumulation Of Copper(II) And Nickel(II) By The Non-Adapted And Adapted Growıng Candida Sp,” Water Res., (6):1425-34. 2001.

[38] T. Pumpel *et al.*, “Treatment of rinsing water from electroless nickel plating with a biologically active moving-bed sand filter,” Hydrometallurgy 59 2001 383–393, 2001.

[39] D. J. Bradshaw, P. D. Marsh, G. Keith Watson, and C. Allison, “Role of Fusobacterium nucleatum and Coaggregation in Anaerobe Survival in Planktonic and Biofilm Oral Microbial Communities during Aeration,” Infect Immun. 166(10): 4729–4732. 1998.

[40] A. Malik,' Masashi Sakamoto,' Taishiro Ono,' And and K. Kakii', "Coaggregation between Acinetobacterjohnsonii S35 and Microbacterium esteraromaticum Strains Isolated from Sewage Activated Sludge," Journal of Bioscience and Bioengineering Volume 96, Issue 1, Pages 10-15 2003.

[41] Z. R. Holan and B. Volesky, "Biosorption of Lead and Nickel by Biomass of Marine Algae," Biotechnology and BioengineeringVolume 43, Issue 11 p. 1001-1009, 1994.

[42] E. Romera, F. González, A. Ballester, M. L. Blázquez, and J. A. Muñoz, "Comparative study of biosorption of heavy metals using different types of algae," *Bioresour Technol*, vol. 98, no. 17, pp. 3344–3353, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.biortech.2006.09.026.

[43] V. Murphy, H. Hughes, and P. McLoughlin, "Comparative study of chromium biosorption by red, green and brown seaweed biomass," *Chemosphere*, vol. 70, no. 6, pp. 1128–1134, 2008, doi: 10.1016/j.chemosphere.2007.08.015.

[44] Y. N. Mata, M. L. Blázquez, A. Ballester, F. González, and J. A. Muñoz, "Characterization of the biosorption of cadmium, lead and copper with the brown alga Fucus vesiculosus," *J Hazard Mater*, vol. 158, no. 2–3, pp. 316–323, Oct. 2008, doi: 10.1016/j.jhazmat.2008.01.084.

[45] P. C. Mane and Bhosle, "Bioremoval of Some Metals by Living Algae Spirogyra sp. and Spirullina sp. from aqueous solution," *Int. J. Environ. Res*, vol. 6, no. 2, pp. 571–576, 2012.

[46] C. yu Jiang, X. fang Sheng, M. Qian, and Q. ya Wang, "Isolation and characterization of a heavy metal-resistant Burkholderia sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil," *Chemosphere*, vol. 72, no. 2, pp. 157–164, May 2008, doi: 10.1016/j.chemosphere.2008.02.006.

[47] D. L. Vullo, H. M. Ceretti, M. A. Daniel, S. A. M. Ramírez, and A. Zalts, "Cadmium, zinc and copper biosorption mediated by Pseudomonas veronii 2E," *Bioresour Technol*, vol. 99, no. 13, pp. 5574–5581, Sep. 2008, doi: 10.1016/j.biortech.2007.10.060.

[48] B. E. Taştan, S. Ertuğrul, and G. Dönmez, “Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by Aspergillus versicolor,” *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 3, pp. 870–876, Feb. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.08.099.

[49] M. H. Fulekar, J. Sharma, and A. Tendulkar, “Bioremediation of heavy metals using biostimulation in laboratory bioreactor,” *Environ Monit Assess*, vol. 184, no. 12, pp. 7299–7307, Dec. 2012, doi: 10.1007/s10661-011-2499-3.

[50] S. Anahid, S. Yaghmaei, and Z. Ghobadinejad, “Heavy metal tolerance of fungi,” *Scientia Iranica*, vol. 18, no. 3 C, pp. 502–508, 2011, doi: 10.1016/j.scient.2011.05.015.

[51] B. Mattuschka and G. Straube, “Biosorption of Metals by a Waste Biomass,” Journal of Chemical Technology & Biotechnology, 58, 57-63. 1993.

