

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DOĞAL ORTAMDAKİ FİZİKOKİMYASAL ŞARTLARIN AĞIR METAL
BİYOSORPSİYONUNA ETKİSİ**

Çevre Yüksek Müh. Sevgi DEMİREL

FBE Çevre Mühendisliği Anabilim Dalında Hazırlanan

DOKTORA TEZİ

Tez Danışmanı: **Prof. Dr. Beyza ÜSTÜN**

İSTANBUL, 2008

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ	i
KISALTMA LİSTESİ	ii
ŞEKİL LİSTESİ	iii
ÇİZELGE LİSTESİ	vi
ÖNSÖZ	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
1. GİRİŞ	1
2. KÜÇÜKÇEKMECE GÖLÜ VE HAVZASI	3
2.1 Küçükçekmece Lagünü Korunma Profili	3
2.2 Küçükçekmece Bölgesi'nde Nüfus Gelişimi	4
2.3 Küçükçekmece Bölgesi'ndeki İklim Şartları	6
2.4 Küçükçekmece Bölgesi'nin Flora-Fauna Özellikleri	6
2.5 Küçükçekmece Bölgesi'nin Günümüzdeki Durumu	6
3. AĞIR METALLER	10
3.1 Demir	11
3.1.1 Bileşikleri	12
3.1.2 Kullanım Alanları	13
3.1.3 Canlılar İçin Önemi	13
3.2 Bakır	13
3.2.1 Bileşikleri	14
3.2.2 Kullanım Alanları	15
3.2.3 Canlılar İçin Önemi	15
3.3 Çinko	15
3.3.1 Bileşikleri	16
3.3.2 Kullanım Alanları	16
3.3.3 Canlılar İçin Önemi	17
3.4 Atıksulardan Metal Giderme Yöntemleri	17
4. AĞIR METAL GİDERİMİNDE BİYOLOJİK SÜREÇLER VE ÖNEMİ	19
4.1 Ağır Metal Giderimindeki Biyokimyasal Süreçlerde Kullanılan Mikroorganizmalar ve Özellikleri	21
5. SİYANOBAKTERİLER	24

5.1	Siyanobakterilerin Genel Özellikleri	24
5.2	Siyanobakterilerin Sınıflandırılması	26
5.3	Siyanobakterilerin Metabolizması ve Üreme Özellikleri	27
5.4	Bakterilerde Metal İyonlarının Bağlandığı Bölgeler	29
5.4.1	Hücre Dışı Polisakkaritler	29
5.4.2	Hücre Duvarı	30
5.4.2.1	Gram Pozitif Bakteri	30
5.4.2.2	Gram Negatif Bakteri	30
5.4.3	Polifosfat Gruplar	30
5.4.4	Metallotiyonin Proteini	31
5.5	Siyanobakterilerde Bakır, Çinko ve Demir Metabolizması	31
5.5.1	Bakır Homeostazı	33
5.5.2	Çinko Homeostazı	34
5.5.3	Demir Homeostazı	35
6.	MATERYAL VE METOD	36
6.1	Siyanobakterilerin İzolasyonu ve Kültür Şartları	37
6.2	İzole Edilen Siyanobakteri İzolatlarının Ağır Metal Dirençliliğinin Belirlenmesi	39
6.3	Klorofil-a Miktarlarına Göre Büyüme Eğrisi	40
6.4	pH ve Sıcaklık Optimizasyonu	40
6.5	Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} Metallerinin Biyosorpsiyonu ve Biyobirikimi	40
6.5.1	Tekli Metal Sistemlerinde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	41
6.5.2	İkili Metal Sistemlerinde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	42
6.5.3	Üçlü Metal Sistemlerinde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	43
6.5.4	Doğal Ortamdan Alınmış Numunelerde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	43
6.6	Çalışmanın İstatistiksel Değerlendirmesi	44
6.7	Biyosorpsiyon İzotermi	44
6.8	Elektron Mikroskobu İçin Hücrelerin Hazırlanması	45
7.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	46
7.1	Canlılık Üzerine Ağır Metallerin Toksik Etkisi	47
7.2	Klorofil-a Miktarlarına Göre Büyüme Eğrisi	47
7.3	pH ve Sıcaklık Etkisi	49
7.4	Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} Metallerinin Biyosorpsiyonu ve Biyobirikimi	51
7.4.1	Tekli Metal Ortamında Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	51
7.4.2	İkili Metal Ortamında Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	62
7.4.2.1	Demir-Çinko Metal Ortamında <i>Synechocystis</i> sp. (E35) İzolatının Davranışı	62
7.4.2.2	Demir-Bakır Metal Ortamında <i>Synechocystis</i> sp. (E35) İzolatının Davranışı	66
7.4.2.3	Bakır-Çinko Metal Ortamında <i>Synechocystis</i> sp. (E35) İzolatının Davranışı	71
7.4.3	Üçlü Metal Ortamında Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	76
7.4.4	Doğal Ortamdan Alınmış Numunelerde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim	80
7.5	Biyosorpsiyon/Biyobirikim Çalışmasının İstatistiksel Değerlendirilmesi	82
7.6	Biyosorpsiyon İzotermi	84
7.7	Elektron Mikroskobu Analizleri	89
7.7.1	Kontrol Hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüleri	89
7.7.2	Fe^{+2} Metalinin Siyanobakteri Hücrelerine Etkisi	90
7.7.3	Zn^{+2} Metalinin Siyanobakteri Hücrelerine Etkisi	93
7.7.4	Cu^{+2} Metalinin Siyanobakteri Hücrelerine Etkisi	95
8.	DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER	97

KAYNAKLAR	101
EKLER	108
Ek 1 BG11 (Blue Green) besiyeri içeriği	108
Ek 2 İz element çözeltisi.....	108
Ek 3 PBS (Phosphate Buffer Saline) tamponu	109
Ek 4 <i>Synechocystis</i> sp.(E35) izolatının ikili ve üçlü metallerle probit analiz sonuçları.....	109
Ek 5 EDS (Energy dispersive X-ray spectroscopy) sonuçları	110
Ek 6 Ki-Kare Test Tablosu	116
ÖZGEÇMİŞ.....	117

SİMGE LİSTESİ

a	Biyosorpsiyona ait ampirik sabit
b	Biyosorpsiyona ait ampirik sabit
Ce	Çözeltideki metalin denge konsantrasyonu
Co	Başlangıç metal konsantrasyonu
Cu	Bakır metali
Cr	Krom metali
Fe	Demir metali
Hg	Civa
Kf	Freundlich kapasite faktörü
m	Biyosorpsiyonda kullanılan hücrenin kuru ağırlığı
n	Freundlich şiddet parametresi
Ni	Nikel
q	Birim biyokütle başına biyosorplanan madde miktarı
V	Reaktördeki çözelti hacmi
Zn	Çinko metali

KISALTMA LİSTESİ

AKM	Askıda Katı Madde
C6	Sitokrom c6
CO	Sitokrom oksidaz proteini
EDS	Enerji Dağıtım X-ray Analizörü
HDP	Hücre Dışı Polisakkarit
ICP-MS	Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometer
KOİ	Kimyasal Oksijen İhtiyacı
MT	Metallotiyonin
NTU	Nephelometric Turbidity Unit (Bulanıklık birimi)
PC	Bakır içeren plastosiyanin
pH	Çözeltilerdeki hidrojen/hidroksit iyonu konsantrasyonunun logaritmik değeri
PSI	Fotosistem I
PSII	Fotosistem II
rpm	Dakikadaki dönüş hızı (Raunds per minutes)
SEM	Scanning Electron Microscopy
SKKY	Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği
TEM	Transmission Electron Microscopy
UAKM	Uçucu Askıda Katı Madde

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Küçükçekmece Gölü ve havzasının yerleşimi.....	4
Şekil 4.1 Biyosorpsiyon mekanizmaları (Veglio and Beolchini, 1997; Malik ,2004)	19
Şekil 5.1 Evrimsel soy ağacı [10].....	24
Şekil 5.2 Bazı siyanobakteri türlerinin mikroskop görüntüleri[12].....	25
Şekil 5.3 Siyanobakteri türlerinin çoğalması, (a) <i>Synechococcus</i> (faz kontrast); (b) <i>Synechocystis</i> (faz kontrast); (c) <i>Gloeotheca</i> (aydınlık saha); (d) <i>Chamaesiphon</i> (aydınlık saha) [14]	27
Şekil 5.4 Siyanobakteri türlerinde hormogonyum oluşumu[15]	28
Şekil 5.5 Siyanobakteri türlerinde parçalara bölünme (fragmentation) oluşumu[15]	28
Şekil 5.6 Siyanobakterilerde akinet ve heterosist örneği [11]	29
Şekil 5.7 <i>Synechocystis</i> PCC 6803’de fotosentez ve solunum elektron taşıma sisteminin gösterimi (Cavet vd., 2003).....	33
Şekil 5.8 Bakterilerde çinko dirençlilik mekanizması.....	34
Şekil 5.9 Bakterilerde şelat oluşturma yoluyla demir alınımı (Andrews vd., 2003)	35
Şekil 6.1 D1 noktasının harita üzerinde gösterimi (Üstün vd., 2005)	36
Şekil 6.2 D1 noktası (Taner, 2007).....	36
Şekil 6.3 Siyanobakterilere özel çalkalamalı etüv	38
Şekil 6.4 Mikro kuyucuklu plaka ile dirençlilik çalışması	39
Şekil 7.1 <i>Synechocystis</i> sp. (E35)’nin Fe^{+2} ,ye dirençliliği	48
Şekil 7.2 <i>Synechocystis</i> sp. (E35)’nin Zn^{+2} ,ye dirençliliği.....	48
Şekil 7.3 <i>Synechocystis</i> sp. (E35)’nin Cu^{+2} ,ye dirençliliği	49
Şekil 7.4 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	52
Şekil 7.5 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	53
Şekil 7.6 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	53
Şekil 7.7 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	55
Şekil 7.8 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	57
Şekil 7.9 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	57
Şekil 7.10 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	59
Şekil 7.11 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	61
Şekil 7.12 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	61
Şekil 7.13 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	63
Şekil 7.14 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	64
Şekil 7.15 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	66
Şekil 7.16 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	67
Şekil 7.17 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	69

Şekil 7.18 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	71
Şekil 7.19 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	72
Şekil 7.20 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	74
Şekil 7.21 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)	75
Şekil 7.22 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm, C ₀ =0.072 mmol Fe ⁺² /L, 0.063 mmol Cu ⁺² /L ve 0.061 mmol Zn ⁺² /L)	77
Şekil 7.23 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının Fe-Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm, C ₀ =0.072 mmol Fe ⁺² /L, 0.063 mmol Cu ⁺² /L ve 0.061 mmol Zn ⁺² /L)	78
Şekil 7.24 <i>Synechocystis</i> sp. (E35) izolatının doğal ortamdan alınmış su numunesinden biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm, C ₀ =3.30 ppm Fe ⁺² , 0.17 ppm Zn ⁺² ve 0.12 ppm Cu ⁺²)	81
Şekil 7.25 Fe (II) metali için Freundlich İzotermi	85
Şekil 7.26 Zn(II) metali için Freundlich İzotermi	85
Şekil 7.27 Cu (II) metali için Freundlich İzotermi	85
Şekil 7.28 Fe (II) metali için Langmuir İzotermi	87
Şekil 7.29 Zn(II) metali için Langmuir İzotermi	87
Şekil 7.30 Cu (II) metali için Langmuir İzotermi	87
Şekil 7.31 Kontrol siyanobakteri hücrelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri	89
Şekil 7.32 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri; çoğalma sırasındaki hücre bölünmesini (tek taraflı ok) ve hücre dışı polimerik (polisakkarit) yapıları (çift taraflı ok) göstermektedir	91
Şekil 7.33 Yüksek konsantrasyonda demir içeren bir sıcak su kaynağından izole edilen <i>Synechocystis</i> sp., hücrelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri	92
Şekil 7.34 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücreleri arasındaki HDP yapıların taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri	92
Şekil 7.35 10 ppm'lik Zn ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin SEM görüntüleri	94
Şekil 7.36 5 ppm'lik Cu ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin SEM görüntüleri	95
Şekil Ek 5.1 Kontrol kültüre ait genel EDS sonuçları	110
Şekil Ek 5.2 Kontrol kültürde tek bir hücreye ait EDS sonuçları	110
Şekil Ek 5.3 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerine ait genel EDS sonuçları	111
Şekil Ek 5.4 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde demirin yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları	111
Şekil Ek 5.5 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde demirin az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları	112
Şekil Ek 5.6 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde HDP yapıların olduğu bölgeye ait EDS sonuçları	112
Şekil Ek 5.7 10 ppm'lik Zn ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerine ait genel EDS sonuçları	113
Şekil Ek 5.8 10 ppm'lik Zn ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları	113
Şekil Ek 5.9 10 ppm'lik Zn ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun az	

olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	114
Şekil Ek 5.10 5 ppm'lik Cu ⁺² meteline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerine ait genel EDS sonuçları	114
Şekil Ek 5.11 5 ppm'lik Cu ⁺² meteline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	115
Şekil Ek 5.12 5 ppm'lik Cu ⁺² meteline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	115

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 2.1 Küçükçekmece Bölgesi'ne ait nüfus verileri.....	5
Çizelge 2.2 D1 noktasına ait bazı su kalite parametreleri	9
Çizelge 3.1 Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterlerinde yer alan metaller ve limitleri (SKKY, 2004).....	11
Çizelge 4.1 Bazı Mikrobiyal ve Algal Biyokütle'nin Biyosorpsiyon Kapasitesi (Volesky, 2003)	23
Çizelge 5.1 Siyanobakterilerin sınıflandırılması [13].....	26
Çizelge 5.2 Prokaryotlarda Metallerin İşlevini Düzenleyici Protein Grupları (Pennella, 2005).....	32
Çizelge 6.1 Çalışılan izolatların cinsleri ve izole edildikleri ortam	38
Çizelge 6.2 Tekli metal sistemlerinde kullanılan metal konsantrasyonları	41
Çizelge 6.3 İkili metal sistemlerinde kullanılan metal konsantrasyonları.....	43
Çizelge 6.4 Üçlü metal sistemlerinde kullanılan metal konsantrasyonları.....	43
Çizelge 6.5 İzoterm denemelerinde kullanılan metal konsantrasyonları.....	44
Çizelge 7.1 6 günlük denemede siyanobakteri izolatlarının EC ₁₀ ve EC ₅₀ değerleri	47
Çizelge 7.2 Optimizasyon çalışmasında elde edilen optik yoğunluk değerleri (pH=7)	50
Çizelge 7.3 Optimizasyon çalışmasında elde edilen optik yoğunluk değerleri (T=23°C)	50
Çizelge 7.4 Fraksiyonlar arası geçiş hızları.....	51
Çizelge 7.5 Fraksiyonlar arası geçiş hızları.....	56
Çizelge 7.6 Fraksiyonlar arası geçiş hızları.....	60
Çizelge 7.7 Fraksiyonlar arası geçiş hızları.....	65
Çizelge 7.8 Fraksiyonlar arası geçiş hızları.....	70
Çizelge 7.9 Fraksiyonlar arası geçiş hızları.....	73
Çizelge 7.10 Fraksiyonlar arası geçiş hızları.....	76
Çizelge 7.11 Farklı metal kombinasyonlarında birim kütle başına biyosorplanan metal miktarları (q)	79
Çizelge 7.12 Ki-Kare (Chi-Square) testi sonuçları.....	83
Çizelge 7.13 <i>Synechocystis</i> sp. izolatının Freundlich izotermi sabitleri (pH 7, T= 23°C, t=144 saat)	86
Çizelge 7.14 <i>Synechocystis</i> sp. izolatının Langmuir izotermi sabitleri (pH 7, T= 23°C, t=144 saat)	88
Çizelge 7.15 Kontrol hücrelerinin EDS sonuçları	90
Çizelge 7.16 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin EDS sonuçları	93
Çizelge 7.17 10 ppm'lik Fe ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde oluşan hücre dışı yapıların EDS sonuçları.....	93
Çizelge 7.18 10 ppm'lik Fe+2 metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde demirin az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	93
Çizelge 7.19 10 ppm'lik Zn ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin EDS sonuçları	94
Çizelge 7.20 10 ppm'lik Zn ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	94
Çizelge 7.21 10 ppm'lik Zn ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	95
Çizelge 7.22 5 ppm'lik Cu ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin EDS sonuçları.....	96
Çizelge 7.23 5 ppm'lik Cu ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	96
Çizelge 7.24 5 ppm'lik Cu ⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları.....	96

ÖNSÖZ

Tez çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve tecrübesi ile her zaman yanımda olduğunu hissettiren, sevgili danışmanım sayın Prof.Dr. Beyza ÜSTÜN'e;

Tez çalışmamın planlama ve uygulama sürecinde, bilgiye ve kaynaklara ulaşmamda teşvik edici, yol gösterici olan ve çalışma boyunca laboratuvarının kapılarını sonuna kadar açan sevgili hocam Prof.Dr. Belma ASLIM'a ve tüm ekip arkadaşlarına;

En kısıtlı zamanlarında bile yardımlarını esirgemeyen, pozitif bakış açılarıyla beni teşvik eden değerli hocalarım, YTÜ Çevre Mühendisliği Bölüm Başkanı Prof.Dr. Ahmet DEMİR'e ve İ.Ü. Su Ürünleri Fakültesi Öğretim Üyesi Doç.Dr. Meriç ALBAY'a;

Doktora çalışmamın da içinde yer aldığı, 105Y116 projesini destekleyen TUBİTAK'a, elektron mikroskobu çekimlerini gerçekleştiren Gazi Üniversitesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Prof.Dr. Zekiye SULUDERE'ye, Marmara Üniversitesi'nden Mustafa İLHAN'a, ICP cihazında metal okumalarını yapan N. Gökçe GÖKAĞAÇLI'ya;

Deneysel çalışmamın her adımında yanımda olan, emekleri yadsınamaz, fedakar arkadaşım Arş. Gör. Ebru Şebnem YILMAZ'a;

Şu andaki konumuma ulaşmamda sonsuz emekleri olan, kayıtsız şartsız destekleriyle beni güçlendiren annem Müzeyyen ÇAKIR ve babam Müslüm ÇAKIR'a, en kötü zamanlarımda hep yanımda olan sevgili kardeşim Dilek ÇAKIR'a, desteklerini hiç esirgemeyen sevgili annem Nilgün DEMİREL ve ailesine;

Çok zor günlerimde bile hep yanımda olan, doktora çalışmasının sıkıntılı yüklerini biraz olsun üstümden alan, moral veren sevgili arkadaşlarım Arş.Gör. Emel KOÇAK'a, Elif OKUMUŞ'a, Dilek GÖLGE BİLSEL'e, Şerife ADNAN'a, Derya ETYEMEZ'e ve Sibel DİNÇER'e;

Her ihtiyaç duyduğumda yanımda olan, karşılıksız desteği ile beni yönlendiren, güçlendiren ve en zayıf düştüğüm anlarda ışığım olan, örnek aldığım, hayattaki en değerli hazinemden ilki olan, hayatımda olmasından onur duyduğum meslektaşım ve eşim Ufuk DEMİREL'e;

Doktora tezim boyunca minicik varlığı ile beni yürekten destekleyen, pırıl pırıl bakışlarıyla yaşam kaynağım kızım Nilsu DEMİREL'e sevgilerimi, saygılarımı ve sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Nisan 2008

Sevgi DEMİREL

ÖZET

Küçükçekmece Gölü birçok endemik türü bünyesinde barındıran, dünyadaki doğal lagün göllerinden birisidir. Küçükçekmece Gölü'nde yapılan su kalitesi izleme çalışmalarında, su ve sediment yapıda önemli konsantrasyonlarda demir, bakır ve çinko metallerine rastlanmıştır (Üstün vd.2005). Bu çalışmada, Küçükçekmece Gölü'nden, ötrofikasyon döneminde alınan su örneklerinden izole edilen siyanobakteri izolatlarının Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerini biyosorpsiyonu/biyobirikimi incelenmiştir.

Bu çalışmada önce, gölden izole edilmiş 5 siyanobakteri izolatının, Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerinin 1-20 ppm konsantrasyonunda, 14 günlük periyotta klorofil-a ölçümü yapılarak gelişim eğrileri çıkarılmıştır. Ayrıca probit analizi ile metallerin izolatlar üzerine toksisite konsantrasyonları belirlenmiştir. Bu çalışmalar sonucunda, *Synechocystis* sp. E35 izolatının her üç metale de diğer izolatlara göre daha fazla dirençli olduğu saptanmıştır.

Genellikle alıcı ortamlarda birden fazla metal bir arada bulunmaktadır. Bu çalışmada E35 izolatının, Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerinin tekli, ikili ve üçlü karışımlarında biyosorpsiyon/biyobirikim kinetiği, bakterinin optimum gelişme koşullarında (23 °C, pH 7) irdelenmiştir.

Tekli metallerle yürütülen, biyosorpsiyon/biyobirikim denemeleri sonuçları incelendiğinde, sudan (duru fazdan) hücre yüzeyine metallerin geçiş hızı sırasıyla; $Cu^{+2} > Zn^{+2} > Fe^{+2}$; hücre yüzeyinden hücre içine metal geçiş hızı ise, $Fe^{+2} > Cu^{+2} > Zn^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır.

İkili metal çözeltilerinde, sudan hücre yüzeyine metal geçiş hızı sıralaması $Zn^{+2} > Cu^{+2} > Fe^{+2}$; hücre yüzeyinden hücre içine geçiş hızı ise $Fe^{+2} > Cu^{+2} > Zn^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır.

Üç metalin bir arada bulunması halinde, sudan hücre yüzeyine metal geçiş hızı sıralamasının $Zn^{+2} \approx Fe^{+2} > Cu^{+2}$ olduğu görülmektedir. Hücre yüzeyinden hücre içine geçiş hızı ise $Fe^{+2} > Zn^{+2} > Cu^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır.

Dirençli izolatın doğal ortamdaki davranışlarına yaklaşımlar yapabilmek amacıyla; Küçükçekmece Göl'ünden alınmış doğal su örneğiyle biyosorpsiyon/biyobirikim denemeleri yapılmıştır. Çalışmanın bu aşamasında da dirençli izolatın, en çok Fe^{+2} iyonlarını, daha sonra Cu^{+2} ve en az Zn^{+2} iyonlarını hücre içine aldığı görülmüştür.

Synechocystis sp. (E35) izolatı ile yapılan Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} denemeleri sonucunda, biyosorpsiyonun hem Freundlich hem de Langmuir izoterm modeline uyduğu görülmektedir.

Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerinin, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının morfolojik yapısında meydana getirdiği değişiklikler ve izolatın bu metallere karşı oluşturduğu savunma mekanizmaları, elektron mikroskobu görüntüleri ile ortaya konulmuştur. 10 ppm Fe^{+2} 'e maruz bırakılan *Synechocystis* sp. (E35) izolatına ait elektron mikroskobu görüntülerinde, hücre dışı polisakkarit (HDP) yapılar gözlemlenmiştir. 10 ppm Zn^{+2} ve 5 ppm Cu^{+2} iyonları ise *Synechocystis* sp. (E35) izolatında, demirde görüldüğü kadar yoğun olmamakla birlikte, hücre dışı polisakkarit oluşumuna sebep olmuştur.

Anahtar kelimeler: Ağır metal, biyosorpsiyon, biyobirikim, siyanobakteri, Küçükçekmece Lagünü.

EFFECT OF PHISICOCHEMICAL CONDITIONS ON HEAVY METAL BIOSORPTION IN NATURAL ENVIRONMENTS

ABSTRACT

Küçükçekmece Lake is one of the natural lagoon lakes in the world that contains various endemic species inside of it. In Küçükçekmece Lake, heavy metal observations are done in water and sediment structure and high amounts iron, copper and zinc metals are found (Ustun *et al.*, 2005). Biosorption/bioaccumulation characteristics of cyanobacteria that are isolated from Küçükçekmece Lake in the period of eutrophication is researched.

In this study, firstly; resistance of five cyanobacteria species that isolated from Küçükçekmece Lake are investigated against Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metals. As a result of resistance study, E35 (*Synechocystis* sp.) coded isolate is observed as the most resistant isolate. Growth curve of E35 coded isolate is drawn by chlorophyll measurement in metal containing medium.

Generally in receiving body, a lot of metals have been found together. Fort this purpose, biosorption/bioaccumulation kinetics of cyanobacteria is investigated in single, double and ternary metal mixtures of Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} at optimum growth conditions (23 °C, pH 7).

When single biosorption/bioaccumulation experiment set is examined, metal transfer speed from water to cell surface is $\text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$, and metals transfer speed from cell surface to cell inside is $\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$.

In double metal solutions, metal transfer speed from water to cell surface is $\text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$ respectively, and metals transfer speed from cell surface to cell inside is $\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ respectively.

In ternary metal mixtures, it is observed that metal transfer speed from water to cell surface is $\text{Zn}^{+2} \approx \text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ respectively, and metals transfer speed from cell surface to cell inside is $\text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ respectively.

In order to make approaches to behaviors of resistant isolate in its natural habitat, biosorption/bioaccumulation studies have done with the natural water examples that are taken from Küçükçekmece Lake. In this period of resistant isolate, it has been found that mostly Fe^{+2} then Cu^{+2} and Zn^{+2} ions are taken in to the cell.

As a result of Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} experiments that have done with *Synechocystis* sp. (E35) isolate, it has been found that biosorption is both suitable for Freundlich and Langmuir isotherm models.

Differences that have done E35 isolate morphological structures and *Synechocystis* sp. (E35)'s defense system that is formed against Fe^{+2} , Zn^{+2} and Cu^{+2} metals have shown by electron microscopy images. In the electron microscopy images of E35 exposed to 10 ppm Fe^{+2} , exopolysaccharide structures (EPS) are observed. 10 ppm Zn^{+2} and 5 ppm Cu^{+2} ions caused EPS forming but not much as iron.

Key Words: Heavy metals, biosorption, bioaccumulation, cyanobacteria, Küçükçekmece Lagoon.

1. GİRİŞ

Doğal akifer yapılarında sıkça bulunan ve sedimentte birikme özelliğine sahip olan ağır metaller toprak veya kayaların aşınması, volkan patlaması gibi doğal kaynaklardan ya da ağır metal kirleticileri içeren çeşitli insan aktiviteleri sonucu alıcı ortamlara karışabilmektedir. Ağır metaller canlılar için toksik olmaları ve besin zincirinde birikmeleri nedeniyle ekosistemde ciddi çevre sorunlarına yol açmaktadırlar (Ali ve ark., 2004). Bu nedenle ağır metallerin ekolojik dengeye zarar vermeden sisteme deşarj edilmesi gerekmektedir.

Ağır metal gideriminde yaygın olarak kullanılan fizikokimyasal teknikler hem pahalı hem de yeni çevre problemlerine yol açabilmektedir. Bunun sonucu olarak, son yıllarda biyoteknolojik yaklaşımlar alternatif bir arıtma yöntemi olarak dikkat çekmektedir (Iyer vd., 2004; Davis vd., 2003).

Ağır metallerin biyoteknolojik olarak gideriminde birçok mikroorganizma türü denenmiş olup bu konudaki çalışmalar halen sürdürülmektedir. Bu mikroorganizmalardan siyanobakteriler, hem su hem de kara ortamında bulunabilmeleri, hücre büyüklükleri ve hücre duvarı yapısındaki bileşenlerinden dolayı ağır metallerin gideriminde kullanılan bakteri türleri arasındadır (Zhou vd., 2006). Siyanobakteriler ve algler, ağır metali hücre içinde tutabilen ve hücre içindeki yüksek metal konsantrasyonunu detoksifiye edebilme özelliğine sahip metal bağlayan proteinler üretirler (Humble vd., 1997). Ayrıca siyanobakteriler su kaynaklarından kolaylıkla izole edilebilmekte ve minimum maliyetle üretilebilmektedir.

Ülkemizin ender lagün göllerinden biri olan Küçükçekmece Gölü'nde kontrolsüz evsel ve endüstriyel deşarjlar sonucu dönem dönem ötrofikasyon meydana gelmektedir. "The Development of Environmental Management Model in Kucukcekmece Basin" isimli uluslararası TÜBİTAK- GSRT projesi (Proje No: 102Y011) ile Küçükçekmece Gölü'nde su ve sediment yapıda ağır metal izlemeleri yapılmış ve önemli konsantrasyonlarda bakır, demir ve çinko metallerine rastlanmıştır.

Bu çalışmada Küçükçekmece Gölü'nden, ötrofikasyon döneminde alınan su örneklerinden izole edilen siyanobakteri izolatlarının Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerini biyosorpsiyonu/biyobirikimi incelenmiştir. Bu araştırma "Doğal Ortamda Ağır Metal İzlemesi: Uygulama Alanı Küçükçekmece Gölü ve Havzası" isimli ulusal TÜBİTAK projesi (Proje No: 105Y116) desteği ile yürütülmüştür.

Bu çalışma kapsamında;

- K           G    ve Havzası'na ait nüfus, iklim ve flora-fauna gibi özelliklerinin su ve dip çamuru kalitesi üzerine etkileri ile çalışılan ekosistemde en çok rastlanan Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerinin kimyasal özellikleri, canlılar üzerine etkisi ve bu metalleri ortama veren kirletici kaynakları birlikte değerlendirilmiştir.
- Kirletici kaynağından çıkan ağır metallerin gideriminde kullanılan biyolojik süreçler ve daha önce yapılmış çalışmalarda bu süreçlerde kullanılan canlı türleri incelenmiştir.
- Araştırma alanında baskın tür olduğu için seçilen “siyanobakteri”lere ait genel özellikler ve bakterilerde metal iyonlarının bağlandığı bölgeler detaylı bir şekilde tartışılmıştır.
- Bu çalışmada kullanılan türün doğal ortamdan izolasyonu, laboratuardaki üreme koşulları, çalışılan izolatların Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerine karşı dirençliliği, bu metallerin biyolojik olarak siyanobakteri bünyesine alınabilirliği (biyobirikim kapasitesi) analizlerle, gözlemlerle ve elektron mikroskobu gibi destek teknolojiler kullanılarak değerlendirilmiştir.
- Araştırma sonunda, çalışmanın devamına ya da başka araştırıcıların çalışmalarına ışık tutmak amacıyla öneriler verilmiştir.

2. KÜÇÜKÇEKMECE GÖLÜ VE HAVZASI

Bu çalışmada kullanılan siyanobakteri türlerinin izole edildiği bölge olan Küçükçekmece Gölü ve çevresindeki havza nüfusunun tarihsel gelişimine paralel olarak göle yapılan kontrolsüz evsel ve endüstriyel deşarjlar sonucunda bölge ekosistemi olumsuz olarak etkilenmektedir. Buna bağlı olarak flora-fauna özelliklerinde değişim gözlemlenmektedir. Ayrıca bölgenin iklim koşulları ve lagün (Küçükçekmece Gölü-Marmara Denizi bağlantısı) coğrafyasına sahip olması havzadaki kirletici davranışlarını etkilemektedir.

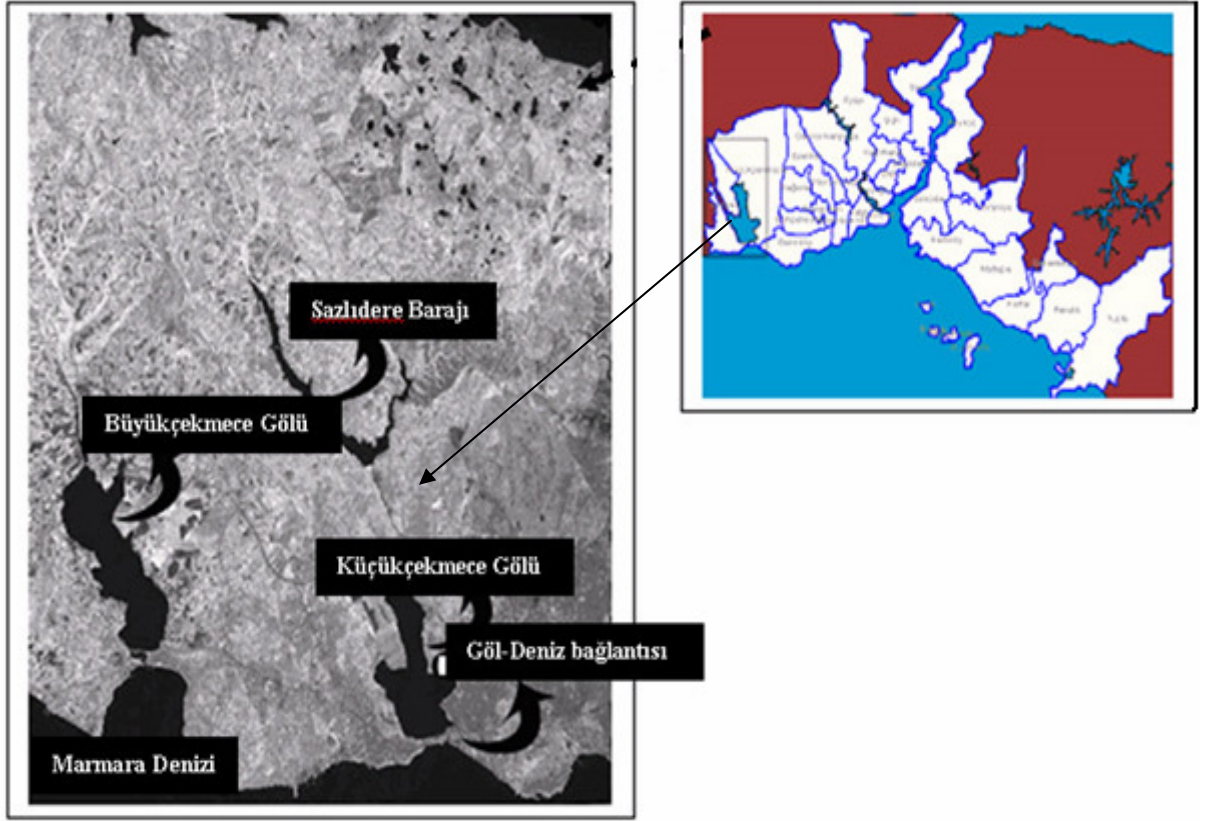
2.1 Küçükçekmece Lagünü Korunma Profili

Küçükçekmece Gölü, Çevre ve Orman Bakanlığı'nın 17.05.2005 tarih ve 25818 Sulak Alanların Korunması Yönetmeliği'ne göre uluslararası öneme sahip 135 sulak alandan biridir. Özellikle 1994 yılı itibariyle ülkemizin taraf olduğu Ramsar Sözleşmesi kapsamında değerlendirilebilecek, Türkiye'deki nadir lagün ekosistemlerinden birisidir. Ancak, son zamanlarda yapılaşmanın artması, gölü besleyen akarsu debilerinin azalması nedenleriyle bu özellikleri olumsuz yönde etkilenmektedir (Okumuş, 2007).

Küçükçekmece Gölü, İstanbul şehir merkezinin 25 km. batısında yer alıp, 15.22 km² yüzey alanına sahiptir. Fazla olmayan derinliği güney kıyısı yakınlarında 20 m'ye ulaşır. Küçükçekmece Gölü'nü, Çatalca Yarımadası'nın iç kesimlerinden kaynaklanan üç küçük akarsu beslemektedir. Bunlar Nakkaşdere, Sazlıdere ve Eşkinöz Deresi'dir. Gölün Marmara Denizi ile bağlantısını yaklaşık 1 km. uzunluğundaki Menekşe Deresi sağlamaktadır. Menekşe Deresi'nde kimi zaman gölden denize, kimi zaman denizden göle su akışı olmaktadır (Başer, 2006).

1985 yılına kadar Küçükçekmece Gölü, DSİ ve İSKİ tarafından içme suyu kaynağı olarak kullanılmıştır. 1984–1985 ile 1989 yıllarına ait analiz verileri değerlendirildiğinde, gölde doğal kirlenmelerin dışında yapay veya insanlara bağlı kirlenmelerin varlığı, 1995 ve özellikle 1997 yıllarına ait analiz verilerinde ise ağır metal kirlenmelerinin olduğu saptanmıştır. Bu durumun en önemli sebebi Küçükçekmece Gölü'nün, 1985–1997 yılları arasında havza koruma alanı olmaktan çıkarılmış olmasıdır (Başer, 2006).

Küçükçekmece Gölü ve havzasının Marmara Bölgesi'ndeki konumu, İstanbul'a yakınlığı ve diğer havzalarla ilişkisi Şekil 2.1'de görülmektedir (Üstün vd., 2005).



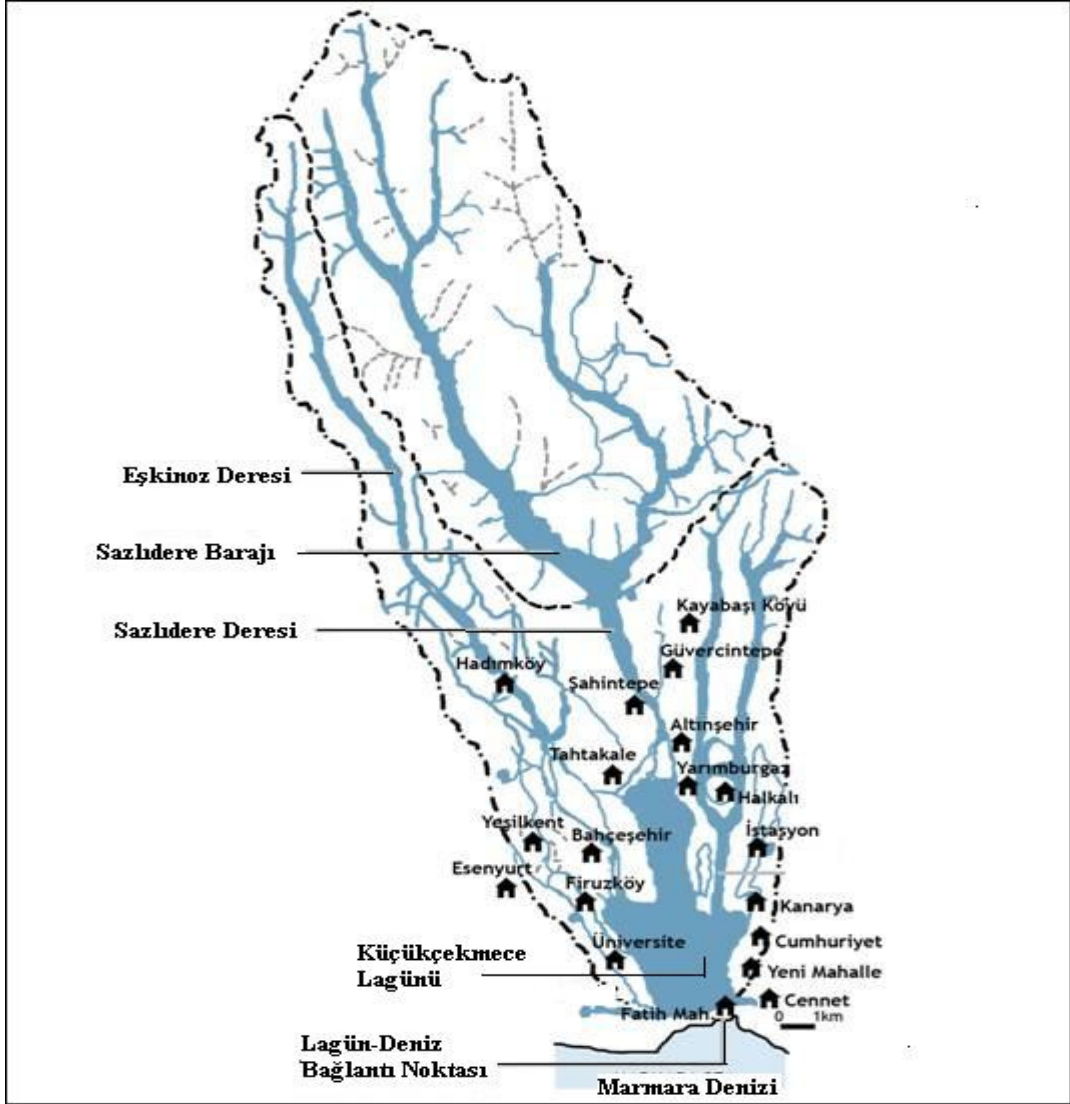
Şekil 2.1 Küçükçekmece Gölü ve havzasının yerleşimi

2.2 Küçükçekmece Bölgesi'nde Nüfus Gelişimi

Küçükçekmece Kasabası 19.yy'da Çatalca'ya bağlı bir köy statüsündedir. 1908'de aynı statü ile Bakırköy'e (Makriköy) bağlanan Küçükçekmece, Cumhuriyet'in ilk döneminde de bu konumunu korumuştur. 1935'de 707 olan nüfusu 1941'de 780'e çıkmıştır (Başer, 2006).

Türkiye Cumhuriyeti'nin ilanından bu yana Küçükçekmece Bölgesine göçlerin 3 ana dönemde olduğu anlaşılmaktadır. İlk göçler Cumhuriyetin kuruluşu sırasında olmuştur. Bu dönemde Avrupa'da özellikle Selanik'te yaşayan Türkler Küçükçekmece bölgesinde yaşayan Yunanlılarla yer değiştirmişlerdir. İkinci göç dönemi, 1950 ve 1960'lı yıllar arasında yaşanmıştır. Bu dönemde gölün batı kısmında Cumhuriyet Mahallesi, Yeni Mahalle, Kanarya Mahallesi, İstasyon Mahallesi ve Altınşehir Mahallesi gibi yerleşimler kurulmuştur. En etkili göçler ise 1970'lerde başlamış ve halen devam etmektedir ki bu süreç üçüncü dönem olarak ifade edilmektedir. Bu dönemde insanlar Anadolu'dan özellikle Güneydoğu Anadolu'dan Küçükçekmece Bölgesine gelmiştir. Çevresel ve sosyal problemlerin kaynağı kontrolsüz nüfus artışı III. dönemde ortaya çıkmıştır. Bölgenin büyük bir kısmının imar izni

bulunmamaktadır ve yasal olmayan inşaatlar imar izninin olmadığı alanlarda görülmektedir (Okumuş, 2007). II. ve III. göç döneminde oluşan yeni yerleşim birimleri Şekil 2.2’de gösterilmektedir (Taner, 2007).



Şekil.2.2 Küçükçekmece Bölgesi’ndeki yerleşim birimleri

Küçükçekmece Bölgesi’ne ait, 1935–2000 yılları arasındaki nüfus verileri Çizelge 2.1’ de verilmiştir. 1970 yılı itibariyle bölgedeki nüfus yoğunluğunda ciddi bir artışın olduğu görülmektedir (Başer, 2006).

Çizelge 2.1 Küçükçekmece Bölgesi’ne ait nüfus verileri

Tarih	1935	1941	1970	1980	1990	2000
Nüfus	707	780	43385	81.503	112.264	600.000

2.3 Küçükçekmece Bölgesi'ndeki İklim Şartları

Küçükçekmece Havzası'nda Marmara ve Batı Karadeniz iklimi görülmektedir. Bu iklimde yazlar sıcak ve az yağışlı, kışlar ılık ve yağışlı geçmektedir. Topoğrafik yapı, göl ve barajların varlığı bölgedeki iklimi etkilemektedir. Dağların kıyı çizgisi boyunca ve kıyıya paralel uzanması nedeniyle Karadeniz üzerinden gelen yağmur bulutlarının iç kesimlere girmesi engellenmektedir. Bu nedenle kıyı kesimler iç kesimlerinden daha fazla yağış almaktadır. “Bölgede yıllık yağış 500 mm ile 1000 mm arasında değişmektedir. Yıllık ortalama yağış 781 mm'dir. Bölgedeki yıllık ortalama sıcaklık 13,7 °C'dir. Bununla birlikte en düşük sıcaklık genellikle Şubat ayında, en yüksek sıcaklık ise Ağustos ayında görülmektedir” (Üstün vd., 2005).

Bölgedeki etkin rüzgar yönleri Kuzey (%16.67), Kuzeydoğu (%45) ve Güneybatı (%16.77) olarak belirlenmiştir, aylık ortalama rüzgar hızları ise 1.8 m/s ve 3.3 m/s arasında değişmektedir (Şenduran, 2007).

2.4 Küçükçekmece Bölgesi'nin Flora-Fauna Özellikleri

Ekonomik bakımdan göldeki en önemli balık türleri *Esox* sp., *Scardinius* sp., *Mugil* sp., *Anguilla* sp., *Pleuronectiformes* takımına ait *Dicentrarchus* sp.' dir. Ancak Küçükçekmece Gölü'nde türlerin giderek azaldığı ve sadece *Cyprinus* sp., *Esox* sp. ve *Siluriformes* takımına ait balık çeşitlerinin bulunduğu ve su-sediment kalitesinin bozulmasıyla sayılarının her geçen gün azaldığı rapor edilmiştir (Üstün vd., 2005).

1998 yılında, Doğal Hayatı Koruma Derneği tarafından yapılan bir araştırmaya göre gölde belirlenen endemik türler; *Veronica turrilliana*, *V. ovalifolium*, *Verbascum bugulifolium*, *Linum tauricum* ssp., *Linum hirsutum* ssp., *Gypsophila glomerata*, *Erysimum degenianum*, *Allium moschatum*, *Hutchinsea petraea*, *Heptaptera triquetra*, *Onosma proponticum*, *Galanthus nivalis* ssp., *Crocus biflorus* ssp., *Cirsium polycephalum*, *Centaurea thracica*, *Aterlinosyrus*, *Cephalaria nova* sp. ve *Rhazya orientalis* olduğu belirlenmiştir (Üstün vd., 2005).