[52] M. D. Machado, E. v. Soares, and H. M. V. M. Soares, “Removal of heavy metals using a brewer’s yeast strain of Saccharomyces cerevisiae: Chemical speciation as a tool in the prediction and improving of treatment efficiency of real electroplating effluents,” *J Hazard Mater*, vol. 180, no. 1–3, pp. 347–353, Aug. 2010, doi: 10.1016/j.jhazmat.2010.04.037.

[53] Veysel. Eroğlu, “Atıksuların tasfiyesi” Vol 3. pp. 1-3, 2015.

[54] N. J. Ashbolt, “Microbial contamination of drinking water and disease outcomes in developing regions,” in *Toxicology*, May 2004, vol. 198, no. 1–3, pp. 229–238. doi: 10.1016/j.tox.2004.01.030.

[55] R. Bain, R. Cronk, J. Wright, H. Yang, T. Slaymaker, and J. Bartram, “Fecal Contamination of Drinking-Water in Low- and Middle-Income Countries: A Systematic Review and Meta-Analysis,” *PLoS Med*, vol. 11, no. 5, 2014, doi: 10.1371/journal.pmed.1001644.

[56] C. M. Cooper, “(1993) Biological Effects of Agriculturally Derived Surface Water Pollutants on Aquatic Systems-A Review,” Journal of Environmental Quality, Volume 22, Issue 3 p. 402-408, 1993.

[57] R. P. Schwarzenbach, T. Egli, T. B. Hofstetter, U. von Gunten, and B. Wehrli, “Global water pollution and human health,” *Annu Rev Environ Resour*, vol. 35, pp. 109–136, Nov. 2010, doi: 10.1146/annurev-environ-100809-125342.

[58] B. Moss, “Water pollution by agriculture,” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, vol. 363, no. 1491. Royal Society, pp. 659–666, Feb. 12, 2008. doi: 10.1098/rstb.2007.2176.

[59] A. R. Baykan, “Türkiye Çevre Atlası.” 2004.

[60] R. K. Goswami, K. Agrawal, M. P. Shah, and P. Verma, “Bioremediation of heavy metals from wastewater: a current perspective on microalgae-based future,” *Letters in Applied Microbiology*, vol. 75, no. 4. John Wiley and Sons Inc, pp. 701–717, Oct. 01, 2022. doi: 10.1111/lam.13564.

[61] Morad A. Radha “Atık sularda karbon aerojel ile ağır metal tutunması.” 2008.

[62] C. S. van Wyk, “Removal of heavy metals from metal-containing effluent by yeast biomass,” *Afr J Biotechnol*, vol. 10, no. 55, pp. 11557–11561, 2011, doi: 10.5897/AJB11.522.

[63] B. Volesky, “Detoxification of metal-bearing effluents: biosorption for the next century,” Hydrometallurgy Volume 59, Issues 2–3, Pages 203-216, 2001.

[64] Anna-Maj B. P. “Toxicity of heavy metals (Zn, Cu, Cd, Pb) to vascular plants,” Water, Air, and Soil Pollution volume 47, pages 287–319, 1989.

[65] M. Shi *et al.*, “Recent progress in understanding the mechanism of heavy metals retention by iron (oxyhydr)oxides,” *Science of the Total Environment*, vol. 752. Elsevier B.V., Jan. 15, 2021. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141930.

[66] Z. Rengel, J. Bose, Q. Chen, and B. N. Tripathi, “Magnesium alleviates plant toxicity of aluminium and heavy metals,” *Crop and Pasture Science*, vol. 66, no. 12. CSIRO, pp. 1298–1307, 2015. doi: 10.1071/CP15284.

[67] C. FN and M. MF, “Factors Affecting Water Pollution: A Review,” *J Ecosyst Ecography*, vol. 07, no. 01, 2017, doi: 10.4172/2157-7625.1000225.

[68] H. Pehlivan, A. Akbulut, and E. Varol, “Investigation of heavy metal pollution in sediments of southern Marmara Sea (The Kocasu Delta),” *Journal of the Faculty of Engineering and Architecture of Gazi University*, vol. 36, no. 3, pp. 1271–1288, 2021, doi: 10.17341/gazimmfd.722544.

[69] B. Akgün “Haliç Sedimentinin Kirliliği Ve Ağır Metal İçeriğinin İncelenmesi.” 2015.