2.5 Küçükçekmece Bölgesi'nin Günümüzdeki Durumu

Türkiye'de bulunduğu konum ve sağladığı sosyal ve ekonomik faydalarla, en önemli göllerden bir tanesi Küçükçekmece Gölü'dür. Havzanın en önemli özellikleri (Gökağaçlı, 2007);

- İçme ve kullanma suyu temin edilebilecek olan yüzeysel su kaynağı olması,
- Önemli sayıda su kuşu için barınak özelliği taşıması,

- Küresel olarak tehdit altındaki türleri barındıran bir bölge olması (Bern sözleşmesi),
- Birçok endemik türü barındırması,
- Ekonomik açıdan önemli balık türlerinin bulunması,
- Dünyada denizle bağlantısı olan nadir lagün göllerinden birisi olmasıdır

Ancak bu önemli özellikler, havzanın yerleşim, endüstri, tarım ve dinlenme-eğlenme bölgesi olarak kullanılmasını da beraberinde getirmektedir.

Bu paradigma; İstanbul Metropolitan Alan Alt Bölge Nazım Planı'nda (1/50000), Küçükçekmece Gölü ve çevresinin, doğal sit alanı olarak korunması ve kentsel rekreasyon amacıyla kullanımını öngörüsünde de görülmektedir. Fakat göl ve çevresinde yapılan araştırmalar göstermiştir ki, bölgenin korunması ve söz konusu amaç doğrultusunda kullanımı gerçekleşmediği gibi alan, ciddi bir kirlilik problemiyle karşı karşıyadır. Havzada yapılan gözlemler sonucunda Küçükçekmece Gölü ve çevresinin kirliliğindeki başlıca nedenler (Ağcıoğlu, 2004);

- Hızlı nüfus artışı ve altyapı yetersizliği,
- Bölgenin 1984–1997 yılları arasında havza koruma alanı dışında tutulması,
- Bölgedeki evsel ve endüstriyel atıksuların arıtılmadan göle deşarj edilmesi,
- 1995 yılında kapatılan Halkalı çöp depolama alanına ait sızıntı sularının, yeraltı suları ile göle ulaşma olasılığı,
- Gölü besleyen en önemli derelerden biri olan Sazlıdere üzerinde 1989 yılında, yıllık su tutma kapasitesi $50 \times 10^6 \text{ m}^3$ olan Sazlıdere barajının yapılmasından sonra önemli miktarda tatlı su kaynağının göle girişinin engellenmiş olması (Albay vd., 2004),
- Göl kıyısında kıyı genişletmek, park yapmak veya başka amaçlar için gölün doldurulması,
- Göl kıyısında, kirlenme nedeniyle oluşan sazlıklardan dolayı göl hacminin azalması,
- Çekmece Nükleer Araştırma ve Eğitim Merkezi Laboratuvarları sıvı atıklarının 1997 yılının sonuna kadar göle boşaltılması olarak saptanmıştır.

Yukarıda anlatılan kirlenme kaynaklarının bir sonucu olarak Küçükçekmece Gölü'nde dönemsel olarak ötrofikasyon meydana gelmektedir. Üstün vd. (2005 ve 2006) ile Albay vd. (2004) tarafından, Küçükçekmece Gölü ve Havzası'nın su kalitesi problemleri ile ilgili olarak

yapılan araştırmalarda su ve sediment kalitesi izlemesinin (bazı ağır metaller de dâhil) yanı sıra ötrofikasyon problemleri de araştırılmıştır.

Üstün ve arkadaşları (2005) tarafından tamamlanmış olan, “The Development of Environmental Management Model in Kucukcekmece Basin” isimli uluslararası TÜBİTAK-GSRT proje kapsamında Küçükçekmece Gölü’nde su ve sediment yapıda ağır metal izlemeleri yapılmış ve önemli konsantrasyonlarda bakır, demir ve çinko metallerine rastlanmıştır.

Albay vd. (2005) tarafından yapılmış olan çalışmada ise; göldeki siyanobakterilerin (mavi-yeşil alglerin) yüzey suyundaki artışı ve bu alglerin ürettikleri toksinler belirlenmiştir.

Yapılan çalışmaların ışığında, bu araştırmada Küçükçekmece Gölü’nden, ötrofikasyon döneminde alınan su örneklerinden izole edilen siyanobakteri izolatlarının Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerini biyosorplama kapasitesinin incelenmesi hedeflenmiştir. Bu çalışma için kullanılan siyanobakteri örnekleri Sazlıdere’nin Küçükçekmece Gölü’ne döküldüğü noktadan 2005 yılının Kasım-Aralık ve 2006 yılının Ocak-Şubat dönemlerinde izole edilmiştir. Siyanobakteri izolatlarının izole edilmek için ortamdan alındığı döneme ait su kalitesi değerleri Çizelge 2.2’de verilmiştir (Üstün vd., devam ediyor).

Çizelge 2.2 D1 noktasına ait bazı su kalite parametreleri

	Kasım-2005	Aralık-2005	Ocak-2006	Şubat-2006
Sıcaklık (°C)	12	9	9	2
pH	7.4	7.0	8.0	7.8
Tuzluluk	1.0	0.5	0.3	0.0
İletkenlik (µS/cm)	2250	1450	1031	509
Çözülmüş Oksijen (mg/l)	4.9	1.0	Ölçüm Yok	8.7
Bulanıklık (NTU)	78	59	202	12
AKM (mg/l)	66	50	72	18
UAKM (mg/l)	66	40	72	16
Alkalinite (mg/l CaCO ₃)	760	330	780	180
Klorofil- <i>a</i> (mg/m ³)	225	36	37	<10
KOİ-suda (mg/l)	377	272	1190	701
KOİ-sediment üstü (mg/l)	323	1199	3052	806
KOİ-sediment (mg/l)	34450	98810	47791	Ölçüm Yok
NO ₃ -N (mg/l)	Ölçüm Yok	38.3	47.1	10.8
Ortofosfat (mg/l)	35.2	25.7	35.5	2.1
Fe	Su (µg/l)	7310	5205	12000
	Su-Sediment Arası (µg/l)	9538	32190	4941
	Sediment (µg/kg-ıslak ağırlık)	54030	57750	30990
Cu	Su (µg/l)	<D ^a	<D	<D
	Su-Sediment Arası (µg/l)	330.90	496.00	181.90
	Sediment (µg/kg-ıslak ağırlık)	<D	60.70	<D
Zn	Su (µg/l)	<D	<D	14420
	Su-Sediment Arası (µg/l)	1463	168,5	<D
	Sediment (µg/kg-ıslak ağırlık)	76.62	529.10	117.30

a Ölçülebilen minimum değerin altındaki ölçümleri ifade etmektedir.

3. AĞIR METALLER

“Ağır metal” terimi yoğunluğu 5 g/cm^3 ’den daha büyük olan, düşük konsantrasyonlarda bile toksik etki gösterebilen metalik kimyasal elementleri ifade etmektedir (Gremion, 2003).

Ağır metaller yer kabuğunun doğal bileşenlerindendir. Bu metaller, erozyon, maden yataklarının taşınması, rüzgâr, volkanik patlamalar ve orman yangınları gibi doğal olaylar ile endüstriyel deşarjlar, çöp depo alanlarındaki sızıntılar gibi çeşitli insan aktiviteleri sonucunda alıcı ortamlara girmektedir (Prego, 2003).

Ağır metal içeren atıksu üreten başlıca endüstriler; maden işletmeleri (kurşun, çinko, demir, bakır, gümüş, krom, altın ve uranyum), metal endüstrileri (demir-çelik, bakır, çinko, krom v.b) ve diğer metal kaplama, kurşun batarya, seramik, matbaacılık, fotoğrafçılık, deri, tekstil, elektrik-elektronik, kimya, boya ve otomotiv endüstrileridir (Sağlam, 1995).

Sucul ortamlardaki canlı hayatının sürdürülebilirliğini sağlamak, su kalitesinin korunumuna katkıda bulunmak ve bu doğrultuda suyun kullanım amacını belirlemek amacıyla standartlar geliştirilmiştir. Türkiye’de Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliğince kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterleri belirlenmiştir (Çizelge 3.1).

Ağır metallerin, fiziksel-kimyasal özellikleri biyokimyasal süreçlere katılımını etkilemektedir. Bu katılım da canlı hayatını etkilemektedir. Bu çalışmada Küçükçekmece Gölü’nde en çok rastlanan Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerinin, bölge ekosistemindeki biyokimyasal süreçlere etkisini belirleyebilmek için metallerin suda, havada, asidik-bazik ortamlardaki davranışları, oluşturdıkları bileşikler ve canlılarla olan ilişkileri irdelenmiştir.

Endüstriyel atıksu deşarjları ile alıcı ortama verilen ağır metaller doğada birikme özelliğine sahiptirler. Biriken metaller fiziksel, kimyasal ya da biyolojik proseslerle deşarj noktasından uzak bölgelere taşınabilmektedir. Ayrıca ağır metaller, besin zinciriyle girdikleri canlı bünyesinden doğal fizyolojik mekanizmalarla atılamadıkları için bünyede birikme özelliğine sahiptir (Edwards, 2001).

Demir, bakır ve çinko gibi ağır metaller canlılar için temel besin maddeleridir. Ancak bu metaller belirli seviyeleri aştığında toksik olabilmektedirler (Rutherford ve Bird, 2004). Bu nedenle metallerin fiziksel - kimyasal özellikleri ile kullanım alanları canlılar için önem taşımaktadır. Ayrıca ağır metallerin bulunduğu ortamın fizikokimyasal koşullarındaki değişim

ya da ortama farklı kirleticilerin girmesi durumunda da biyokimyasal süreçler etkilenmektedir.

Çizelge 3.1 Kıta içi su kaynaklarının sınıflarına göre kalite kriterlerinde yer alan metaller ve limitleri (SKKY, 2004)

SU KALİTE SINIFLARI				
Metaller	I	II	III	IV
Civa ($\mu\text{g Hg/L}$)	0.1	0.5	2	> 2
Kadmiyum ($\mu\text{g Cd/L}$)	3	5	10	> 10
Kurşun ($\mu\text{g Pb/L}$)	10	20	50	> 50
Arsenik ($\mu\text{g As/L}$)	20	50	100	> 100
Bakır ($\mu\text{g Cu/L}$)	20	50	200	> 200
Krom (toplam) ($\mu\text{g Cr/L}$)	20	50	200	> 200
Krom ($\mu\text{g Cr}^{+6}/\text{L}$)	Ölçülmeyecek kadar az	20	50	> 50
Kobalt ($\mu\text{g Co/L}$)	10	20	200	> 200
Nikel ($\mu\text{g Ni/L}$)	20	50	200	> 200
Çinko ($\mu\text{g Zn/L}$)	200	500	2000	> 2000
Siyanür (toplam) ($\mu\text{g CN/L}$)	10	50	100	> 100
Demir ($\mu\text{g Fe/L}$)	300	1000	5000	> 5000
Mangan ($\mu\text{g Mn/L}$)	100	500	3000	> 3000
Bor ($\mu\text{g B/L}$)	1000	1000	1000	> 1000
Selenyum ($\mu\text{g Se/L}$)	10	10	20	> 20
Baryum ($\mu\text{g Ba/L}$)	1000	2000	2000	> 2000
Alüminyum (mg Al/L)	0.3	0.3	1	> 1

3.1 Demir

Periyodik cetvelin VIII. Grubunda yer alan demir metali geçiş metalleri arasında yer almaktadır. Demirin elektrik iletkenliği alüminyum ve bakır elementlerinden daha düşüktür. Demir metalinin kimyasal özellikleri aşağıda verilmiştir (Housecroft ve Sharpe, 2002).

Sembolü: Fe

Atom Numarası: 26

Kütle Numarası: 55,85 g/mol

Erime Noktası: 1536 °C

Kaynama Noktası: 2750 °C

Yoğunluğu: 7,8 g/cm³ (20 °C'de)

Demir doğada çözünmeyen demir oksit ve demir sülfid ve kolayca çözülebilen demir karbonat formlarında bulunur. Yeraltı suları bol miktarda CO₂ içermektedirler. Demir karbonatlar bu

ortamda çözünerek tekrar serbest Fe formuna geçerler (Denklem 3.1) (Sawyer et.al, 2003).



3.1.1 Bileşikleri

Demir II oksit (FeO): Siyah bir bileşiktir ve demir III oksitin yüksek sıcaklıkta indirgenmesiyle elde edilir.

Demir III oksit (Fe₂O₃): Doğada yaygın olarak bulunur. Pas bu oksitin hidratıdır.

Ortamın fizikokimyasal koşullarına bağlı olarak Fe₃O₄, FeCl₂, FeCl₃, FeS, FeSO₄.7H₂O ve Fe₂(SO₄)₃ gibi bileşikleri de bulunmaktadır (Housecroft ve Sharpe, 2002).

Hava ile Reaksiyonu

Demir nemli hava ile reaksiyona girerek korozyona uğrar. Isınmaya bağlı olarak Fe₂O₃ ve Fe₃O₄ oksitlerini oluşturur (Denklem 3.2 ve 3.3).

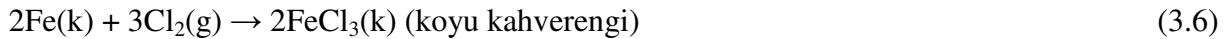


Su ile Reaksiyonu

Su buharı ile tersinir bir reaksiyon meydana getirmektedir (Denklem 3.4) .



Halojenler ile Reaksiyonu



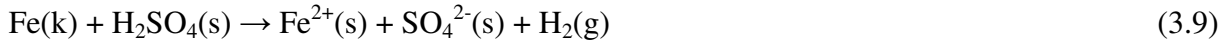
Demir metalinin iyodür ile direk reaksiyonu sonucunda FeI₂ oluşmaktadır (Denklem 3.8).



Asit ile Reaksiyonu

Seyreltik sülfürik asit çözeltisi ile reaksiyonu sonucunda Fe⁺² katyonu çözeltiliye geçmektedir

(Denklem 3.9).



Eğer ortamda oksijen varsa Fe(II), Fe(III)' e yükseltgenir.

Baz ile Reaksiyonu

Kuvvetli bazik çözeltilerde kararlı $(\text{FeO}_4)^{2-}$ kompleksleri oluşturur. Bu kompleks nötral ve asidik ortamda bozunur [4].

3.1.2 Kullanım Alanları

Demir metali çok çeşitli alaşımların yapımında özellikle çelik endüstrisinde çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır (Manahan, 1994). Doğada en yaygın olarak bulunan metaldir ve inşaat sektöründe de çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Çelik sanayinin ana hammaddesi olarak, demir oksitleri boya endüstrisinde pigment olarak, saf halde demir karbon ve diğer metallerle alaşımları halinde, inşaatlarda beton, kiriş ve yüzeylerin güçlendirilmesinde kullanılmaktadır [5].

3.1.3 Canlılar İçin Önemi

Demir bütün organizmalar için önemli bir elementtir. Demir solunum ve fotosentez gibi proseslerde elektron taşıma özelliğine sahiptir. İnsan vücudunda, kanda oksijen taşıyan hemoglobinin önemli bir parçasını oluşturur.

3.2 Bakır

Periyodik cetvelin I B grubunda yer alan bakır metali kusursuz bir ısı ve elektrik iletkenidir. Orta serlikte olduğundan kolaylıkla dövülebilir ve tel haline getirilebilir. Havayla yüzeysel bir korozyona uğrar.

Sembolü: Cu

Atom Numarası: 29

Kütle Numarası: 63,546 g/mol

Erime Noktası: 1083 °C

Kaynama Noktası: 2595 °C

Yoğunluğu: 8,9 g/cm³ (20 °C'de)

Bakır doğada yaygın olarak bulunmaktadır. Kızıl renkli kübik kristal yapıdadır. Kırmızı ve turuncu ışığı yansıtırken görünür bölgedeki diğer frekansları soğurmaktadır. Bakır suda çözünmeyen formdadır [5,8].

3.2.1 Bileşikleri

Bakır I oksit (Cu_2O), cama yakut kırmızısı rengi vermek amacıyla kullanılır.

Bakır II oksit (CuO), siyah renklidir, cama yeşil rengi vermede kullanılır.

CuCl , kristal yapılı, beyaz toz halinde bir bileşiktir. Suda çözünmeyen ancak amonyak ve HCl 'de çözünen bir bileşiktir.

CuCl_2 susuz hali sarıdır. Sulandırıldığında yeşil renkli, kristal bir yapı alır (Housecroft ve Sharpe, 2002).

CuSO_4 , bakır tuzlarının en önemlisidir. Saf bakırın ısıtılarak yükseltgenmesiyle oluşan oksitin sülfürik asitte çözülmesiyle bakır sülfat elde edilir. Boya endüstrisinde kullanılır. Ayrıca tarım alanlarında böcek öldürücü ve ötrofikasyon kontrolünde algisit olarak kullanılır.

Hava ile Reaksiyonu

Bakır metali normal koşullar altında havada kararlıdır. Isıtılarak oksijen ile reaksiyonu sonucunda Cu_2O oluşturmaktadır (Denklem 3.10).

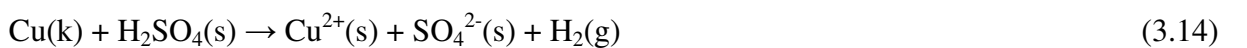


Halojenler ile Reaksiyonu



Asit ile Reaksiyonu

Metalik bakır, seyreltik ve derişik nitrik asit içinde çözünmektedir. Sıcak derişik sülfürik asit ile reaksiyonu sonucunda Cu(II) çözeltisini oluşturmaktadır. Çözeltideki iyon $[\text{Cu}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$ kompleksidir ve reaksiyon sonucunda hidrojen gazı açığa çıkmaktadır (Denklem 3.14) [4].



3.2.2 Kullanım Alanları

Sanayide kullanılan metaller arasında en iyi iletkenlerden birisidir. Gümüşün iletkenliğinin % 95'ine ulaşan bir iletkenlik özelliğine sahiptir. Ayrıca bakır çok iyi bir ısı iletkenidir. Hava korozyonuna karşı yüksek direnç gösterir (Boru sistemleri, çatıların kaplanması).

Bakır metali, bakır tel yapımında, yüksek frekans hattı yapımında, müzik enstrümanlarının yapımında, renkli cam yapımında, vakum tüpleri, katot ışık tüpleri, mikrodalga fırınlarda kabartma metal olarak ve elektrik endüstrisi gibi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır [4,8].

3.2.3 Canlılar İçin Önemi

Bakır, düşük konsantrasyonlarda canlı yaşamı için gerekli olan bir element olmasına karşın sınır değerler aşıldığında organizmaya zarar vermektedir. En fazla beyin ve karaciğer olmak üzere tüm dokularda görülen bakır konsantrasyonundaki artış, kalıtsal nitelikte bir hastalık olan Wilson hastalığı riskini arttırmaktadır (Sawyer vd., 2003)

Uzun süreli maruz kalmalarda, burun, ağız ve gözde rahatsızlığa neden olabilmektedir, baş ağrısı, mide bulantısı, ishal, kusma gibi rahatsızlıklara yol açabilmektedir. Yüksek oranlarda alınmasıyla böbreklere ve karaciğere zarar verebilmektedir [5].

Yüzeysel sularda 1mg/l' nin altındaki bakır konsantrasyonlarında dahi su bitkilerine toksik etkiye bulunabilmektedir. 1mg/l konsantrasyondaki bakır bazı balık türleri için toksik olabilmektedir (Sawyer vd., 2003).

3.3 Çinko

Çinko, kadmiyum ve cıvaya benzer özellikleriyle birlikte periyodik tabloda geçiş elementleri grubunda yer almaktadır Çinko genleşebilme, uzayabilme özelliğine sahip ve mavimsi beyaz renkli bir metaldir. 100-150 °C arasında dövülerek yassılaştırılabilir [2,8].

Sembolü: Zn

Atom Numarası: 30

Kütle Numarası: 65,409 g/mol

Erime Noktası: 419,53 °C

Kaynama Noktası: 907 °C

Yoğunluğu: 7,14 g/cm³ (20 °C'de)

3.3.1 Bileşikleri

Metalik çinko, bulunduğu ortamın fizikokimyasal koşullarına bağlı olarak ZnO, ZnCl₂, ZnS ve Zn(CH₃)₂ gibi farklı bileşikler oluşturabilmektedir (Housecroft ve Sharpe, 2002).

Hava ile Reaksiyonu

Çinko metalinin yüzeyi havada ince bir tabaka oksit veya karbonat tabakası ile kaplandığından alt tabakalar korozyona karşı korunmaktadır. Bu tabaka nedeni ile yüzey matlaşır. Metal ancak kaynama noktasına kadar ısıtılınca havadaki oksijen ile yanmasıyla çinko oksit oluşturur (Denklem 3.15).



Su ile Reaksiyonu

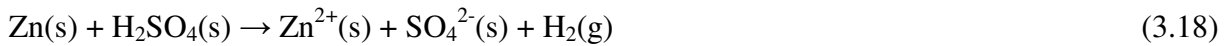
Çinko metalinin yüzeyi hidroksit tabakası ile kaplandığı için su içerisinde çözünmemektedir.

Halogenler ile Reaksiyonu



Asit ile Reaksiyonu

Çinko metali seyreltik sülfürik asit içerisinde çözünerek çözeltide Zn(II) iyonu ve hidrojen gazı üretir. Çözeltide çinko iyonu $[\text{Zn}(\text{OH}_2)_6]^{2+}$ kompleksi halinde bulunur (Denklem 3.18).



Baz ile Reaksiyonu

Çinko metali sulu alkali çözeltiler (KOH) içerisinde çözünerek $[\text{Zn}(\text{OH})_4]^{2-}$ kompleksi oluşturmaktadır [4].

3.3.2 Kullanım Alanları

Çinko, dünyada yıllık kullanım miktarı açısından demir, alüminyum ve bakırdan sonra gelmektedir. Çinko:

- Korozyondan korunma amacıyla, çelik gibi diğer metallerin galvanize edilmesinde,
- Pirinç, nikelli gümüş, değişik lehimler, alman gümüşü gibi alaşımların yapımında,

- Genellikle otomotiv endüstrisinde döküm kalıplarında,
- Pillerin gövdelerinin yapımında kullanılır,
- Çinko oksit; boya sanayinde (pigment), kauçuk sanayinde, cam, emaye, seramik, plastik ve kâğıt sanayilerinde kullanılır. Reçetesiz satılabilen bazı merhemlerin bileşiminde bulunur ve ince bir tabaka halinde uygulandığında cildin su kaybetmesini önler.
- Çinko klorür, deodorantlarda ve ahşap koruyucu olarak kullanılır.
- Çinko sülfür, karanlıkta parlayan pigment olarak saatlerin akrep ve yelkovanlarında kullanılır.
- Çinko metil ($Zn(CH_3)_2$), pek çok organik maddenin sentezinde kullanılır.
- Çinko, pek çok günlük vitamin ve mineral ilaçlarının karışımında kullanılır [9].