[70] A. Yavuz SÖNMEZ *et al.*, "Karasu Irmağında Ağır Metal Kirliliğinin Tespiti ve Su Kalitesine Göre Sınıflandırılması," *J. of Agricultural Faculty of Atatürk Univ*, vol. 43, no. 1, pp. 69–77, 2012.

[71] E. Üçüncü "Doğal Su Sistemlerinde Ağır Metallerin Lemna Minor L. Tarafından Biyoremediasyonu Ve Belirlenen Ağır Metaller İle Seçilen Nanopartikülün (ENP) L.Minor Üzerindeki Toksik Etkilerinin Karşılaştırılması." 2014.

[72] E. N. Arıkan "Bazı Ağır Metallerce Kirlenmiş Tarım Topraklarının Çim Bitkisi (Lolium Perenne L.) Kullanılarak Fitoremediasyon Yöntemleriyle Doğal Arıtımı," 2021.

[73] S. S. Shenvi, A. M. Isloor, and A. F. Ismail, "A review on RO membrane technology: Developments and challenges," *Desalination*, vol. 368. Elsevier B.V., pp. 10–26, Jul. 15, 2015. doi: 10.1016/j.desal.2014.12.042.

[74] D. H. Paul, "MF, UF, NF, RO Defining the Four Basic Membrane Processes," *Opflow*, vol. 28, no. 5, pp. 10–15, May 2002, doi: 10.1002/j.1551-8701.2002.tb01650.x.

[75] F. Lipnizki, "Membrane Processes for the Production of Bulk Fermentation Products," in *Membrane Technology*, Elsevier Ltd, 2010, pp. 121–153. doi: 10.1016/B978-1-85617-632-3.00007-0.

[76] S. Neumann, P. Fatula, "Principles of Ion Exchange in Wastewater Treatment". 2009.

[77] F. Fu and Q. Wang, "Removal of heavy metal ions from wastewaters: A review," *Journal of Environmental Management*, vol. 92, no. 3. pp. 407–418, Mar. 2011. doi: 10.1016/j.jenvman.2010.11.011.

[78] Q. U. Jiuhui, "Research progress of novel adsorption processes in water purification: A review," Journal of Environmental Sciences Volume 20, Issue 1, Pages 1-13, 2008.

[79] D. Lakherwal, "Adsorption of Heavy Metals: A Review," International Journal of Environmental Research and Development. ISSN 2249-3131 Volume 4, Number 1, pp. 41-48, 2014.

[80] B. Volesky and H. A. May-Phillips, “Biosorption of heavy metals by Saccharomyces cerevisiae,” Applied Microbiology and Biotechnology volume 42, pages797–806, 1995.

[81] A. G. Khan, C. Kuek, T. M. Chaudhry, C. S. Khoo, and W. J. Hayes, “Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation,” Chemosphere Volume 41, Issues 1–2, Pages 197-207, 2000.

[82] H. M. Chen, C. R. Zheng, C. Tu, and Z. G. Shen, “Chemical methods and phytoremediation of soil contaminated with heavy metals,” Chemosphere Volume 41, Issues 1–2, Pages 229-234, 2000.

[83] E. Dindar, F. Olcay, T. Şağban, and H. S. Başkaya, “Kirlenmiş Toprakların Biyoremediasyon ile Islahı,” Dergi Park, Cilt 15, Sayı 2, 2010.

[84] Y. Cindik Akinci, T. Yüksek, and Ö. Demirel, “Ağır Metaller ile Kirlenmiş Toprağın İyileştirilmesinde Vetiver Grass (Vetiveria zizanioides (Linn.) Nash) ve Solucanların Kullanılması.” Süleyman Demirel Üniversitesi Mimarlık Bilimleri ve Uygulamaları Dergisi Araştırma makalesi MBUD, 1(1):1-11. 2016.

[85] F. O. Kocaer, “Metallerle Kirlenmiş Toprakların Temizlenmesinde Uygulanan Teknolojiler” Uludağ Üniversitesi Mühendislik-Mimarlık Fakültesi Dergisi, 2003.

[86] S. M. Bamforth and I. Singleton, “Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: Current knowledge and future directions,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 80, no. 7. pp. 723–736, Jul. 2005. doi: 10.1002/jctb.1276.

[87] E. Abatenh, B. Gizaw, Z. Tsegaye, and M. Wassie, “The Role of Microorganisms in Bioremediation- A Review,” *Open J Environ Biol*, vol. 2, no. 1, pp. 38–046, 2017, doi: 10.17352/ojeb.

[88] M. Vidali, “Bioremediation. An overview*,” Pure and Applied Chemistry, 73, 1163-1172., 2001.

[89] S. A. Nicolaou, S. M. Gaida, and E. T. Papoutsakis, “A comparative view of metabolite and substrate stress and tolerance in microbial bioprocessing: From biofuels and chemicals, to biocatalysis and bioremediation,” *Metabolic*

Engineering, vol. 12, no. 4. pp. 307–331, Jul. 2010. doi: 10.1016/j.ymben.2010.03.004.

[90] G. Chitrakoot, G. Vishwavidyalaya, P. Singh, R. Sharma, and R. Singh, "Microorganism as a tool of bioremediation technology for cleaning environment: A review," Proceedings of the International Academy of Ecology and Environmental Sciences, 4(1): 1-6, 2014.

[91] T. M. Roane, K. L. Josephson, and I. L. Pepper, "Dual-Bioaugmentation Strategy to Enhance Remediation of Cocontaminated Soil," *Appl Environ Microbiol*, vol. 67, no. 7, pp. 3208–3215, Jul. 2001, doi: 10.1128/AEM.67.7.3208-3215.2001.

[92] L. M. Coelho, H. C. Rezende, L. M. Coelho, P. A. R. de Sousa, D. F. O. Melo, and N. M. M. Coelho, "Bioremediation of Polluted Waters Using Microorganisms," in *Advances in Bioremediation of Wastewater and Polluted Soil*, InTech, 2015. doi: 10.5772/60770.

[93] P. Kanmani, J. Aravind, and D. Preston, "Remediation of chromium contaminants using bacteria," *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 9, no. 1. pp. 183–193, Jan. 2012. doi: 10.1007/s13762-011-0013-7.

[94] R. Say, N. Yilmaz, and A. Denizli, "Removal of Heavy Metal Ions Using the Fungus Penicillium canescens," Adsorption Science & Technology Vol. 21 No. 7, 2003

[95] L. Deng, Y. Su, H. Su, X. Wang, and X. Zhu, "Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae Cladophora fascicularis," *J Hazard Mater*, vol. 143, no. 1–2, pp. 220–225, May 2007, doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.09.009.

[96] G. M. Gadd, "Microbial influence on metal mobility and application for bioremediation," in *Geoderma*, Oct. 2004, vol. 122, no. 2-4 SPEC. IIS., pp. 109–119. doi: 10.1016/j.geoderma.2004.01.002.

[97] B. Türkoğlu, "Toprak Kirlenmesi ve Kirlenmiş Toprakların Islahı." 2006.

[98] C. N. Mulligan, R. N. Yong, and B. F. Gibbs, "Remediation technologies for metal-contaminated soils and groundwater: an evaluation," Engineering Geology Volume 60, Issues 1–4, Pages 193-207, 2001.

[99] J. F. Blais, R. D. Tyagi, and J. C. Auclair, “Bloleaching Of Metals From Sewage Sludge By Sulfur-Oxidizing Bacteria,” Journal of Environmental Engineering Vol. 118, Issue 5, 1992.

[100] C. Malley, J. Nair, and G. Ho, “Impact of heavy metals on enzymatic activity of substrate and on composting worms Eisenia fetida,” *Bioresour Technol*, vol. 97, no. 13, pp. 1498–1502, Sep. 2006, doi: 10.1016/j.biortech.2005.06.012.

[101] G. M. Gadd, “Microbial treatment of metal pollution-a working biotechnology?,” Volume 11, Issue 8, Pages 353-359, 1993.

[102] G. M. Gadd, “Biosorption: Critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment,” *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 84, no. 1. pp. 13–28, 2009. doi: 10.1002/jctb.1999.