3.3.3 Canlılar İçin Önemi

Çinko insan sağlığı açısından gerekli bir iz elementtir. Kırmızı kan hücrelerinde yoğun halde bulunur ve karbondioksit metabolizmasına ilişkin birçok tepkimenin oluşmasını sağlayarak karbonik anhidraz enziminin önemli bir bölümünü oluşturur.

Çinko çeşitli enzimlerin ve proteinlerin oluşumunda önemli bir yere sahiptir. Çinko eksikliğinde hücre büyümesi gerilemekte ve hücre ağırlığı düşmektedir (Omar, 2002).

Uygun konsantrasyonların üstündeki değerlerde, çinkoya maruz kalma sonucu tat ve koku alma duyularında azalma, iştahsızlık, ciltte yaralara neden olabilmektedir. Yüksek konsantrasyonlarla karşılaşıldığında pankreasa zarar vermektedir, damar sertliğine ve solunum rahatsızlıklarına neden olmaktadır [5].

3.4 Atıksulardan Metal Giderme Yöntemleri

Atık sulardan metal kirleticilerini uzaklaştırmak, günümüzde her ülkenin karşı karşıya olduğu en önemli çevre sorunlarından birisidir. Günümüzde, ağır metal gideriminde kimyasal çöktürme ve filtrasyon, kimyasal oksidasyon ya da indirgenme, elektrokimyasal arıtma, ters osmoz, iyon değiştirme gibi geleneksel arıtma yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak, yüksek maliyet gerektiren bu yöntemler bazen yetersiz kalmakta, çoğu zaman da toksik özellikte atık

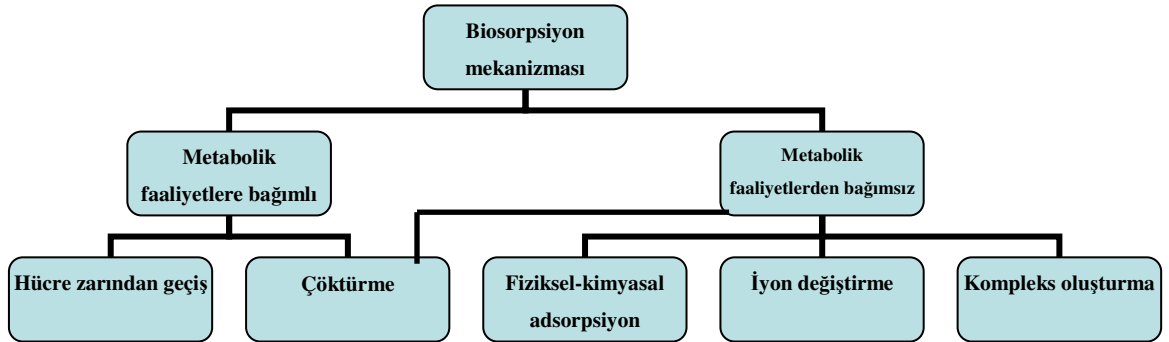
çamur oluşumuna neden olmaktadır (Volesky, 2003). Bu nedenle, günümüzde ciddi sorun oluşturan bu tür atıkların arıtımında; ekonomik yönden ucuz, uygulamalarda kolaylık sağlayacak arıtım süreçlerine yönelik geniş bilimsel araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmalar arasında, canlı ya da ölü mikroorganizma veya bitki esaslı biyokimyasal süreçlerin metal alınımındaki rolü ile ilgili çalışmalar öne çıkmaktadır.

4. AĞIR METAL GİDERİMİNDE BİYOLOJİK SÜREÇLER VE ÖNEMİ

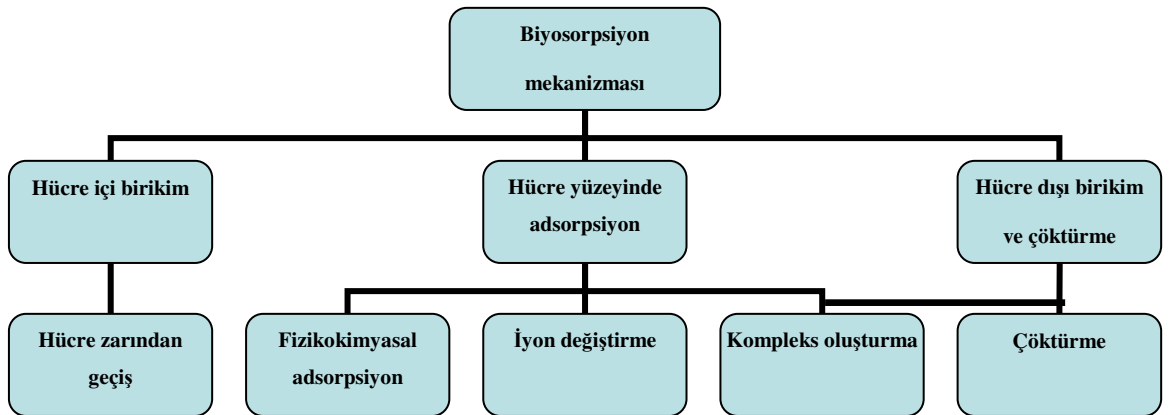
Son yıllarda ağır metal içeren atıksuların arıtımında biyolojik yöntemler; etkili, pratik ve ekonomik olmaları nedeniyle geleneksel fiziksel-kimyasal arıtım yöntemlerine tercih edilmekte ve bilimsel araştırmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır.

Biyolojik proseslerle metal giderimi; ağır metalin mikroorganizmanın yüzeyine tutunması (biyosorpsiyon, adsorpsiyon), metal iyonlarının hücre içine alınması (biyobirikim) ve metallerin mikroorganizma tarafından kimyasal dönüşümü şeklinde tanımlanmaktadır (Rangsayatorm vd., 2002).

Biyosorpsiyonla ağır metal giderim mekanizması bazı araştırmacılara göre metabolik aktiviteden bağımsız olarak gerçekleşmektedir (Rangsayatorm, 2002; Davis vd.. 2003). Bazı araştırmacılara göre ise biyosorpsiyon, metabolik faaliyetleri de kapsayacak biçimde Şekil 4.1'deki mekanizmalarla ifade edilmektedir.



a) Biyosorpsiyonun metabolik faaliyetlere göre sınıflandırılması



b) Biyosorpsiyonda giderilen metalin bulunduğu yere göre sınıflandırma

Şekil 4.1 Biyosorpsiyon mekanizmaları (Veglio and Beolchini, 1997; Malik ,2004)

Biyosorpsiyon mekanizmaları incelendiğinde (Şekil 4.1. a ve b), hem hücre dışı hem de hücre içi mekanizmaların biyosorpsiyonda önemli rol aldığı görülmektedir.

Mikroorganizmaların ağır metal alma kinetiği birçok araştırmacı tarafından incelenmiş olup genelde iki aşamada gerçekleştiği sonucuna varılmıştır.

İlk aşama pasif alım (fiziksel adsorpsiyon ya da hücre yüzeyinde iyon değiştirme) olarak tanımlanmaktadır. Hızlı bir reaksiyondur ve mikroorganizma ile metal iyonlarının temasından çok kısa bir süre sonra gerçekleşmektedir. Hücre yüzeyine metallerin bağlanması fiziko-kimyasal bir reaksiyon olup, hücre yüzeyinin yapısı ile yakından ilişkilidir. Her bir mikroorganizmanın biyosorpsiyondaki etkinliği mikroorganizma türüne ve hücre duvarının kompozisyonuna bağlı olarak büyük farklılıklar göstermektedir. Birçok mikroorganizmanın hücre yüzeyi polisakkarit, protein ve lipid içermektedir. Ayrıca, hücre yüzeyindeki amino, karboksil, hidroksil, sülfidril, sülfat, fosfat ve tiol grupları da metal bağlama özellikleri nedeniyle biyosorpsiyonu desteklemektedir. (Rangsayatorm, 2002; Mohamed, 2001).

İkinci aşama ise; aktif alım, yavaş ve metabolik aktiviteye bağlı olarak gerçekleşmektedir. Bu aşamada, metal iyonları hücre zarından stoplazmaya taşınır (Dursun vd., 2003). Metallerin stoplazmaya taşınımı sürecinde, birçok mikroorganizmanın metal bağlayıcı proteinler sentezledikleri rapor edilmektedir. Metal bağlayıcı özelliğe sahip düşük moleküler ağırlıklı bu proteinlere metalotiyoninler (MT) adı verilmekte ve ağır metallerin detoksifikasyonunda yer aldıkları düşünülmektedir (Andrade vd., 2004). Yapılan çalışmalar, metal derişimlerinin artışına paralel olarak metal- bağlayıcı proteinlerin arttığını göstermektedir (Sağlam, 1995).

Ybarra ve Webb (1998)'e göre; organizmaların metallere karşı dirençlilik kazanmasında rol oynayan çok çeşitli mekanizmalar bulunmaktadır. Bu mekanizmalar kapsamında etkisi azaltılan elementler; hem organizmaya tamamen toksik ve hiçbir biyolojik fonksiyonu olmayan cıva ve kadmiyum gibi metaller, hem de yüksek konsantrasyonlarda zehirli olabilen çinko, bakır ve demir gibi iz elementlerdir. Organizma tarafından oluşturulan, organik, hücre dışı kompleks yapılar; metallerle şelat oluşturabilen ve organizmayı metallere karşı koruyan mekanizmalardan birisidir. Genellikle oluşan bu kompleks, yapısal özelliklerinden ve karmaşıklığından dolayı hücre içine kolayca taşınmamaktadır. Bir başka mekanizmaya göre ise, hücre enerji bazlı salgı pompaları (efflux pumps) ile metal iyonlarının dışarı atılmasını sağlamaktadır. Hücre içi metal alımında önemli bir basamak olan diğer bir mekanizmada ise, II. sınıf metalotiyoninler görev almaktadır. II. sınıf metalotiyoninler, hücredeki potansiyel olarak toksik serbest metali kendine bağlama özelliği olan proteinlerdir.

4.1 Ağır Metal Giderimindeki Biyokimyasal Süreçlerde Kullanılan

Mikroorganizmalar ve Özellikleri

Ağır metal giderimindeki biyokimyasal süreçlerde kullanılan biyolojik materyaller geniş bir spektruma sahiptir. Özellikle mikroorganizma grubu içerisinde algler de dâhil olmak üzere çeşitli bakteri, maya ve mantar türlerini saymak mümkündür (Volesky ve Holan, 1995).

Mikroorganizma-metal ilişkisi organizmanın prokaryot ya da ökaryot olması ile yakından ilişkilidir. Her iki organizma türü de metali hücre yüzeyinde tutabilme ya da hücre içindeki çeşitli fonksiyonlarda kullanmak üzere bünyesine alma özelliğine sahiptir. Bununla birlikte, prokaryotik mikroorganizmalar Fe (II), Cu (I), Mn (II), Co (II), AsO_2^- , Se^0 gibi elementleri okside edebilir (yükseltgenmesi) ya da Fe (III), Mn (IV), Co (III), AsO_2^{2-} , SeO_4^{2-} elementleri indirgeyebilir ve bu reaksiyonları metabolik faaliyetlerinde enerji kaynağı olarak kullanabilirler (Ehrlich, 1997). Cıvaya dirençli bakteriler tarafından üretilen merkürük reduktaz enziminin kullanılarak Hg^{2+} 'ı uçucu Hg^0 'a dönüştürülmesi enzimatik indirgenmeye örnek olarak verilebilir (Robinson ve Tuovinen, 1984).

Mikroorganizmalar metal iyonlarını, çeşitli yollarla detoksifiye (zehir etkisinin giderilmesi) edebilirler. Bu yollar aşağıda özetlenmiştir.

- Enzimatik indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarıyla, metali daha az toksik olan ya da toksik etkisi tamamen giderilmiş başka yapılara dönüştürürler. *P.fluorescens* LB300 kullanılarak CrO_4^{2-} 'nin $\text{Cr}(\text{OH})_3$ 'e indirgenmesi örnek olarak verilebilir (Wang ve Shen, 1995).
- Mikroorganizmalar, zehirli metallerin etkilerini enzimatik olarak gideremedikleri durumlarda, bu metallere karşı genetik olarak belirlenmiş başka savunma sistemleri geliştirirler. Bu savunma sistemleri genellikle, metallerin hücre içine taşınım sistemlerinin değiştirilmesi ya da yok edilmesi şeklinde görülmektedir. Ayrıca hücre, metalin hücreden atılmasını sağlayacak salgılama sistemleri (moleküler pompalar) de geliştirebilmektedir (Ehrlich, 1997).

Cyanobacteriler ve algler, ağır metali hücre içinde tutabilen (internally sequester) ve hücre içindeki yüksek metal konsantrasyonunu detoksifiye edebilme özelliğine sahip metal bağlayan proteinler üretirler (Humble vd., 1997). Algin biyosorpsiyon kapasitesi hücre duvarının yapısına bağlıdır. Alginateler (kahverengi algler tarafından üretilen polimer yapı) ve fucoidan gibi sülfatlı polisakkaritler kahverengi algin (Phaeophyta) hücre duvarının önemli

bileşenlerindendir. Alginateler, kahverengi algin hem hücre duvarında hem de hücre içinde bulunmaktadır. Alginatelerin divalent katyonlara yüksek afinitesi olduğu rapor edilmiştir (Sheng vd., 2004). Gupta vd. (2000) ise yaptıkları çalışmada, mikroorganizmalar arasında fungus hücre duvarının, özelliği nedeniyle, mükemmel metal biyosorpsiyon özelliği gösterdiğini vurgulamışlardır. Mikroorganizmalar tarafından üretilen hücre dışı polimerlerin karboksil ve hidroksil grupları, çok yüksek ağır metal sorpsiyon kapasitesine sahiptir. Hücre dışı polimerlerin ağır metal bağlama afinitesi ise mikroorganizma türüne ve ağır metalin cinsine göre değişmektedir. (Schorer and Eisele, 1997).

Mikroorganizmalar arasında, hücre duvarının özelliği nedeniyle, fungal biyokütle, mükemmel metal biyosorpsiyon özelliği göstermektedir. Çoğu fungi ve maya, metal biyosorpsiyon özelliğine sahiptir. Örneğin *Aspergillus* ve *Saccharomyces*. Bakteriler arasında *Bacillus* sp. yüksek miktarda metal tutma potansiyeline sahip olarak tanımlanmaktadır ve ticari biyosorbent olarak kullanılmaktadır. Bunlara ilave olarak *Pseudomonas* sp., *Zoogloea ramigera* ve *Streptomyces* sp. kullanılarak metal biyosorpsiyonu da rapor edilmiştir. Fototroflar arasında ise deniz algi ilgi odağı olmaktadır. Bu gruptan *Sargassum natans* ve *Ascophyllum nodosum* çeşitli metalleri biyosorpsiyon kapasitesine sahiptir (Gupta vd., 2000). Özdemir vd. (2003), *Ochrobactrum anthropi* aktif çamurdan izole edilmiş, ölü polisakkarid üreten bir bakteri ile Cr, Cd ve Cu biyosorpsiyonu araştırmışlardır. Iyer ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışmada deniz bakterisi türü olan *Enterobacter cloaceae* kullanılmıştır. Bu çalışmada, bakteri tarafından üretilen hücre dışı polisakkarit ağır metal ile şelat oluşturduğu gözlemlenmiştir.

Mikroorganizmanın biyokimyasal özelliklerinin yanında, diğer kirleticilerin varlığı, ortamın sıcaklık, tuzluluk, aerobik veya anaerobik olması da metal alımını etkileyebilmektedir (Goldberg, 2005). Ayrıca, mikroorganizmanın sınıfı ve türü de metal alımını etkilemektedir (Çizelge 4.1)

Çizelge 4.1 Bazı Mikrobiyal ve Algal Biyokütle'nin Biyosorpsiyon Kapasitesi (Volesky, 2003)

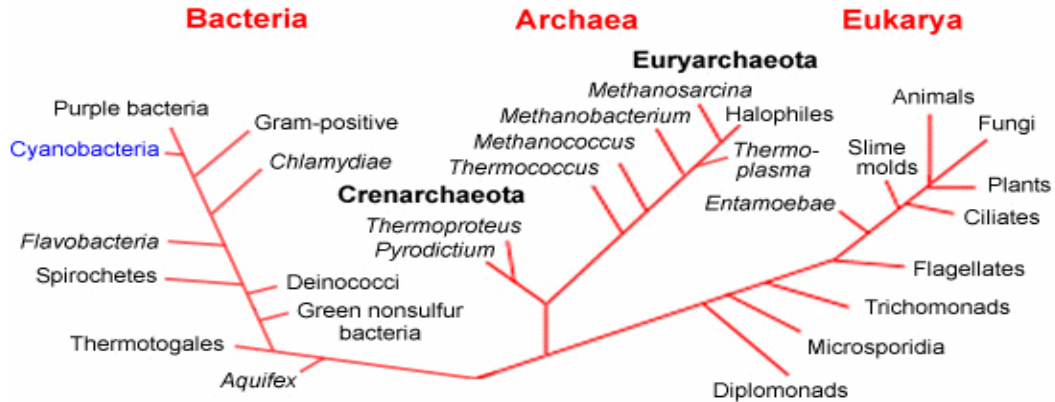
Metal Adı	Biyokütle Tipi	Biyokütle Sınıfı	Metal Alma Kapasitesi (mg/g)
Cu	<i>Bacillus subtilis</i>	Bakteri	152
	<i>Sargassum species</i>	Kahverengi alg	140
	<i>Candida tropicalis</i>	Maya	80
	<i>Bacillus licheniformis</i>	Bakteri	32
	<i>Cladosporium resinae</i>	Mantar	18
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Mantar	16
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Maya	6,3–40
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	Alg	10
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Mantar	9
	<i>Streptomyces noursei</i>	Bakteri	5
	<i>Bacillus</i> sp.	Bakteri	5
	<i>Aspergillus niger</i>	Mantar	1,7
Fe	<i>Bacillus subtilis</i>	Bakteri	201
	<i>Sargassum fluitans</i>	Kahverengi alg	60
	<i>Bacillus licheniformis</i>	Bakteri	45
Zn	<i>Sargassum species</i>	Kahverengi alg	70
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Maya	14-40
	<i>Candida tropicalis</i>	Maya	30
	<i>Rhizopus arrhizus</i>	Mantar	20
	<i>Penicillium chrysogenum</i>	Mantar	6,5
	<i>Penicillium spinulosum</i>	Mantar	0,2

5. SİYANOBAKTERİLER

Bu çalışmada, Küçükçekmece Gölü'nden izole edilen siyanobakteriler kullanılmıştır. Bu bölümde, siyanobakterilerin genel özellikleri, sınıflandırılması, metabolizması ve üreme özellikleri anlatılacaktır.

5.1 Siyanobakterilerin Genel Özellikleri

Koyu yeşilimsi mavi pigmentlerinden dolayı mavi-yeşil algler olarak da bilinen siyanobakteriler, yaşamları için oksijen, ışık ve inorganik maddelere ihtiyaç duyan fototrof mikroorganizmalardır. Siyanobakteriler prokaryotlar sınıfına dâhil olup fotosentez yapabilme özelliğine sahiptirler. Siyanobakteriler *klorofil-a* ve diğer pigmentleri içermelerinden dolayı oksijen oluşturmaları, fotosentez yapmaları nedeni ile alglere ve yüksek bitkilere çok benzerler. Ancak hücre bölünme mekanizması nedeniyle de günümüzde bakteri sınıfına alınmıştır (Şekil 5.1).



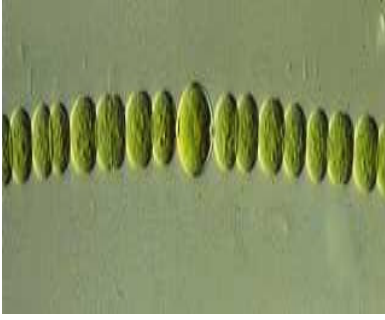
Şekil 5.1 Evrimsel soy ağacı [10]

Siyanobakteri hücrelerinde çekirdeğe eşdeğer DNA iplikçikleri ya hücrenin orta bölgesinde yoğun olarak ya da hücrenin her tarafına yayılmış olarak yer alır. Siyanobakteriler çekirdek, golgi aygıtı, mitokondri, endoplazmik retikulum ve plastidlerden yoksundurlar. Hücre dışı iyi bir hücre duvarı ve hücre çeperine bitişik bir koloidal musilaj kın ile kaplıdır. Hücre duvarları amino asit ve peptidoglikandan oluşmaktadır [10].

Siyanobakteriler sahip oldukları (klorofil-a, beta-karotin, anteraksantin, afonisin, afanizofil, flavosin, lutein, mikzoksantin, mikzosantofil, ossilloksantin, zeaksantin, allofikosianin, fikosiyanin, fikoeritrin) pigmentlere göre karakterize edilirler. Çoğunluğu fikosiyaninden dolayı mavi-yeşil görünmesine rağmen bir kısmı da fikoeritrinden dolayı kırmızı ve kahverengi görünmektedir. Bazen yalancı vakuollerin ışığı kırma özelliğinden dolayı

mikroskop altında mor, kahverengi hatta siyah görünmektedirler. Vakuolü bulunan türler, vakuol sayesinde suda askıda kalabilme özelliği kazanırlar ve genellikle ışık gereksiniminden dolayı göl yüzeyinde kalın tabaka oluşturmaktadırlar (Hoek vd.,1997).

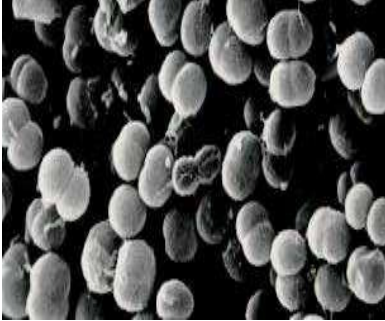
Siyanobakteriler; tatlı, tuzlu ve alkali sularda, sıcak su kaynakları gibi son derece geniş yaşam alanlarına sahiptirler (Fogg, 1956). Tek hücreli ve koloni halinde bulunabilirler, hücre büyüklükleri 0,5- 60 μm aralığında değişebilir. *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Nodularia*, ve *Nostoc* cinsleri atmosferik azotu fikse edebilirler. Siyanobakteri hücrelerinin morfolojik özellikleri, türler arasında farklılık göstermektedir (Şekil 4.3).



a) *Anabaena* sp.



b) *Chroococcus* sp.



c) *Microcystis* sp.



d) *Synechocystis* sp.