[103] N. Ahalya, T. v Ramachandra, and R. D. Kanamadi, “Biosorption of Heavy Metals Research Journal Of Chemistry And Environment,” Research Journal of Chemistry and Environment, 7, 71-78, 2003.

[104] E. Fosso-Kankeu and A. F. Mulaba-Bafubiandi, “Implication of plants and microbial metalloproteins in the bioremediation of polluted waters: A review,” *Physics and Chemistry of the Earth*, vol. 67–69, pp. 242–252, 2014, doi: 10.1016/j.pce.2013.09.018.

[105] M. Zabochnicka-Świątek, “Potentials of Biosorption and Bioaccumulation Processes for Heavy Metal Removal,” Polish Journal of Environmental Studies 23(2):551-561, 2014.

[106] G. Bayramoğlu, I. Tuzun, G. Celik, M. Yilmaz, and M. Y. Arica, “Biosorption of mercury(II), cadmium(II) and lead(II) ions from aqueous system by microalgae Chlamydomonas reinhardtii immobilized in alginate beads,” *Int J Miner Process*, vol. 81, no. 1, pp. 35–43, Oct. 2006, doi: 10.1016/j.minpro.2006.06.002.

[107] T. Akar and S. Tunali, “Biosorption characteristics of Aspergillus flavus biomass for removal of Pb(II) and Cu(II) ions from an aqueous solution,” *Bioresour Technol*, vol. 97, no. 15, pp. 1780–1787, Oct. 2006, doi: 10.1016/j.biortech.2005.09.009.

[108] Y. Qu, X. Zhang, J. Xu, W. Zhang, and Y. Guo, “Removal of hexavalent chromium from wastewater using magnetotactic bacteria,” *Sep Purif Technol*, vol. 136, pp. 10–17, Nov. 2014, doi: 10.1016/j.seppur.2014.07.054.

[109] N. Das, R. Vimala, and P. Karthika, “Biosorption of heavy metals-An overview,” Indian Journal of Biotechnology Vol 7, pp 159-169, 2008.

[110] A. L. Leitão, “Potential of penicillium species in the bioremediation field,” *Int J Environ Res Public Health*, vol. 6, no. 4, pp. 1393–1417, 2009, doi: 10.3390/ijerph6041393.

[111] J. Wang and C. Chen, “Biosorbents for heavy metals removal and their future,” *Biotechnology Advances*, vol. 27, no. 2. pp. 195–226, Mar. 2009. doi: 10.1016/j.biotechadv.2008.11.002.

[112] F. Huang, C. L. Guo, G. N. Lu, X. Y. Yi, L. D. Zhu, and Z. Dang, “Bioaccumulation characterization of cadmium by growing Bacillus cereus RC-1 and its mechanism,” *Chemosphere*, vol. 109, pp. 134–142, 2014, doi: 10.1016/j.chemosphere.2014.01.066.

[113] R. Varma, A. Turner, and M. T. Brown, “Bioaccumulation of metals by Fucus ceranoides in estuaries of South West England,” *Mar Pollut Bull*, vol. 62, no. 11, pp. 2557–2562, Nov. 2011, doi: 10.1016/j.marpolbul.2011.08.016.

[114] A. Fukunaga and M. J. Anderson, “Bioaccumulation of copper, lead and zinc by the bivalves Macomona liliana and Austrovenus stutchburyi,” *J Exp Mar Biol Ecol*, vol. 396, no. 2, pp. 244–252, Jan. 2011, doi: 10.1016/j.jembe.2010.10.029.

[115] M. Al-Saraj, M. Abdel-Latif, I. El-Nahal, and R. Baraka, “Bioaccumulation of some hazardous metals by sol-gel entrapped microorganisms,” Journal of Non-Crystalline Solids Volume 248, Issues 2–3, Pages 137-140, 1999.

[116] Ü. Açikel and T. Alp, “A study on the inhibition kinetics of bioaccumulation of Cu(II) and Ni(II) ions using Rhizopus delemar,” *J Hazard Mater*, vol. 168, no. 2–3, pp. 1449–1458, Sep. 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.03.040.

[117] R. Flouty and G. Estephane, “Bioaccumulation and biosorption of copper and lead by a unicellular algae Chlamydomonas reinhardtii in single and binary metal systems: A comparative study,” *J Environ Manage*, vol. 111, pp. 106–114, Nov. 2012, doi: 10.1016/j.jenvman.2012.06.042.