Şekil 5.2 Bazı siyanobakteri türlerinin mikroskop görüntüleri[12]

5.2 Siyanobakterilerin Sınıflandırılması

Ripka ve arkadaşları (1979) tarafından yapılan çalışmada, siyanobakteriler 5 farklı sınıfa ayrılmıştır (Çizelge 5.1). Bu sınıflandırma yapılırken, siyanobakterilerin morfolojik yapısı ve üreme özellikleri esas alınmıştır.

Çizelge 5.1 Siyanobakterilerin sınıflandırılması [13]

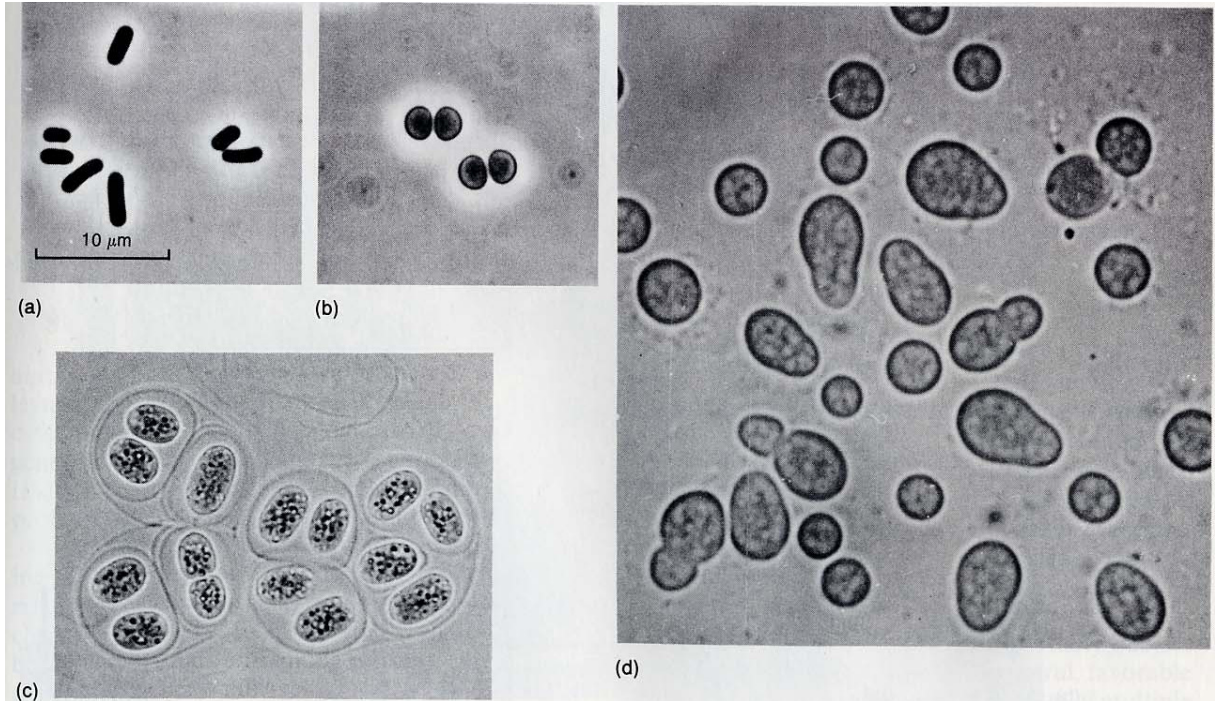
Morfoloji	Üreme Özelliği	Bölünme Düzlemi	Takımı	Seçilmiş Bazı Cinsler
Tek hücreli ya da koloni	İkiye bölünme	Tek	Chroococcales	<i>Gloeobacter</i> <i>Chroococcus</i> <i>Microcystis</i> <i>Synechocystis</i> <i>Merismopedia</i>
Tek hücreli ya da koloni	Çoğul Bölünme (Endosporla üreme)	İki veya daha fazla	Pleurocapsales	<i>Chamaesiphon</i> <i>Pleurocapsa</i> <i>Dermocarpella</i> <i>Xenococcus</i> <i>Pleurocapsa</i>
İpliksi	Trikom (iplikçik) Fragmentation Hormogonyum	Tek	Oscillatoriales	<i>Oscillatoria</i> <i>Microcoleus</i> <i>Phormidium</i> <i>Schizothrix</i> <i>Spirulina</i>
İpliksi (Heterosistli)	Trikom (iplikçik) Basit fragmentasyon Hormogonyum Akinet	Tek	Nostocales	<i>Anabaena</i> <i>Nostoc</i> <i>Cylindrospermum</i> <i>Calothrix</i> <i>Scytonema</i>
Dallanmış ipliksi (Heterosistli)	Trikom (iplikçik) Dallanmış fragmentasyon Hormogonyum Akinet	İki veya daha fazla	Stigonematales	<i>Westiellopsis</i> <i>Fisherella</i> <i>Stigonema</i>

5.3 Siyanobakterilerin Metabolizması ve Üreme Özellikleri

Siyanobakteriler, klorofil pigmentine sahip oldukları için fotosentez yapabilme özellikleri vardır. Enerji kaynağı olarak, genelde ışığı, elektron kaynağı olarak H₂O ve karbon kaynağı olarak CO₂'i kullanırlar. Ayrıca, atmosferik azotu organik azota (nitrit, nitrat ya da amonyak) çevirebilirler. Böylece bitkiler için gerekli olan azot formunun oluşmasına katkıda bulunurlar. Ayrıca likenlerin ve birçok bitki türünün üstünde yaşayarak simbiyotik bir yaşam sürdürebilirler [10].

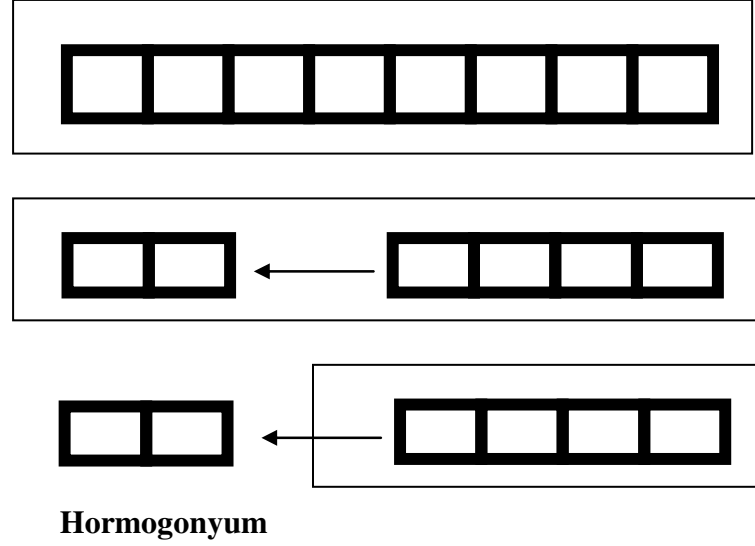
Siyanobakteriler, eşeysiz üreme ile çoğalırlar. Üreme organları ve hareketli üreme hücreleri yoktur. Genellikle bölünerek ürerler. Bazı türlerde ikiye bölünme (*Synechocystis*, *Microcystis*), bazılarında ise çoklu hücre bölünmeleri (*Dermocarpa*) ile üreme gerçekleşmektedir.

Bazı siyanobakteri gruplarında, ana hücrenin büyümesini takiben hücre içinde çok sayıda küresel hücre (endospor) oluşumu ile üreme meydana gelmektedir. Endosporlar ana hücreyi terk ettikten sonra yeni hücre duvarı oluşturarak bağımsız bireyler haline gelirler (Şekil 5.3).



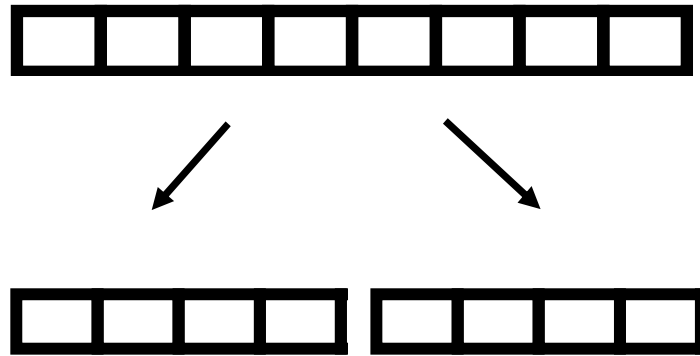
Şekil 5.3 Siyanobakteri türlerinin çoğalması, (a) *Synechococcus* (faz kontrast); (b) *Synechocystis* (faz kontrast); (c) *Gloeotheca* (aydınlık saha); (d) *Chamaesiphon* (aydınlık saha) [14]

Bazı türlerde ise ekzospor oluşumuna rastlanmaktadır. İpliksi grupların bazılarında, ipliği meydana getiren hücrelerden birkaçının ölmesi sonucunda, bakteriden birkaç hücreli parça ayrılmaktadır. Bu parçalar eşeysiz olarak üreyebilir. Bu ayrılan parçalara “hormogonyum” denir (Şekil 5.4).



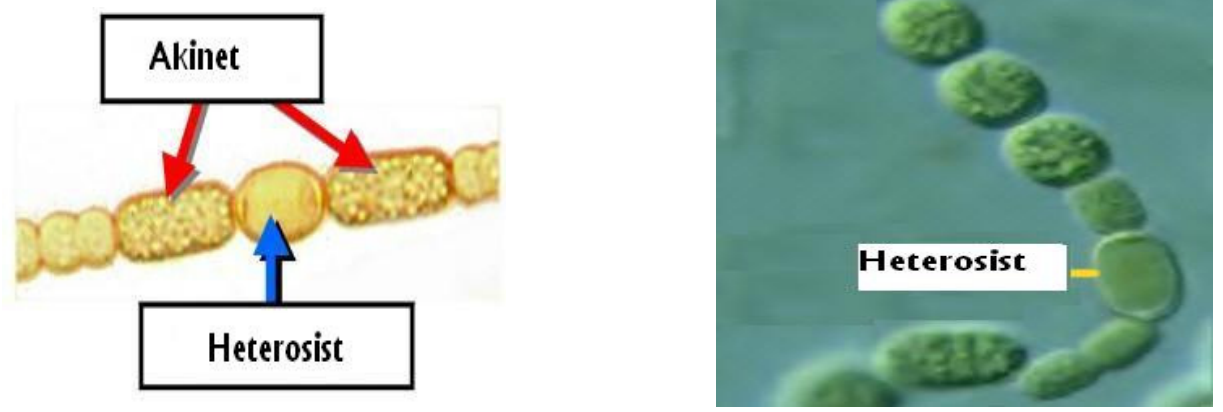
Şekil 5.4 Siyanobakteri türlerinde hormogonyum oluşumu[15]

Anabaena ve *Nostoc* gibi siyanobakteri familyalarında “fragmentation” diye adlandırılan bölünme şekillerine rastlamak mümkündür (Şekil 5.5)



Şekil 5.5 Siyanobakteri türlerinde parçalara bölünme (fragmentation) oluşumu[15]

İpliksi formdaki siyanobakteriler, akinet ve heterosist adı verilen bir yapı oluşturarak olumsuz çevre koşullarında devamlılığını sağlayabilmektedir. Heterosistler kalın hücre duvarına sahiptir ve anaerobik koşullarda azot fiksasyonunda rol alırlar. Heterosist, kalınlaşmış hücre duvarıyla ipliksi organizmanın diğer hücrelerinden daha iri görünmektedirler. Ayrıca sarımsak renginden dolayı kolaylıkla ayırt edilebilirler. Akinetler ise normal hücrelerden daha büyüktür ve bol miktarda besin depo ederler. Düşük ve yüksek sıcaklıklara dirençlidirler. Genellikle heterosistlerin yanında meydana gelirler. Şekil 5.6'da heterosist ve akinetin yapısı ile bakterideki konumu görülmektedir.



Şekil 5.6 Siyanobakterilerde akinet ve heterosist örneği [11]

5.4 Bakterilerde Metal İyonlarının Bağlandığı Bölgeler

Siyanobakterilerin de dahil olduğu “bakteri” aleminde yapılan araştırmalar, metallerin bağlandığı özel bölgeler olduğunu göstermiştir. Bu bölümde, bakterilerde metallerin bağlandığı özel bölgeler olan, hücre dışı polisakkaritler, hücre duvarı, polifosfat yapılar ve metallotiyonin proteinleri anlatılacaktır.

5.4.1 Hücre Dışı Polisakkaritler

Bakteri ve siyanobakterilerde, metal bağlayabilme yeteneğine sahip hücre dışı polisakkaritler (HDP) bulunmaktadır. Bu polimer yapılar tamamen negatif yüklüdür. HDP'in yapısında bulunan şeker (polisakkarit), bakteri hücresinin etrafını jelâtinimsi bir madde ile kaplar. Bu maddenin hücreyi, kuruma gibi çevresel faktörlerden, diğer organizmalardan ve toksik metallerden koruduğu düşünülmektedir (Philippis vd., 2001).

5.4.2 Hücre Duvarı

Bakteriyel hücre duvarı karboksil, hidroksil, fosforil, amin ve sülfidril gibi negatif yüklü gruplar içermektedir. Metal iyonlarının adsorpsiyonu; hücre duvarının yapısındaki organik fonksiyonel gruplar ile metal iyonları arasında metabolik olmayan, elektrostatik yüke ve kimyasal çekime bağlı bir süreç sonucunda gerçekleşmektedir. Bakterilerde, “gram pozitif” ve “gram negatif” olmak üzere iki çeşit hücre duvarı bulunmaktadır;

5.4.2.1 Gram Pozitif Bakteri

Gram pozitif hücre duvarı peptidoglikan ve teyikoik asit içeren yoğun bir tabakadan oluşmaktadır. Gram pozitif bakteriler, gram boyama (kristal violet) sonucunda “mor” renkte görünürler. Gram pozitif hücre duvarı kimyasal olarak % 60-90 peptidoglikan içermektedir. Peptidoglikan ozmotik parçalanmayı önler. Teyikoik asit ise hücrenin daha dayanıklı olmasına yardımcı olur.

5.4.2.2 Gram Negatif Bakteri

Gram negatif bakteriler, gram boyama (kristal violet) sonucunda “pembe” renkte görünürler. Gram negatif bakterinin hücre duvarı; peptidoglikan iç zar (gram pozitiflere göre daha ince) ve fosfolipid, lipopolisakkarit ve lipoprotein yapısına sahip bir dış zardan oluşmaktadır [16].

Gram negatif bakterinin iç hücre duvarı 2-3 nm kalınlığında peptidoglikandan oluşmaktadır. Peptidoglikan, hücrenin ozmotik basınçla parçalanmasını önler.

Dış hücre zarı ise 7 nm kalınlığında fosfolipid, lipoprotein, lipopolisakkarit ve proteinden oluşmaktadır. Yarı geçirgen özelliğinden dolayı dış zar, bazı enzimlerin hücrede kalmasını, bazı toksik maddelerin ise hücreye girişini engeller.

Gram negatif bakterilerde, dış zar ile stoplazmik zar arasında “periplazma” adı verilen jelatinimsi bir bölge bulunmaktadır. Bu boşluk peptidoglikan sentezi, nutrient taşınımı gibi proseslerde görev alır (Goldberg, 2005).

5.4.3 Polifosfat Gruplar

Polifosfat gruplar (PFG), bakterilerin yapısında bulunan fosfor bakımından zengin granüllerdir. Polifosfat gruplar fosfor, oksijen, karbon, magnezyum, kalsiyum, potasyum, demir, kükürt ve alüminyum içermektedir. Fosfor deposu olan bu gruplar, bakteri tarafından enerji kaynağı olarak kullanılırlar ve ağır metallerin toksik etkisinin giderilmesinde (detoxifying) görev alırlar (Goldberg, 2005).

Palinska vd. (2004) tarafından yapılan çalışmada, metal konsantrasyonu arttıkça polifosfat grupların sayısında ve boyutlarında artış görülmüştür. Aynı çalışmada; siyanobakteri hücrelerindeki polifosfat grupların, sucul sistemlerde metal taşınımında önemli bir rol oynadıkları vurgulanmıştır.

5.4.4 Metalloitiyonin Proteini

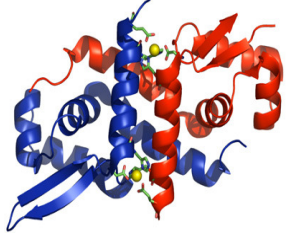
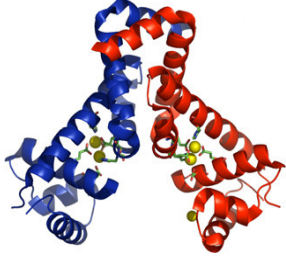
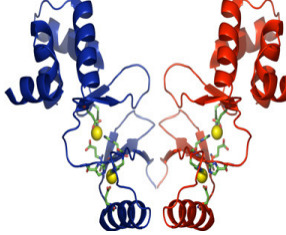
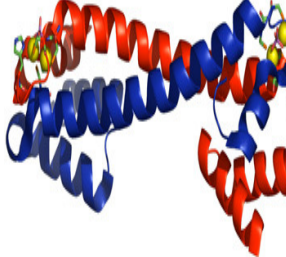
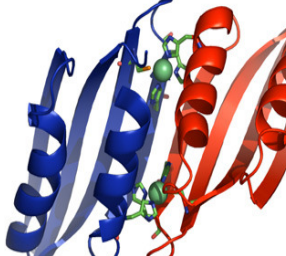
Metalloitiyonin (MT) bitkilerde, hayvanlarda, ökaryotik ve prokaryotik mikroorganizmaların çoğunda bulunan, sistein (sülfür içeren amino asit) bakımından zengin, düşük moleküler ağırlıklı (6-7 kDa) proteinlerdir (Dağhan, 2004). MT grupları, yapısındaki sistein maddesi ile hem fizyolojik (Zn, Cu, Se gibi) hem de zenobiyotik (Cd, Hg, Ag gibi) ağır metalleri tutma kapasitesine sahiptir [17]. Ayrıca hücre içi redoks potansiyeli kontrolünde, hücrenin onarımı ve büyüme proseslerinde de kullanılacak olan apoenzim için çinko kaynağı olarak rol aldığı düşünülmektedir (El-Enany ve Issa, 2000).

5.5 Siyanobakterilerde Bakır, Çinko ve Demir Metabolizması

Kritik konsantrasyonlarda hücre için önemli olan bakır, çinko ve demir gibi elementler; yüksek konsantrasyonlarda solunum ve fotosentezin inhibisyonu gibi toksik etkilere yol açabilirler. Bakteriler bu metallere karşı duyarlılık, refleks ve taşıma mekanizmalarını içeren hassas homeostatik sistemler geliştirmişlerdir (Dominguez vd., 2000). Bu metal homeostaz sistemlerinde, normal hücre metabolizması için gerekli olan kritik seviyelerin altında veya üstündeki metal iyonu konsantrasyonlarını algılayan, metallerin işlevini düzenleyen (metalloregulatory) proteinler görev almaktadır. Pennella (2005)'e göre, prokaryotik metale duyarlı düzenleyici proteinler beş alt gruba ayrılmıştır (Çizelge 5.2). Bu protein gruplarını birbirinden ayıran en önemli özellik protein yapılarındaki farklılıklardır.

Bu bölümde siyanobakteri hücrelerinde bakır, çinko ve demir metallerinin homeostazı ve özel alım sistemleri anlatılacaktır.

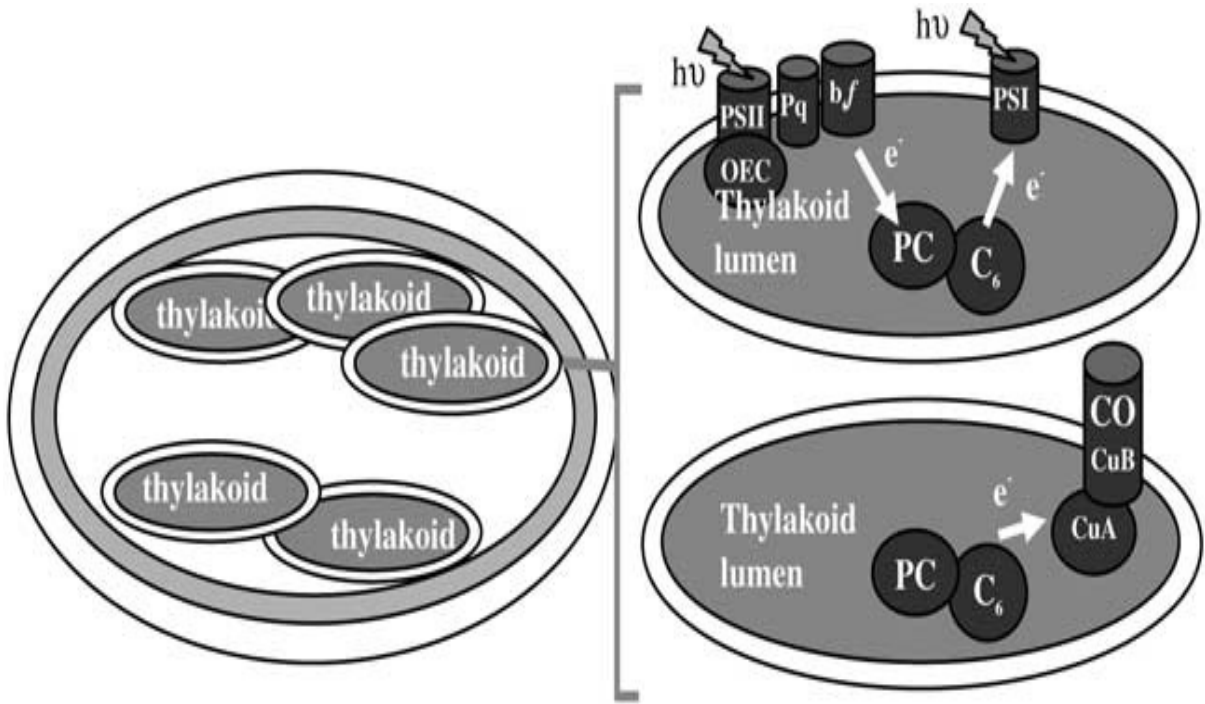
Çizelge 5.2 Prokaryotlarda Metallerin İşlevini Düzenleyici Protein Grupları (Pennella, 2005)

Örnek Protein ve Proteinin Bağladığı Metal Grupları	Proteinin Yapısı ^a
ArsR (As, Ab) CadC (Cd,Pb) CzrA, SmtB (Zn) NmtR (Ni)	
DtxR (Fe) IdeR (Fe) MntR (Mn)	
Fur (Fe) Zur (Zn)	
CueR (Cu) MerR (Hg) PbrR (Pb) ZntR (Zn)	
NikR (Ni)	

^a Her bir protein grubun kristal yapısını göstermektedir. Sarı, kırmızı ve yeşil renkli küreler protein yapıya bağlı metal iyonlarını ifade etmektedir.

5.5.1 Bakır Homeostazı

Bakır fotosentetik elektron transferinde kullanılan önemli kofaktörlerden birisidir. Bazı siyanobakteri türlerinde “tilakoid” adı verilen hücre içi zar sistemi bulunur. Siyanobakteriyel tilakoid zarların biyolojik yapısı tam olarak anlaşılamamıştır (Zak vd., 2001). *Synechocystis* PCC 6803’ün tilakoid zar sistemi, kofaktör olarak bakırı kullanan, “plastosiyanin” ve “sitokrom oksidaz” enzimleri içermektedir. Tilakoid zar sistemleri hücrenin iç çevresini saracak şekilde yerleşmiştir. Her bir tilakoid zar sisteminde fotosistemler (PSI ve PSII) ve proteinler bulunmaktadır (Şekil 5.7). Siyanobakterilerde bulunan tilakoid zar sistemlerinin hem fotosentez sonucu oluşan zararlı yan ürünleri hem de redoks-aktif bakırın hücredeki birikimi sonucu oluşabilecek toksik etkileri etkisiz hale getirdiği düşünülmektedir.



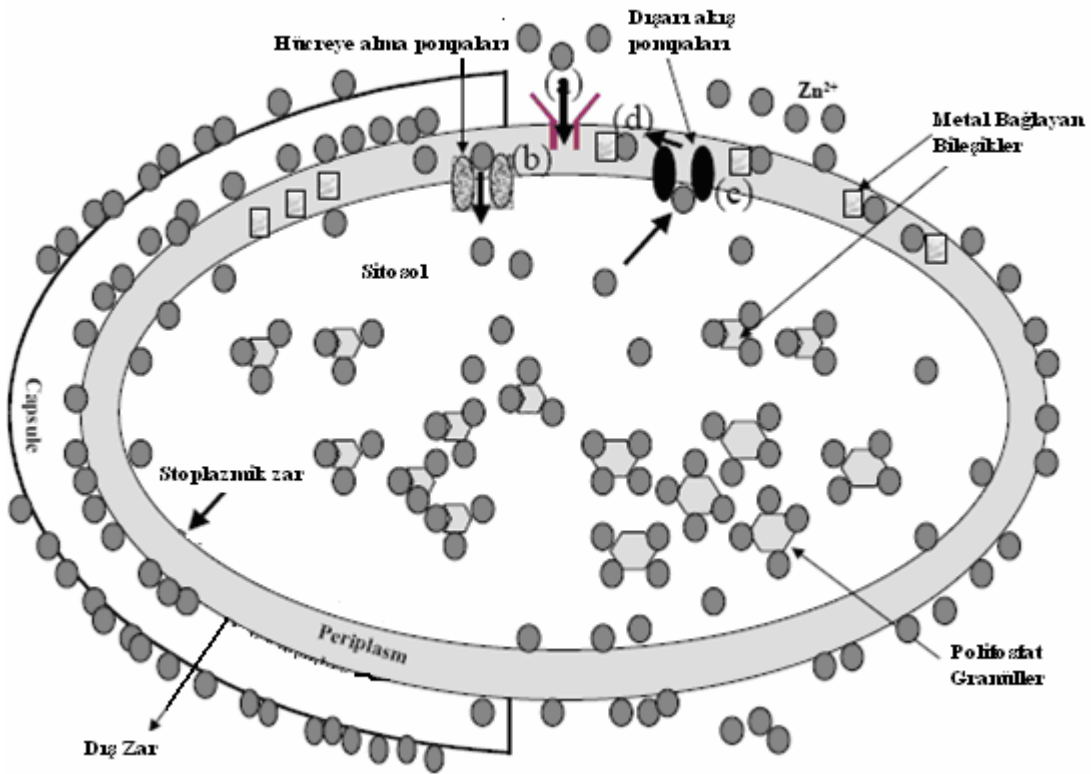
Şekil 5.7 *Synechocystis* PCC 6803’de fotosentez ve solunum elektron taşıma sisteminin gösterimi (Cavet vd., 2003)

5.5.2 Çinko Homeostazi

Çinko, DNA'nın kopyalanması (replication) ve hücre bölünmesi gibi temel hücresel fonksiyonlarda görev almaktadır (Choudhury ve Srivastava, 2001). Ayrıca enzim ve protein yapısında rol alan, yaşam için önemli iz elementlerden birisidir. Yüksek konsantrasyonlarda ise tiyol gruplarıyla reaksiyona girerek, hücredeki hayati reaksiyonları bloke edebilmektedir (Hantke, 2005).

Choudry ve Srivastava (2001), bakterilerin toksik çinko seviyelerine karşı dirençlilik mekanizmasını;

- Hücre dışı birikim,
- Metalloproteinler tarafından tutulma (sequestration),
- Hücre içi fiziksel tutulma (physical sequestration),
- Hücre içinden dışarıya salgılama şeklinde açıklamaktadır (Şekil 5.8).



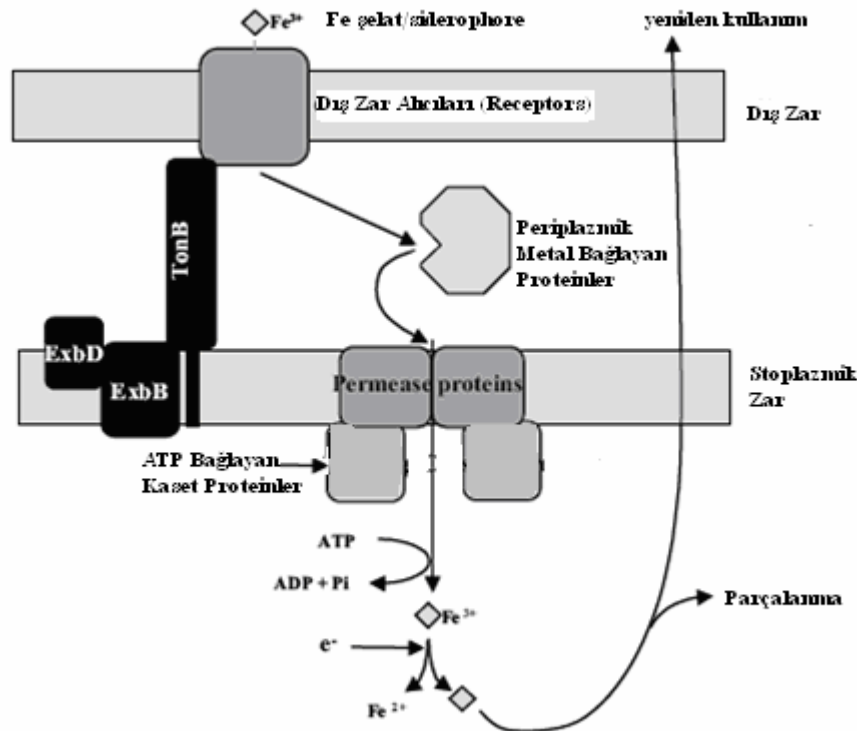
Şekil 5.8 Bakterilerde çinko dirençlilik mekanizması

5.5.3 Demir Homeostazi

Fizyolojik koşullar (pH 7.4) altında demir metali, Fe^{+2} (indirgenmiş) ve Fe^{+3} (yükseltgenmiş) formunda bulunur. Fe^{+2} (pH=7.0'da 0,1 M), Fe^{+3} 'e (pH=7.0'da 10^{-18} M) göre nisbeten daha iyi çözünür. Demir elementi; fotosentez, azot (N_2) fiksasyonu, metan oluşumu, H_2 üretimi ve tüketimi, solunum, trikloroasetik asit (TCA) çevrimi, O_2 taşınımı, gen düzenlenmesi ve DNA biyosentezi gibi birçok biyolojik proseste görev alır.

Bakterilerde demir metabolizması, özel DNA dizilimine sahip düzenleyici proteinler tarafından kontrol edilmektedir. Fur^a (demir alınımlarını düzenleyen) proteini, demir metabolizmasında rol alan, DNA'ya bağlanan proteindir (Hernandez vd., 2002; Luna vd., 2006).

Gram negatif bakteriler, demir-şelat (ferri-siderophore) komplekslerini dış zar alıcıları vasıtasıyla periplazmik bölge içine alırlar. Demiri alan periplazmik metal bağlayan proteinler dış zardan stoplazmik zara, buradan da ATP bağlayan kaset proteinlerle stoplazmaya taşınımı gerçekleştirilir (Şekil 5.9).



Şekil 5.9 Bakterilerde şelat oluşturma yoluyla demir alınımlarını (Andrews vd., 2003)

a Fur (Ferric uptake regulator)

6. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada kullanılan siyanobakteriler, kirletici yüklerini göle taşıyan Sazlıdere'nin göle etkisinin incelendiği D1 istasyonundan alınan su örneklerinden izole edilmiştir (Şekil 6.1 ve 6.2).



Şekil 6.1 D1 noktasının harita üzerinde gösterimi (Üstün vd., 2005)



Şekil 6.2 D1 noktası (Taner, 2007)

Araştırma kapsamında kullanılan materyallerin elde ediliş ve deneysel çalışma metodları şu aşamalardan oluşmaktadır;

1. Alınan su örneklerinden siyanobakterilerin izolasyonu ve laboratuvar koşullarında çoğaltılması,
2. İzole edilen siyanobakteri izolatları arasından Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerine karşı en dirençli izolatın belirlenmesi,
3. Dirençli izolatın, metalli ortamda 14 günlük klorofil ölçümü yapılarak büyüme eğrilerinin oluşturulması,
4. Dirençli izolatın en uygun üreme pH ve sıcaklığının belirlenmesi,
5. Dirençli izolatın, optimum pH ve sıcaklıktaki; tekli, ikili ve üçlü Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metal kombinasyonlarında ve doğal ortamdan alınmış su numunelerindeki biyosorpsiyon/biyobirikim davranışının belirlenmesi,
6. Biyosorpsiyon izotermelerinin çıkarılması,
7. Biyosorpsiyon/biyobirikim koşullarında kullanılan en dirençli izolatın deneme süreci sonundaki elektron mikroskobu görüntülerinin çekilmesidir.

6.1 Siyanobakterilerin İzolasyonu ve Kültür Şartları

D1 noktasından alınan su örnekleri laboratuara getirilip, Gazi Üniversitesi'nde Biyoloji Bölümü, biyoteknoloji laboratuvarındaki uzmanlar^a tarafından sıvı BG₁₁ (EK 1) besiyerinde (Rippka vd., 1979) 15-30 gün süresince geliştirilmiştir. Siyanobakteri izolatlarının izolasyonu iki şekilde yapılmıştır. Genelde saflaştırma yoğun halde üreyen karışık kültürden, ucu alevde uzatılıp inceltilmiş cam pastör pipeti ile tek hücre halinde alınıp yeni bir besiyerine aktarılacak suretiyle yapılırken; bazı izolatlar BG₁₁ agar plaklarında tek koloni yöntemi ile izole edilmişlerdir.

Saf kültürlerin teşhisi, Gazi Üniversitesi Biyoteknoloji Laboratuvarlarında, morfolojik özelliklerine göre ve 16s rRNA'larından elde edilen dizi analizlerinin Gen Bankası (NCBI) verileri ile mukayese edilmesiyle gerçekleştirilmiştir.

^a Prof.Dr. Belma ASLIM, Arş.Gör. Şahlan ÖZTÜRK ve Arş.Gör. Ebru Şebnem YILMAZ

İzole edilen siyanobakteri izolatlarının kodları ve cins adları Çizelge 6.1’de verilmiştir.

Çizelge 6.1 Çalışılan izolatların cinsleri ve izole edildikleri ortam

Örnek kodu ^a	Cins	Orjini
E ₁	<i>Synechocystis</i> sp.	Küçükçekmece Gölü, İstanbul
E ₄	<i>Synechocystis</i> sp.	Küçükçekmece Gölü, İstanbul
E ₈	<i>Microcystis</i> sp.	Küçükçekmece Gölü, İstanbul
E ₃₅	<i>Synechocystis</i> sp.	Küçükçekmece Gölü, İstanbul
E ₃₇	<i>Synechocystis</i> sp.	Küçükçekmece Gölü, İstanbul

Siyanobakteriler için birçok besi ortamı denenmiş, çalışmalar için üremenin yoğun ve kısa sürede gözlemlendiği BG₁₁ ortamında karar kılınmıştır. Teşhisi yapılan saf kültürler fotosentetik bakterilere özel Minitron marka çalkalamalı etüvde, 100 rpm’de inkübe edilmişlerdir (Şekil 6.2). Kültürler, 25 °C ve 3000 lüks ışık şiddetinde, 12 saat gündüz, 12 saat gece periyodunda üremeye bırakılmıştır.



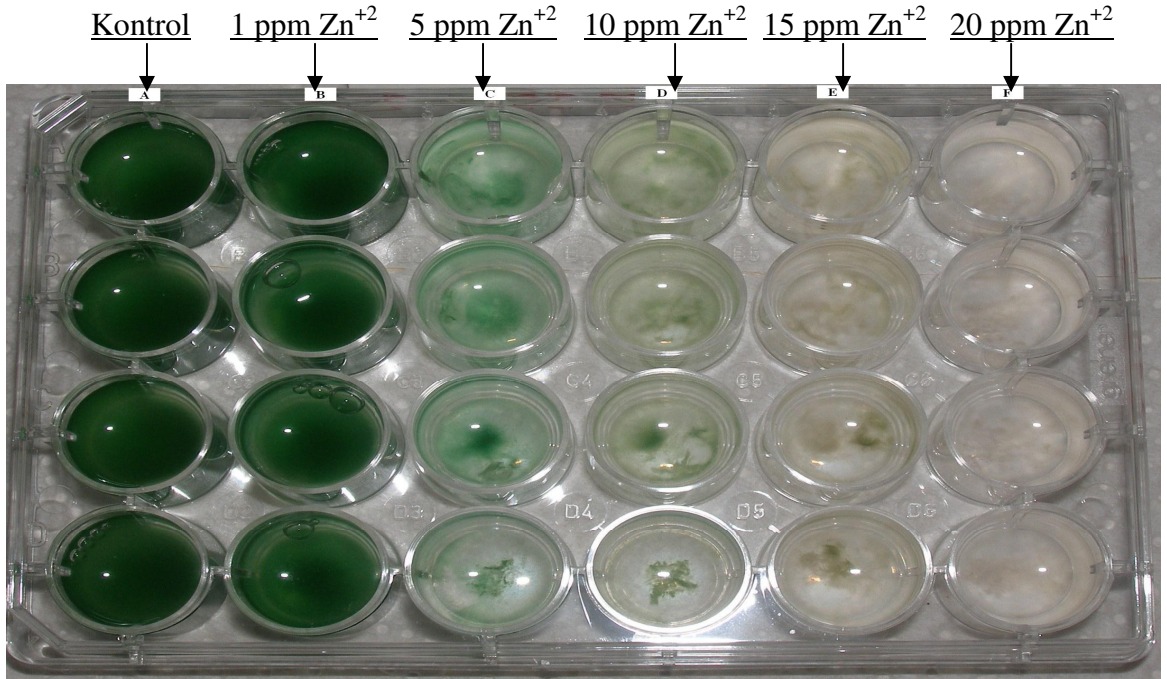
Şekil 6.3 Siyanobakterilere özel çalkalamalı etüv

^a Örnek kodları Gazi Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoteknoloji laboratuvarı kültür koleksiyonuna göre verilmiştir.

6.2 İzole Edilen Siyanobakteri İzolatlarının Ağır Metal Dirençliliğinin Belirlenmesi

Çalışmanın bu aşamasında, izole edilen siyanobakteriler arasından en dirençli izolatu kısa sürede tespit etmek amacıyla optik yoğunluk ile toksisitenin ilişkilendirildiği dirençlilik yöntemi kullanılmıştır.

Bakterilerin metale karşı dirençlilik seviyelerini belirlemek için mikro kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Toplam 24 kuyucuklu (her kuyucuk 2 mL hacimli) mikro plakalar içerisine 1, 5, 10, 15 ve 20 ppm'lik ağır metal çözeltileri konulmuştur (Şekil 6.2). Bu konsantrasyon değerleri belirlenirken, Küçükçekmece Gölü'ndeki metal konsantrasyonları ve literatür çalışmaları göz önünde bulundurulmuştur. Her bir konsantrasyona, üretilen kültürlerden, optik yoğunlukları eşit ayarlanan hücre aşılanmıştır. Her deney için karşılaştırma amaçlı, içinde ağır metal olmayan sadece BG₁₁ ve kültür bulunan kontrol grupları kullanılmıştır. Kültürler bir hafta boyunca 12 saat gece ve 12 saat gündüz periyodunda, 25 °C'de 100 rpm'de çalkalanarak inkübasyona bırakılmıştır.



Şekil 6.4 Mikro kuyucuklu plaka ile dirençlilik çalışması

Bir haftalık inkübasyon süresi sonunda, kontrol kültür ile ağır metale maruz kalmış kültürün optik yoğunluk değeri (664 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülen) arasındaki fark kullanılarak siyanobakterilerin yüzde ölüm değerleri hesaplanmıştır. Daha sonra, yüzde ölüm değerleri kullanılarak probit analiz yöntemi ile EC₁₀ ve EC₅₀ değerleri hesaplanmıştır (Finney, 1963).

6.3 Klorofil-a Miktarlarına Göre Büyüme Eğrisi

Dirençlilik çalışması ile tespit edilen dayanıklı türlerin büyüme eğrisini çıkarmak amacıyla 14 günlük periyotta, metale maruz kalmış kültürlerin klorofil-a ölçümü yapılmıştır. Klorofil-a, mikroalgler ve siyanobakteriler için canlılığın belirlenmesinde sıkça kullanılan önemli kriterlerden biridir. 1 mL kültür % 80'lik aseton (Merck) ile muamele edilip bir gece +4 °C'de bekletilmiştir. 24 saatin sonunda 664 nm ve 750 nm dalga boylarında okuma yapılarak örneklerdeki klorofil-a miktarları belirlenmiştir (Myers vd.,1955) (Denklem 6.1).

$$\text{Klorofil-a (mg/l)} = 11,92 \times (A-B) \quad (6.1)$$

Denklemde, A= 664 nm'deki absorbans değeri

B= 750 nm'deki absorbans değeri

6.4 pH ve Sıcaklık Optimizasyonu

İzole edilen siyanobakteri örneklerinin en iyi üreme sıcaklık ve pH'ını tespit etmek amacıyla optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimum sıcaklığı belirlemek için 24 kuyucuklu (her kuyucuk 2 mL hacimli) mikro plakalar içerisine optik yoğunlukları eşit ayarlanan hücre konulmuştur. Kültürler birer hafta boyunca, dirençlilik çalışmasındaki koşullarda (12 saat gece ve 12 saat gündüz periyodunda, 100 rpm'de) çalkalanarak, 20, 23 ve 25 °C olmak üzere üç farklı sıcaklık derecesinde inkübasyona bırakılmıştır.

pH optimizasyonu için altı farklı pH değeri (5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0) seçilmiştir. HCl ve NaOH kullanılarak pH ayarlaması yapılan kültürler bir hafta boyunca aynı çalışma koşullarında çalkalanarak inkübasyona bırakılmıştır. Bir haftalık inkübasyon süresi sonunda 664 ve 750 nm dalga boylarında spektrofotometrik olarak optik yoğunluk ölçümü yapılmıştır.

6.5 Fe⁺², Zn⁺² ve Cu⁺² Metallerinin Biyosorpsiyonu ve Biyobirikimi

Küçükçekmece Gölü'nden izole edilen 5 farklı siyanobakteri izolatu ile biyosorpsiyon ve biyobirikim çalışmasını yapabilmek amacıyla, öncelikle bu izolatların metal iyonlarına karşı dirençlilikleri belirlenmiştir. Seçilen en dirençli izolatın, uygun üreme periyodu göz önünde bulundurularak, 14 günlük zaman diliminde klorofil değerleri ölçülerek, metal iyonlarının bulunduğu ortamdaki büyüme eğrisi çıkarılmıştır. Daha sonra, dirençli izolatın en uygun üreme koşulları (pH=7 ve T=23°C) belirlenmiştir. Belirlenen pH ve sıcaklıkta en dirençli izolat ile tekli, ikili, üçlü metal birleşimlerinde ve Küçükçekmece Gölü'nden alınmış su numunesi ile biyosorpsiyon ve biyobirikim çalışmaları yürütülmüştür.

Sorpsiyon Çalışmalarının Ön Hazırlıkları

Deneyler sırasında kullanılan tüm plastik ve cam gereçler standart metotlara göre 1 + 1'lik HNO₃ çözeltisi ile yıkandıktan sonra ultra saf su ile temizlenmiştir (Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater, 2005).

Deneysel çalışma sırasında kullanılan cam malzemeler asit çözeltisi ile yıkanıp temizlendikten sonra Pasteur fırınında 160°C'de 2.5 saat veya 180 °C'de 1 saat bekletilerek steril edilmiştir. Kullanılan malzemelerin temizlik ve sterilizasyon işlemlerinden sonra, steril koşullarda hücre ekimleri yapılmıştır.

Çalışmada kullanılan metal çözeltileri FeSO₄.7H₂O, ZnSO₄.7H₂O ve CuSO₄.5H₂O kimyasalları ile hazırlanan 1000 ppm'lik stok çözeltiden seyreltme yapılarak hazırlanmıştır. Seyreltmeler için eser miktarlarda dahi metal içermeyen ultra saf su kullanılmıştır.

Çözeltilerin hazırlanmasında, plastik ve cam malzemelerin yıkanmasında kullanılan ultra saf su TKA marka Gen–Pure adlı cihazdan sağlanmıştır.

6.5.1 Tekli Metal Sistemlerinde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

Fe⁺², Zn⁺² ve Cu⁺² metallerinin sorpsiyonunu incelemek amacıyla en dirençli *Synechocystis* sp. (E35) izolatu kullanılmıştır. Optik yoğunlukları eşit ayarlanmış hücre kültürleri, farklı konsantrasyonlarda Fe⁺², Zn⁺² ve Cu⁺² metallerini içeren taze BG11 besiyeri içerisine aşılanmıştır. Çizelge 6.2'de biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmasında kullanılan metal konsantrasyonları görülmektedir. Bu konsantrasyon değerleri, EC₁₀ ve EC₅₀ değerleri ile Küçükçekmece Gölü'ndeki metal konsantrasyonları göz önünde bulundurularak tespit edilmiştir.

Çizelge 6.2 Tekli metal sistemlerinde kullanılan metal konsantrasyonları

Fe ⁺² (ppm)	Zn ⁺² (ppm)	Cu ⁺² (ppm)
10	7	3
15	10	5

Kesikli reaktörlerde yürütülen metal giderim çalışmaları pH = 7 ve T= 23 °C sıcaklık koşullarında yapılmıştır. Kültürler 144 saat boyunca (12 saat gece ve 12 saat gündüz periyodunda, 100 rpm'de) siyanobakterilere özel çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon devam ederken; çözeltilerden 0, 5, 10, 20, 30, 60. ve 120. dakikada ve 24, 48, 72, 96, 120. ve 144. saatte 1'er ml örnekler alınmıştır. Sorpsiyon denemeleri sırasında “besiyeri (BG11)”, “hücre kültürü+ besi yeri” ve “metal çözeltileri” kontrol olarak kullanılmıştır.