[118] A. Martín-González, S. Díaz, S. Borniquel, A. Gallego, and J. C. Gutiérrez, "Cytotoxicity and bioaccumulation of heavy metals by ciliated protozoa isolated from urban wastewater treatment plants," *Res Microbiol*, vol. 157, no. 2, pp. 108–118, Mar. 2006, doi: 10.1016/j.resmic.2005.06.005.

[119] M. Saleem, H. Brim, S. Hussain, M. Arshad, M. B. Leigh, and Zia-ul-hassan, "Perspectives on microbial cell surface display in bioremediation," *Biotechnology Advances*, vol. 26, no. 2. pp. 151–161, Mar. 2008. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.10.002.

[120] L. Balabanova, L. Slepchenko, O. Son, and L. Tekutyeva, "Biotechnology potential of marine fungi degrading plant and algae polymeric substrates," *Frontiers in Microbiology*, vol. 9, no. JUL. Frontiers Media S.A., Jul. 10, 2018. doi: 10.3389/fmicb.2018.01527.

[121] H. Harms, D. Schlosser, and L. Y. Wick, "Untapped potential: Exploiting fungi in bioremediation of hazardous chemicals," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 9, no. 3. pp. 177–192, Mar. 2011. doi: 10.1038/nrmicro2519.

[122] R. K. Singh, R. Tripathi, A. Ranjan, and A. K. Srivastava, "Fungi as potential candidates for bioremediation," in *Abatement of Environmental Pollutants: Trends and Strategies*, Elsevier, 2019, pp. 177–191. doi: 10.1016/B978-0-12-818095-2.00009-6.

[123] R. Dhankhar and A. Hooda, "Fungal biosorption-an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions," *Environmental Technology*, vol. 32, no. 5. Taylor and Francis Ltd., pp. 467–491, 2011. doi: 10.1080/09593330.2011.572922.

[124] K. Boriová, S. Čerňanský, P. Matúš, M. Bujdoš, and A. Šimonovičová, "Bioaccumulation and biovolatilization of various elements using filamentous fungus Scopulariopsis brevicaulis," *Lett Appl Microbiol*, vol. 59, no. 2, pp. 217–223, 2014, doi: 10.1111/lam.12266.

[125] B. Pérez-Armendáriz *et al.*, "Filamentous Fungi Remove Weathered Hydrocarbons From Polluted Soil Of Tropical México," Rev. Int. Contam. Ambie. 26 (3) 193-199, 2010.

[126] C. Pinedo-Rivilla, J. Aleu, and I. G. Collado, “Pollutants Biodegradation by Fungi,” Current Organic Chemistry, 13, 1194-1214, 2009.

[127] U. Kües, “Fungal enzymes for environmental management,” *Current Opinion in Biotechnology*, vol. 33. Elsevier Ltd, pp. 268–278, Jun. 01, 2015. doi: 10.1016/j.copbio.2015.03.006.

[128] A. Sanyal, D. Rautaray, V. Bansal, A. Ahmad, and M. Sastry, “Heavy-metal remediation by a fungus as a means of production of lead and cadmium carbonate crystals,” *Langmuir*, vol. 21, no. 16, pp. 7220–7224, Aug. 2005, doi: 10.1021/la047132g.

[129] A. S. Ayangbenro and O. O. Babalola, “A new strategy for heavy metal polluted environments: A review of microbial biosorbents,” *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 14, no. 1. MDPI, Jan. 19, 2017. doi: 10.3390/ijerph14010094.

[130] A. Sinha, V. N. Singh, B. R. Mehta, and S. K. Khare, “Synthesis and characterization of monodispersed orthorhombic manganese oxide nanoparticles produced by Bacillus sp. cells simultaneous to its bioremediation,” *J Hazard Mater*, vol. 192, no. 2, pp. 620–627, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.jhazmat.2011.05.103.

[131] J. A. Majeau, S. K. Brar, and R. D. Tyagi, “Laccases for removal of recalcitrant and emerging pollutants,” *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 7, pp. 2331–2350, 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2009.10.087.