Alınan örneklerde duru fazda (suda kalan), hücre yüzeyindeki, hücre duvarındaki ve hücre içine alınan metal miktarı olmak üzere 4 kısımda ölçüm yapılmıştır.

- Örnekler 7000 g'de santrifüj edilip, duru faz ayrı bir numune şişesine alınmıştır. Ayrılan duru faz, suda kalan metal miktarının bulunduğu kısmı temsil etmektedir ^a.
- Daha sonra peletin üzerine 1 ml 10 mM EDTA çözeltisi konularak vortekslenmiş ve santrifüj edilmiştir (7000 g). Hücre yüzeyine bağlanan metal bu duru fazda belirlenmiştir.
- Hücre içindeki metal birikimini tespit etmek için önce, peletin üzerine 1 N HNO₃ ilave edilmiştir. Santrifüj edilen örnek üzerindeki duru faz alınmıştır (Matsunaga vd.,1999). Daha sonra, peletin üzerine 1ml % 50'lik H₂O₂ çözeltisi konulmuştur. Bu fraksiyonda bulunan metal değerleri “hücre içi” metal fraksiyonunu temsil etmektedir.

Birbirinden ayrılan 3 ayrı kısımdaki metal konsantrasyonları, Marmara Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Kimya ve Çevre Mühendisliği Bölümü laboratuvarlarındaki Agilent 7500 marka ICP-MS cihazı ile okunmuştur.

6.5.2 İkili Metal Sistemlerinde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

İkili metal içeren çözeltilerle yapılan sorpsiyon denemeleri, Fe-Zn, Fe-Cu ve Zn-Cu kombinasyonlarını içeren kesikli reaktörlerde yürütülmüştür (Çizelge 6.3). Bu aşamada da tekli metal sistemlerinde belirtilen yöntemler kullanılarak, aynı zaman aralıklarında 1'er ml'lik numuneler alınmıştır. Alınan numunelerdeki metal konsantrasyonları 3 fraksiyonda ölçüm yapılarak belirlenmiştir.

^a RCF: Rölatif santrifüj gücü (g)

rpm: $1000 (RCF/1.12r)^{1/2}$

r: Santrifüj cihazının rotor çapı

Çizelge 6.3 İkili metal sistemlerinde kullanılan metal konsantrasyonları

$\text{Fe}^{+2} + \text{Zn}^{+2}$ (ppm)	$\text{Fe}^{+2} + \text{Cu}^{+2}$ (ppm)	$\text{Zn}^{+2} + \text{Cu}^{+2}$ (ppm)
5 + 5	2 + 2	1 + 1
7.5 + 7.5	5 + 5	4 + 4

6.5.3 Üçlü Metal Sistemlerinde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

Bu aşamada Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerinin bir arada bulunması durumunda sorpsiyonun mekanizması incelenmiştir. Bu amaçla her bir metalden 4 ppm kullanılarak hazırlanan karışık çözeltiye aşıl原因an siyanobakteri hücreleri ile sorpsiyon denemeleri yapılmıştır (Çizelge 6.4). Bu aşamada da tekli metal sistemlerinde ifade edilen deneysel yöntem izlenmiştir.

Çizelge 6.4 Üçlü metal sistemlerinde kullanılan metal konsantrasyonları

$\text{Fe}^{+2} + \text{Zn}^{+2} + \text{Cu}^{+2}$ (ppm)
4 + 4 + 4

6.5.4 Doğal Ortamdan Alınmış Numunelerde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

En dirençli *Synechocystis* sp. (E35) izolatının doğal ortamdaki davranışını, laboratuvar koşullarında incelemek amacıyla Küçükçekmece Gölü'nden alınmış su örnekleri ile sorpsiyon denemeleri gerçekleştirilmiştir.

Biyosorpsiyon/biyobirikim deneyleri sırasında kullanılan siyanobakteri türünün ortamdaki davranışını belirleyebilmek için ortamda diğer türlerin bulunmaması gerekmektedir. Oysa doğal ortamdan alınan su örneği içerisinde birçok gözle görünmeyen organizma mevcuttur. Bu amaçla Küçükçekmece Gölü'nden alınan su örnekleri otoklavda steril edildikten sonra denemelere başlanmıştır. Steril edilen su numunesi içerisinde aşıl原因an siyanobakteri hücreleri inkübasyona bırakılmıştır. Daha önce belirtilen zaman aralıklarında 1'er ml'lik örnekler alınarak 3 fraksiyona ayrılmıştır. Her bir fraksiyondaki metal konsantrasyonları ICP-MS cihazı ile belirlenmiştir.

6.6 Çalışmanın İstatistiksel Değerlendirmesi

Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması öncesinde ve sonrasında, kütle denkliği kıyaslamasının sonuçları istatistiksel olarak yorumlanmıştır. Deneysel verilerin, anlamlı olup olmadığı Ki-kare (Chi-Square) test yöntemi ile belirlenmiştir.

6.7 Biyosorpsiyon İzotermi

Biyosorpsiyon denemeleri sırasında kullanılan *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, çalışmada kullanılan metallerle ilişkisini matematiksel olarak ifade edebilmek amacıyla Freundlich ve Langmuir izotermi kullanılmıştır.

Biyosorpsiyon izotermi belirleyebilmek için; eşit optik yoğunlukta hazırlanan kültürler, Çizelge 6.5’de belirtilen konsantrasyonlarda metal eklenerek biyosorpsiyon/biyobirikim koşullarında inkübasyona bırakılmıştır. Kullanılan konsantrasyonlar, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının çinko, demir ve bakır metallerine karşı dirençliliğini belirleyen EC₅₀ değerleri ve Küçükçekmece Gölü’nde izlenen metal konsantrasyonları göz önünde bulundurularak belirlenmiştir.

Çizelge 6.5 İzoterm denemelerinde kullanılan metal konsantrasyonları

Fe ⁺² (ppm)	Zn ⁺² (ppm)	Cu ⁺² (ppm)
5	3	1
8	5	2
10	7	3
12	10	4
15	12	5

Biyosorpsiyon izotermi çıkarılması için; sistemin dengeye vardığı andaki metal konsantrasyonu (C_e) ve çalışmada kullanılan kültürün “kuru hücre ağırlığı” tespit edilmiştir.

Kuru Hücre Ağırlığı

Her bir reaktörde kullanılan “kuru hücre ağırlığı”nı belirleyebilmek için 50 ml *Synechocystis* sp. (E35) kültür alınmıştır. Alınan kültür, darası alınmış filtre kağıdından süzülerek, 70°C’de etüvde gece boyunca kurutulmuştur. Daha sonra desikatörde soğutulduktan sonra ilk ve son

tartım arasındaki fark alınmıştır. Kuru hücre ağırlığını belirlemek için yapılan bu çalışma 3 tekrarlı yapılmıştır.

Denge Konsantrasyonu

Biyosorpsiyon denemelerinde yaklaşık 24 saat sonra metal konsantrasyonunun dengeye vardığı görülmüştür. Bu nedenle izoterm hesaplamalarında 24. saatteki metal konsantrasyonu kullanılmıştır.

6.8 Elektron Mikroskobu İçin Hücrelerin Hazırlanması

Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerinin hücrede meydana getirdiği değişiklikleri görüntüleyebilmek amacıyla elektron mikroskobu çalışması yapılmıştır. Mikroskop çekimlerinden önce,

- Kontrol hücreleri (Siyanobakteri hücre kültürü+BG11 besiyeri)
- 5 ppm Cu^{+2}
- 10 ppm Fe^{+2}
- 10 ppm Zn^{+2} metali uygulanan siyanobakteri kültürleri biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması ile aynı koşullarda (pH=7, T= 23 °C, 100 rpm, t=144 sa ve 12 saat gece/12 saat gündüz periyodunda) inkübasyona bırakılmıştır.

144 saatlik inkübasyon süresi sonunda, siyanobakteriler 50 ml'lik tüplere alınarak 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Duru faz atıldıktan sonra pelletin üzerine 1 ml PBS (Phosphate-Buffered Saline) tamponu konulmuş ve hafif vorteks yapılmıştır (EK 3). Daha sonra 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Duru faz atıldıktan sonra üzerine 1 ml % 2.5-3'lük glutaraldehit eklenmiştir.

Yapılan ön işlemlerden sonra, siyanobakteriler Polaron SC 502 Sputter Coater marka kaplayıcı kullanılarak altınla kaplanmıştır. Kaplama işleminden sonra, Jeol JSM 6060 marka taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Bu işlemler, Prof.Dr. Zekiye Suludere tarafından Gazi Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Elektron Mikroskobu laboratuvarlarında yapılmıştır.

Daha sonra, Marmara Üniversitesi'nden yüksek mühendis Mustafa İlhan tarafından, Jeol JSM-5910 marka taramalı elektron mikroskobuna (SEM) bağlı, Oxford marka enerji dağıtımli X-ray analizörü (Energy dispersive X-ray spectroscopy, EDS) ile görüntüsü çekilen alanlardaki element dağılımları belirlenmiştir.

7. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Küçükçekmece Gölü ve Havzası ile ilgili yapılan çalışma sonucunda, Fe^{+2} , Cu^{+2} , Zn^{+2} metallerinin su, sediment ve sediment arası boşluk suyunda en fazla konsantrasyona sahip metaller olduğu görülmüştür (Üstün vd., 2005). Bu nedenle, bu çalışmada, Küçükçekmece Gölü'nden izole edilmiş ve laboratuvar ortamında çoğaltılmış *Synechocystis* sp. (E35) izolatının; tekli, ikili, üçlü metal karışımlarından ve doğal ortamlardan alınmış su numunelerinden Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerini biyosorpsiyon/biyobirikim özelliği incelenmiştir.

Bu amaçla, önce:

- Doğal ortamdan izole edilmiş 5 farklı türün metallere karşı dirençliliği belirlenmiştir.
- Seçilen en dirençli izolatın, metalli ortamdaki büyüme eğilimi, 14 günlük periyotta klorofil ölçümü yapılarak ortaya konulmuştur.

En dirençli izolatın canlılığının devamını sağlamak ve ortamdaki metalin alınımında rol alabilmesi için öncelikle uygun çevresel yaşam koşullarının oluşturulması gerekmektedir. Bu çalışmada, canlının hayatını devam ettirebilmesi için gerekli besin elementleri BG11 (EK 1) besi yeri kullanılarak sağlanmıştır. Dirençli izolatın yaşamı için gerekli olan çevresel koşullardan, uygun sıcaklık ve pH değerleri ise, optimizasyon çalışması yapılarak belirlenmiştir.

Genellikle alıcı ortamlarda birden fazla metal bir arada bulunmaktadır. Bu amaçla çalışmada siyanobakteri izolatının, Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerinin tekli, ikili ve üçlü karışımlarında biyosorpsiyon/biyobirikim kinetiği irdelenmiştir. Böylece metaller arasındaki sinerjistik-antagonistik etki ve bakterinin alım mekanizmalarında meydana gelen değişiklikler ilişkilendirilmiştir. Bu ilişkilendirme için, deneme süresince alınan su numunelerinde, suyun içinde kalan metal miktarı ölçülerek biyosorpsiyon/biyobirikim mekanizması incelenmiştir. Biyosorpsiyon izotermi çıkarılarak, siyanobakteri izolatının biyosorpsiyondaki davranışı matematiksel olarak ifade edilmiştir. Elektron mikroskobu teknolojisi kullanılarak, Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerinin bakteri hücresinde meydana getirdiği değişiklikler görselleştirilmiştir.

7.1 Canlılık Üzerine Ağır Metallerin Toksik Etkisi

1, 5, 10, 15, 20 ppm'lik ağır metal dozlarının canlılık üzerine etkisi: toksisite değerleri, EC₁₀ ve EC₅₀ ile belirlenmiştir. Probit analiz yöntemine göre hesaplanan EC₁₀ ve EC₅₀ değerleri; 6. günün sonunda dirençlilikte kullanılan siyanobakteri izolatlarının % 10'unun ve % 50'sinin ölümüne neden olan konsantrasyondur (Finney, 1963). Dirençlilik çalışması sonucunda, EC₁₀ ve EC₅₀ değerlerine bakıldığında, her üç metal için de en dirençli izolatın E35 kodlu *Synechocystis* sp. olduğu görülmektedir (Çizelge 7.1).

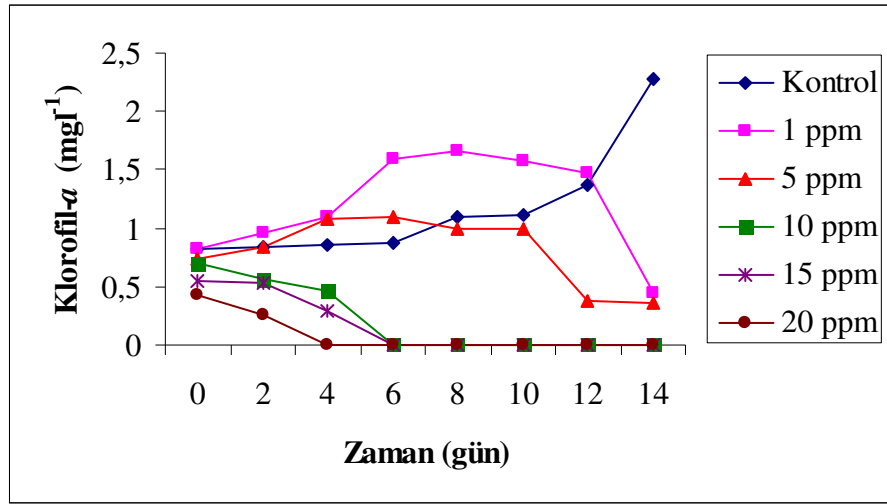
Çizelge 7.1 6 günlük denemede siyanobakteri izolatlarının EC₁₀ ve EC₅₀ değerleri

Siyanobakteri İzolatı	EC ₁₀ değerleri (mg/l)			EC ₅₀ değerleri (mg/l)		
	Fe ⁺²	Zn ⁺²	Cu ⁺²	Fe ⁺²	Zn ⁺²	Cu ⁺²
<i>Synechocystis</i> sp.(E ₁)	3,01	1,46	0,08	5,41	6,38	2,69
<i>Synechocystis</i> sp. (E ₄)	3,61	0,26	0,08	6,01	1,86	2,04
<i>Microcystis</i> sp.(E ₈)	4,82	0,02	0,20	8,93	0,48	2,00
<i>Synechocystis</i> sp.(E₃₅)	11,52	1,84	0,25	13,92	6,94	3,42
<i>Synechocystis</i> sp. (E ₃₇)	6,59	0,13	0,05	10,40	2,31	1,32

7.2 Klorofil-a Miktarlarına Göre Büyüme Eğrisi

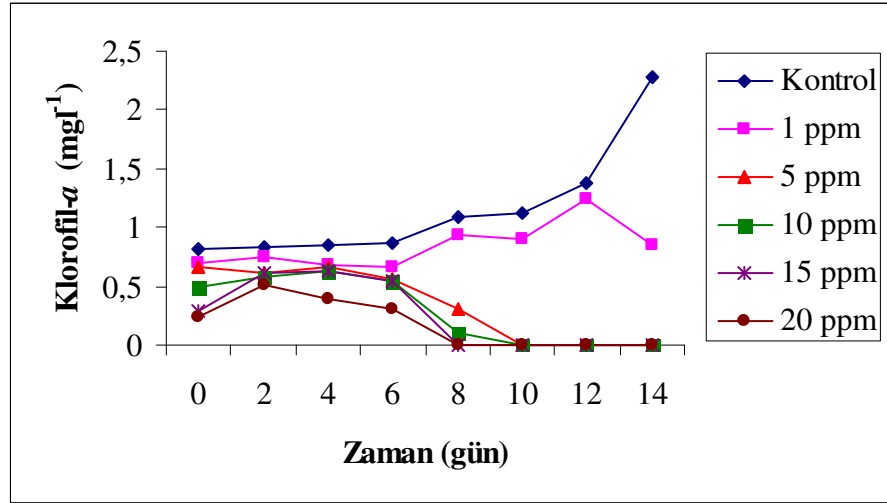
Dirençli izolatın, metalli ortamdaki büyüme eğilimi 14 günlük periyotta klorofil *a* ölçümü yapılarak belirlenmiştir. Bu çalışmada, sadece besiyeri ve kültür içeren kontrol çözeltisi ile metale maruz bırakılmış kültürler kıyaslanmıştır.

Farklı konsantrasyonlarda, ayrı ayrı Fe⁺², Zn⁺² ve Cu⁺² denemelerinin sonuçları incelendiğinde, 10, 15 ve 20 ppm Fe⁺² konsantrasyonunda *Synechocystis* sp. (E35) izolatı 6. güne kadar direnç göstermiştir. Ancak; *Synechocystis* sp. (E35) izolatı, 1 ve 5 ppm Fe⁺² konsantrasyonunda kontrolden daha yüksek klorofil-a değerlerine ulaşmıştır (Şekil 7.1).

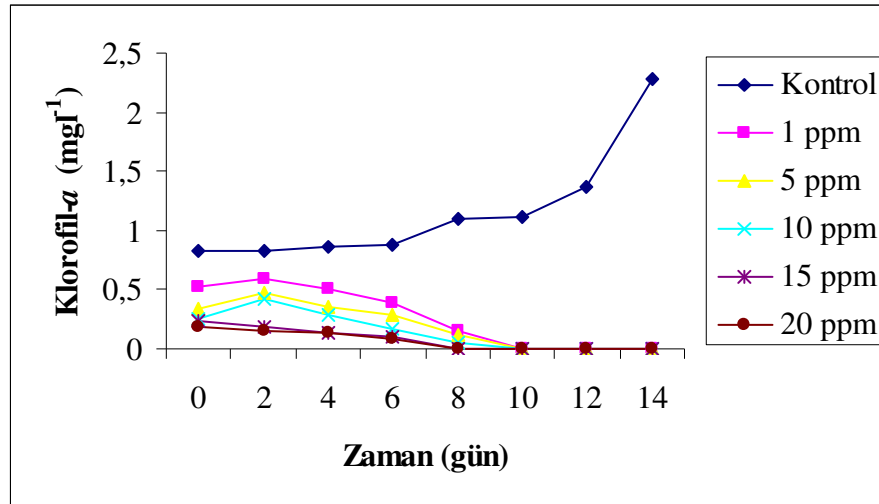


Şekil 7.1 *Synechocystis* sp. (E35)'nin Fe^{+2} 'ye dirençliliği

Synechocystis sp. (E35) izolatu, 15 ve 20 ppm'lik Zn^{+2} konsantrasyonunda, 8. güne kadar direnç gösterirken; aynı izolatu Cu^{+2} 'ye dirençliliği 1, 5, 10 ppm için 10.güne, 15 ve 20 ppm için ise 8. güne kadar sürmüştür (Şekil 7.2-7.3).



Şekil 7.2 *Synechocystis* sp. (E35)'nin Zn^{+2} 'ye dirençliliği



Şekil 7.3 *Synechocystis* sp. (E35)'nin Cu^{+2} ye dirençliliği

Elde edilen sonuçların ışığında biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmasının *Synechocystis* sp. izolatu (E35) ile yapılmasına karar verilmiştir.

7.3 pH ve Sıcaklık Etkisi

Seçilen dirençli izolatu, uygun çevresel yaşam koşullarını oluşturmak için optimizasyon çalışması yapılmıştır. Optimizasyon çalışması ile *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, en iyi ürediği pH ve sıcaklık değerleri belirlenmiştir. Bu değerler belirlenirken, Küçükçekmece Gölü'nün pH ve sıcaklık değerleri ile siyanobakterilerin genel yaşam koşulları esas alınmıştır.

Biyosorpsiyon prosesine sıcaklık parametresinin etkisini incelemek üzere yapılan çalışmalarda farklı görüşlere rastlanmaktadır. Martins vd. (2004) tarafından *Fontinalis antipyretica* ile yapılan çalışmada, sıcaklık arttıkça biyosorpsiyon kapasitesinin arttığını rapor etmişlerdir. Aksu (2001)'un *C.vulgaris* ile Cruz ve arkadaşları (2004)'nın *Sargassum* sp. ile yaptığı çalışmada sıcaklık artışıyla biyosorpsiyonda azalma gözlemlenmiştir.

Bu çalışmada, siyanobakterilerin en uygun üreme sıcaklığını tespit etmek amacıyla yapılan incelemede *Synechocystis* sp. (E35)'in 23 °C'de en yüksek optik yoğunluğa sahip olduğu görülmüştür (Çizelge 7.2). Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmaları, en yoğun üremenin görüldüğü 23 °C sıcaklıkta yapılmıştır.

Çizelge 7.2 Optimizasyon çalışmasında elde edilen optik yoğunluk değerleri (pH=7)

Sıcaklık	20 °C	23 °C	25 °C
(E1)	0,67±0,02	1,91±0,04	0,94±0,02
(E4)	0,65±0,01	2,11±0,03	0,95±0,04
(E8)	0,70±0,04	2,39±0,02	1,09±0,03
(E35)	0,80±0,03	2,46±0,03	1,17±0,05
(E37)	0,70±0,02	2,23±0,03	1,13±0,07

Bu çalışmada, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının en iyi pH 7’de ürediği bulunmuştur (Çizelge 7.3). Bilinmektedir ki; pH, biyosorpsiyonu etkileyen önemli parametrelerden birisidir (Vilar vd., 2005; Lodeiro vd. 2005). Çünkü serbest hidrojen iyonu konsantrasyonu, çözeltideki fiziko-kimyasal reaksiyonları, biyokütledeki fonksiyonel grupların aktivitesini ve metal iyonları arasındaki yarışı etkilemektedir (Veglio ve Beolchini, 1997). Ayrıca, siyanobakterilerle ilgili yapılan başka bir çalışmada ise, 4–8 aralığında pH arttıkça metal alımının da arttığı gözlemlenmiştir (Rangsayatorn, 2002).

Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının en iyi ürediği pH 7 koşullarında yürütülmüştür.