[132] A. Özdemir, G. O. Erguven, E. Adar, and Y. Nuhoglu, “Investigation on Microbial Biodeterioration of the Stone Monuments in Yildiz Technical University—Yildiz Campus—Istanbul—Turkey,” *Curr Microbiol*, vol. 77, no. 11, pp. 3288–3299, Nov. 2020, doi: 10.1007/s00284-020-02171-4.

[133] Y. Nuhoglu *et al.*, “The accelerating effects of the microorganisms on biodeterioration of stone monuments under air pollution and continental-cold climatic conditions in Erzurum, Turkey,” *Science of the Total Environment*, vol. 364, no. 1–3, pp. 272–283, Jul. 2006, doi: 10.1016/j.scitotenv.2005.06.034.

[134] A. Özdemir, “İstanbul’da Önemli Tarihi Eserlerdeki Taş Malzemenin Mikrobiyolojik Bozunması,” 2017.

[135] Millî Eğitim Bakanlığı, "Kimya Teknolojisi Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi," 2012.

[136] J. W. Robinson, "Atomic Absorption Spectroscopy," Analytical Chemistry, Vol. 32, no. 8, pp. 17-29, 1960.

[137] N. Bader, "Sample preparation for flame atomic absorption spectroscopy: An overview," Rasayan Journal of Chemistry 4(1), 2011.

[138] R. Ansari *et al.*, "Improved Extraction Method for the Determination of Iron, Copper, and Nickel in New Varieties of Sunflower Oil by Atomic Absorption Spectroscopy," Journal of AOAC International, 91(2), 400–407, 2008.

[139] C. Berthomieu and R. Hienerwadel, "Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy," *Photosynthesis Research*, vol. 101, no. 2–3. pp. 157–170, Sep. 2009. doi: 10.1007/s11120-009-9439-x.

[140] E. Malkoc, Y. Nuhoglu, and M. Dundar, "Adsorption of chromium(VI) on pomace-An olive oil industry waste: Batch and column studies," *J Hazard Mater*, vol. 138, no. 1, pp. 142–151, Nov. 2006, doi: 10.1016/j.jhazmat.2006.05.051.

[141] E. Malkoc and Y. Nuhoglu, "Determination of kinetic and equilibrium parameters of the batch adsorption of Cr(VI) onto waste acorn of Quercus ithaburensis," *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, vol. 46, no. 10, pp. 1020–1029, Oct. 2007, doi: 10.1016/j.cep.2007.05.007.

[142] R. C. Oliveira, P. Hammer, E. Guibal, J. M. Taulemesse, and O. Garcia, "Characterization of metal-biomass interactions in the lanthanum(III) biosorption on Sargassum sp. using SEM/EDX, FTIR, and XPS: Preliminary studies," *Chemical Engineering Journal*, vol. 239, pp. 381–391, Mar. 2014, doi: 10.1016/j.cej.2013.11.042.

[143] M. A. Wahab, S. Jellali, and N. Jedidi, "Ammonium biosorption onto sawdust: FTIR analysis, kinetics and adsorption isotherms modeling," *Bioresour Technol*, vol. 101, no. 14, pp. 5070–5075, Jul. 2010, doi: 10.1016/j.biortech.2010.01.121.

[144] G. G. Patel, H. v Doshi, and M. C. Thakur, "Biosorption and Equilibrium Study of Copper by Marine Seaweeds from North West Coast of India," *IOSR Journal of Environmental Science*, vol. 10, no. 7, pp. 54–64, 2016, doi: 10.9790/2402-1007025464.

[145] S. Yalçın, S. Sezer, and R. Apak, “Characterization and lead(II), cadmium(II), nickel(II) biosorption of dried marine brown macro algae Cystoseira barbata,” *Environmental Science and Pollution Research*, vol. 19, no. 8, pp. 3118–3125, 2012, doi: 10.1007/s11356-012-0807-2.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Yaşar Emre Topaloğlu, Yaşar Nuhoğlu, “Bioremediation of Heavy Metals via Living Microorganisms from Synthetic Wastewater”, Proceedings of the 6th Eurasia Waste Management Symposium-2022, 24-26 Ekim 2022, 683-689.