Çizelge 7.3 Optimizasyon çalışmasında elde edilen optik yoğunluk değerleri (T=23°C)

pH	5,5	6	6,5	7	7,5	8
(E1)	0,71±0,03	0,76±0,05	0,93±0,04	1,13±0,03	1,07±0,01	0,86±0,05
(E4)	0,54±0,02	0,63±0,03	0,77±0,02	0,89±0,01	0,71±0,03	0,80±0,02
(E8)	1,35±0,03	1,41±0,04	1,38±0,04	1,42±0,03	1,24±0,04	1,10±0,30
(E35)	0,96±0,04	1,20±0,20	1,33±0,06	1,55±0,04	1,38±0,05	1,21±0,02
(E37)	1,07±0,01	1,13±0,05	0,89±0,04	0,97±0,02	0,74±0,06	0,79±0,05

7.4 Fe⁺², Zn⁺² ve Cu⁺² Metallerinin Biyosorpsiyonu ve Biyobirikimi

Bu çalışmada; *Synechocystis* sp. (E35) izolatının; tekli, ikili ve üçlü metal birleşimlerinden oluşan sentetik çözeltilerden metal biyosorpsiyonu/biyobirikimi incelenmiştir.

7.4.1 Tekli Metal Ortamında Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

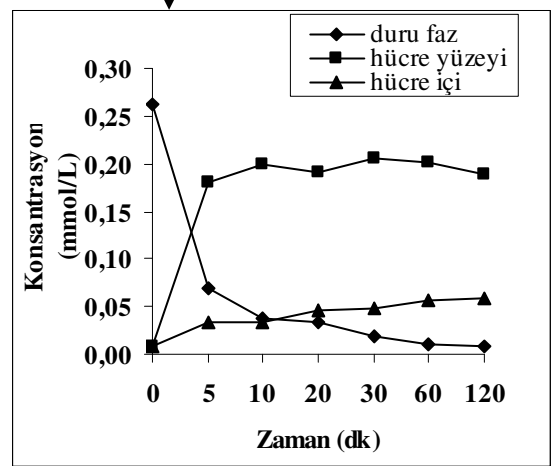
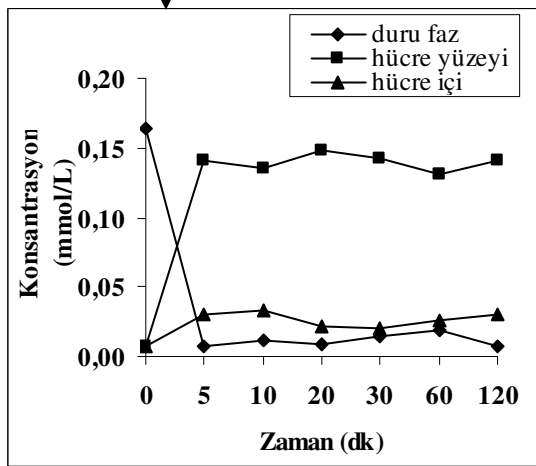
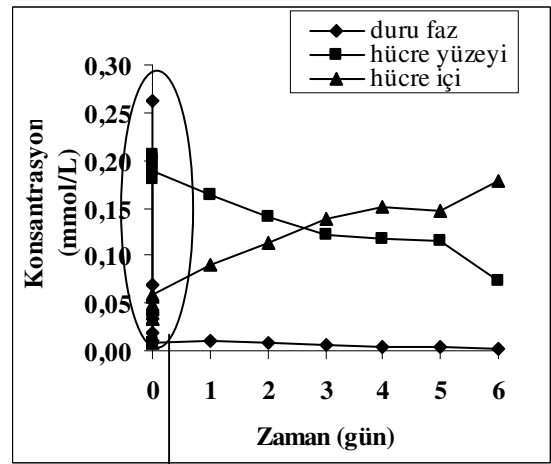
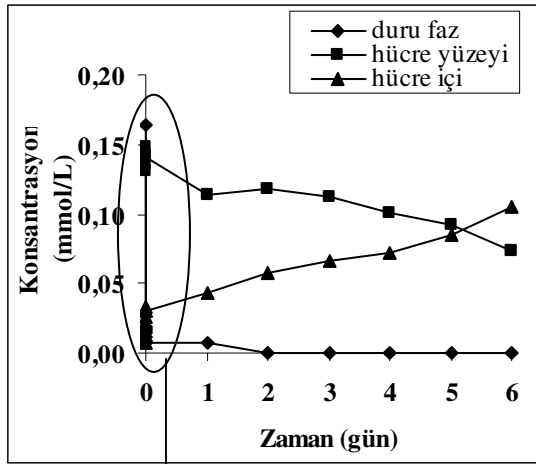
Demir

Synechocystis sp. (E35) izolatı ile gerçekleştirilen sorpsiyon denemelerinde, 10 ppm (0.179 mmol/L) Fe⁺² konsantrasyonu için yaklaşık olarak 1. günden sonra suda (duru fazda) demir kalmadığı, 15 ppm'de ise yaklaşık 4. günden sonra sudaki demir konsantrasyonunun 0.004 mmol/L'nin altına düştüğü görülmektedir. Bu sonuçlar, demir alınınımının başlangıç konsantrasyonuna bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. Konsantrasyon artışının, hücre yüzeyinde tutunma süresini değiştirmedeği gözlemlenmektedir (Şekil 7.4).

Fe konsantrasyonun; 10 ppm'den (0.179 mmol/L), 15 ppm'e (0.269 mmol/L) çıkarılması ile sudan, hücre yüzeyine geçiş hızını arttırmaktadır. Buna karşılık, konsantrasyon artışı hücre yüzeyinden, hücre içine geçiş hızını azaltmaktadır (Çizelge 7.4).

Çizelge 7.4 Fraksiyonlar arası geçiş hızları

Fe ⁺²	C ₀ (mmol/L)	dC/dt (θ _i =5 dk)	
		Duru Fazdan Hücre Yüzeyine Geçiş	Hücre Yüzeyinden Hücre İçine Geçiş
	0,179	0,85	0,17
	0,269	0,89	0,15

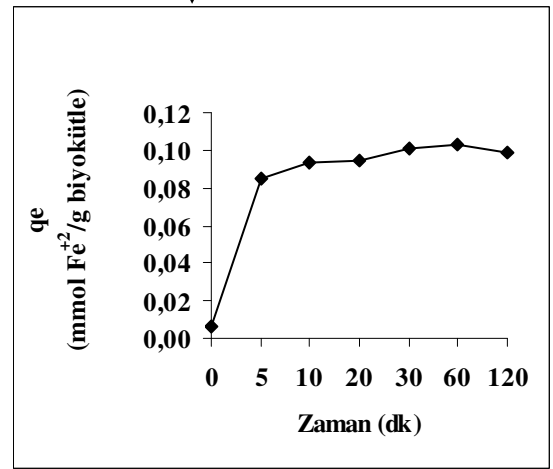
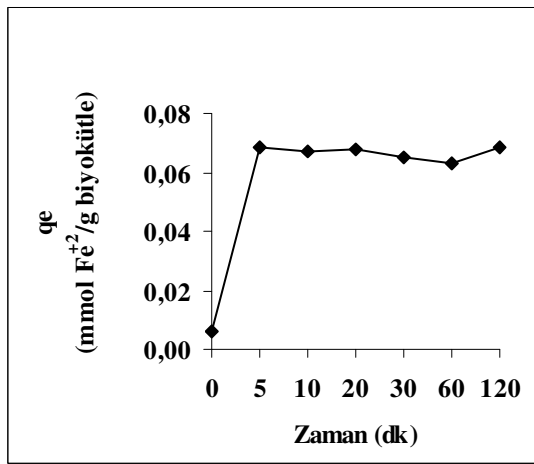
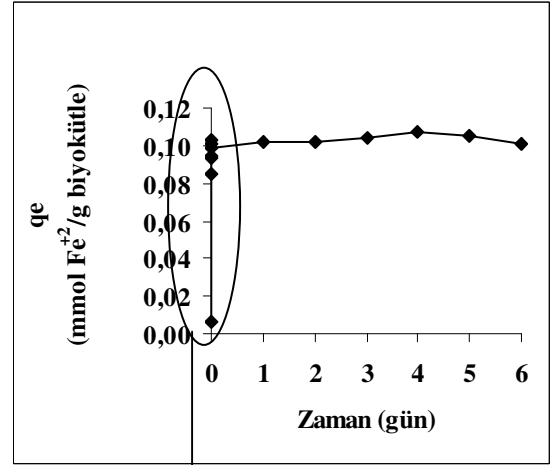
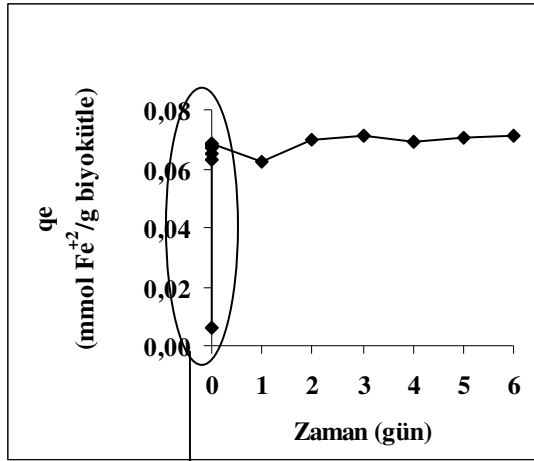


(a) ($C_0=0.179$ mmol Fe^{+2}/L)

(b) ($C_0=0.269$ mmol Fe^{+2}/L)

Şekil 7.4 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

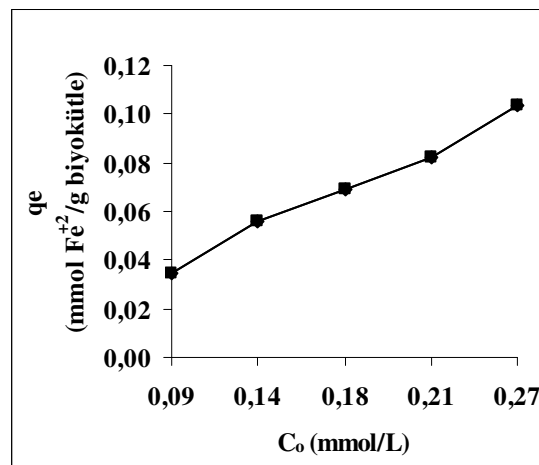
Çözeltideki başlangıç Fe^{+2} konsantrasyonu 10 ppm (0.179 mmol/L) olduğunda; birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarı (q) 0.071 mmol Fe^{+2}/g biyokütle iken, başlangıç konsantrasyonu 15 ppm (0.269 mmol/L) olduğunda q , 0.101 mmol Fe^{+2}/g biyokütle değerine ulaşmıştır (Şekil 7.5 ve Şekil 7.5).



(a) ($C_0=0.179$ mmol Fe^{+2} /L)

(b) ($C_0=0.179$ mmol Fe^{+2} /L)

Şekil 7.5 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)



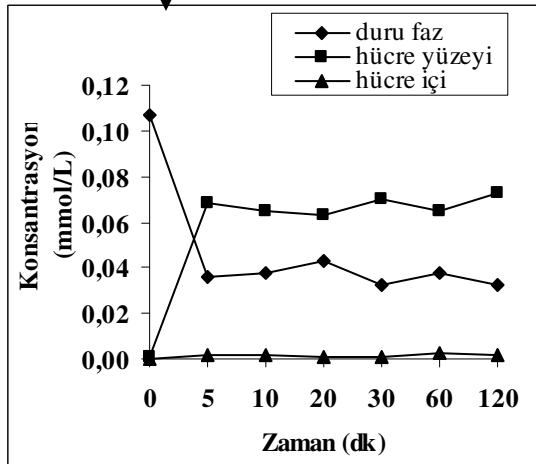
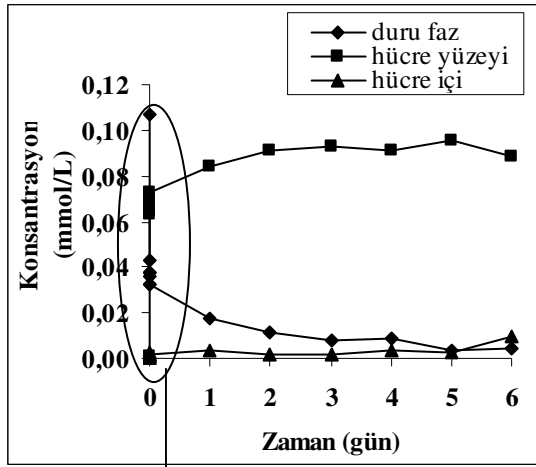
Şekil 7.6 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Reaksiyonun başlangıcında hücre yüzeyine toplanan demir metalinin, yaklaşık 120. dakikadan itibaren hücre yüzeyinden, hücre içine doğru geçişi artmıştır (Şekil 7.4). Gram negatif bakterilerde hücre duvarı polisakkarite bağlı büyük moleküllerden oluşmaktadır. Bu moleküller ağır metal biyosorpsiyonunda görev alan bazı fonksiyonel gruplar içermektedir. Bu gruplar, amin (NH^-), hidroksil (OH^-), karboksil (COO^-) ve diğer ($-\text{C-N}$), ($-\text{C-O}$), ($-\text{C-H}$), ($-\text{C=O}$), metal iyonlarına farklı ilgiler (affinities) göstermektedirler (Selatnia vd., 2004). Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması sonuçlarına göre, demirin hücre yüzeyinde toplanması ve burada tutunma süresini değiştirmemesi, *Synechocystis* sp. (E35)'in hücre yüzeyinde aktif bölgeler bulunduğu kanıt olarak gösterilebilir.

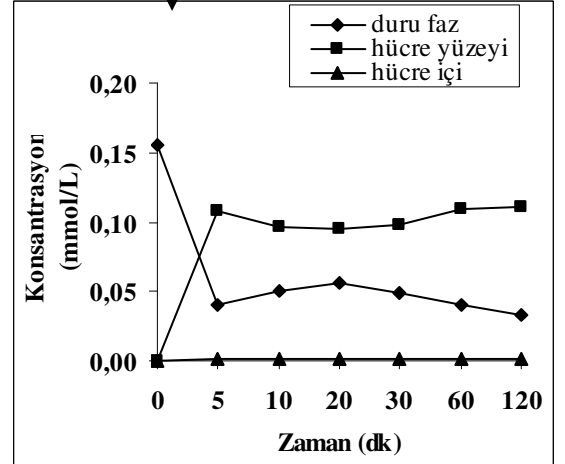
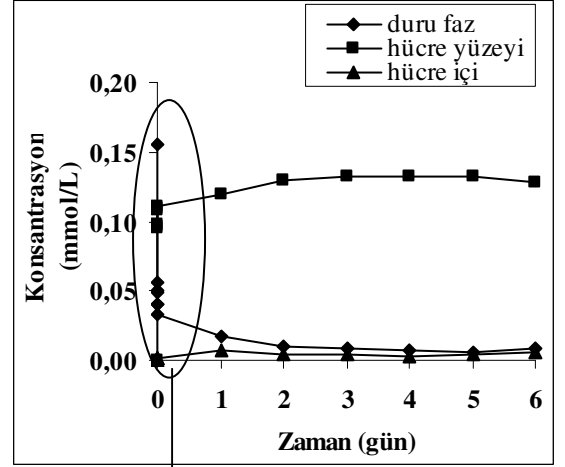
Panoff ve Joset (1989) tarafından yapılan bir çalışmada, *Synechocystis* PCC 6803 izolatının hücre dışı polisakkarit (HDP) ürettiği gözlemlenmiştir. Çoğu bakteride olduğu gibi, hücre dışı polisakkaritler, hücrenin etrafını sarmakta ve hücrenin negatif yüklü bir özellik kazanmasına sebep olmaktadır. Bölüm 7.7.2'de anlatıldığı üzere *Synechocystis* sp. (E35) izolatı, Fe^{+2} metaline maruz bırakıldığı zaman hücre dışı polisakkarit üretiminin arttığı elektron mikrokobu görüntülerinde görülmektedir (Şekil 7.32). HDP üretimiyle hücre, negatif yüklü bir özellik kazanmaktadır ve pozitif yüklü olan Fe^{+2} metaline karşı ilgisinin de arttığı düşünülmektedir. Fe^{+2} konsantrasyonun 10 ppm'den 15 ppm'e çıkarılması, hücre yüzeyinde toplanan demirin hücre içine alınımını arttırdığı görülmektedir (Şekil 7.4).

Cinko

Suda kalan Zn^{+2} konsantrasyonuna bakıldığında biyosorpsiyonun iki aşamada gerçekleştiği görülmektedir. 7 ppm (0.107 mmol/L) çinko içeren çözeltide, ilk 5-10 dakika içinde, sudaki Zn^{+2} konsantrasyonunun hızla azaldığı, daha sonra 120. dakikaya kadar duru faza metal geçişlerinin olduğu ve 1. günden itibaren de tekrar azalmaya başladığı ve 6. günde 0.005 mmol/L'ye kadar düştüğü gözlemlenmektedir (Şekil 7.7.a). Başlangıç konsantrasyonu 10 ppm (0.153 mmol/L) çinko içeren çözeltide de iki aşamalı bir biyosorpsiyon gözlemlenmektedir ve 6. günde suda kalan Zn^{+2} konsantrasyonu 0.009 mmol/L'ye kadar düşmüştür (Şekil 7.7.b).



(a) ($C_0=0.107$ mmol Zn^{+2}/L)



(b) ($C_0=0.153$ mmol Zn^{+2}/L)

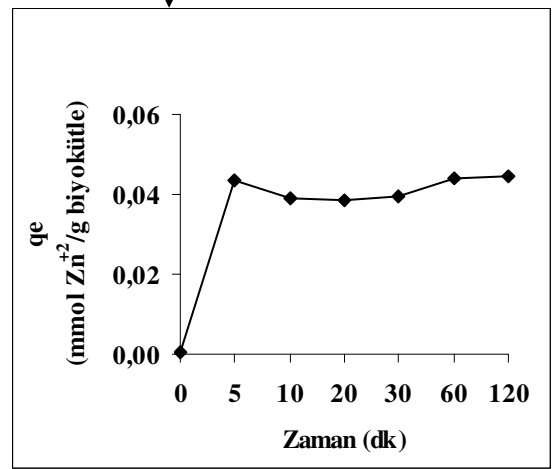
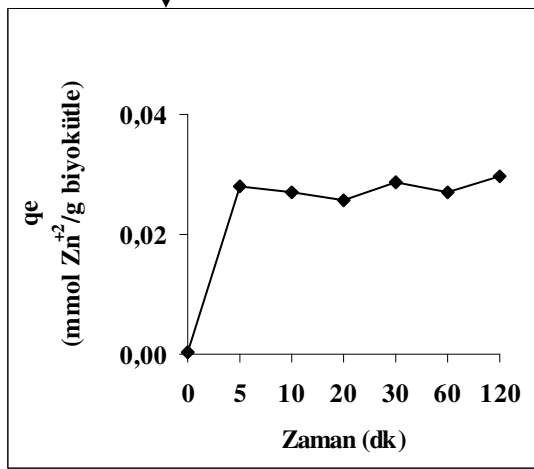
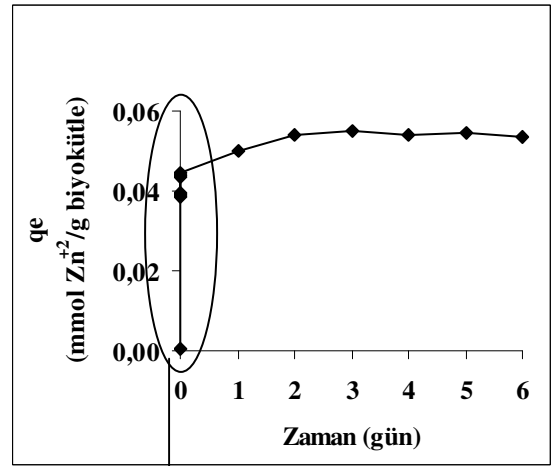
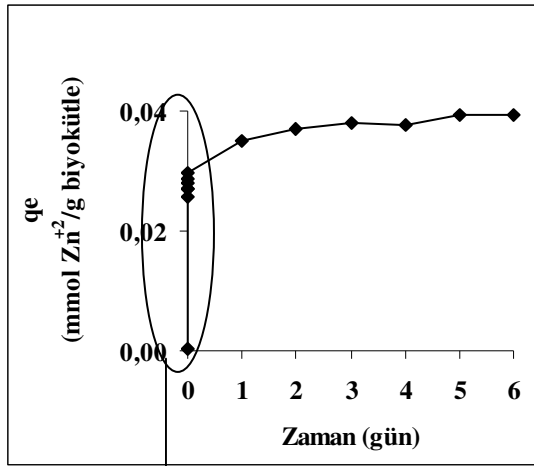
Şekil 7.7 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Biyosorpsiyon/biyobirikim denemelerinde, 7 ppm (0.107 mmol/L) ve 10 ppm (0.153 mmol/L)'lik Zn^{+2} uygulamalarında, konsantrasyon arttıkça, çinkonun sudan hücre yüzeyine geçiş hızı azalmaktadır (Çizelge 7.5). Hücre yüzeyindeki konsantrasyon artışına bağlı olarak, hücre yüzeyinde oluşan baskıdan dolayı metalin hücre içine geçiş hızı artmaktadır.

Çizelge 7.5 Fraksiyonlar arası geçiş hızları

Zn^{+2}	C_0 (mmol/L)	dC/dt ($\theta_t=5$ dk)	
		Duru Fazdan Hücre Yüzeyine Geçiş	Hücre Yüzeyinden Hücre İçine Geçiş
	0,107	0,96	0,00
	0,153	0,93	0,01

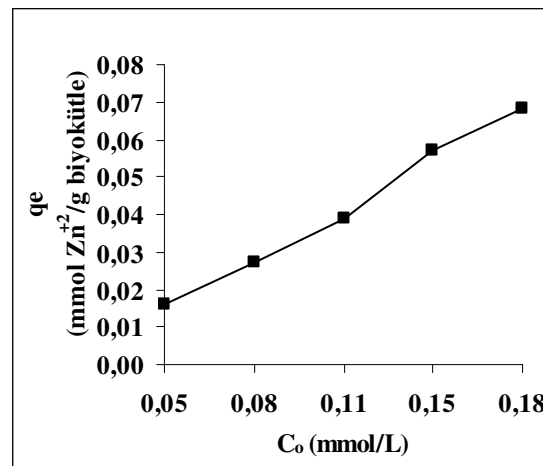
Bazı araştırma sonuçlarına göre, birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarının, çözeltideki metal konsantrasyonu ile orantılı olduğu ortaya konulmuştur (Omar, 2002). Bu çalışmada da benzer şekilde, çözeltideki başlangıç Zn^{+2} konsantrasyonu 7 ppm (0.107mmol/L) olduğunda; birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarı (q) 0.039 mmol Zn^{+2} /g biyokütle iken, başlangıç konsantrasyonu 10 ppm (0.153 mmol/L) olduğunda q, 0.053 mmol Zn^{+2} /g biyokütle değerine ulaşmıştır (Şekil 7.8 ve Şekil 7.9).



(a) ($C_0=0.107$ mmol Zn⁺₂/L)

(b) ($C_0=0.153$ mmol Zn⁺₂ /L)

Şekil 7.8 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)



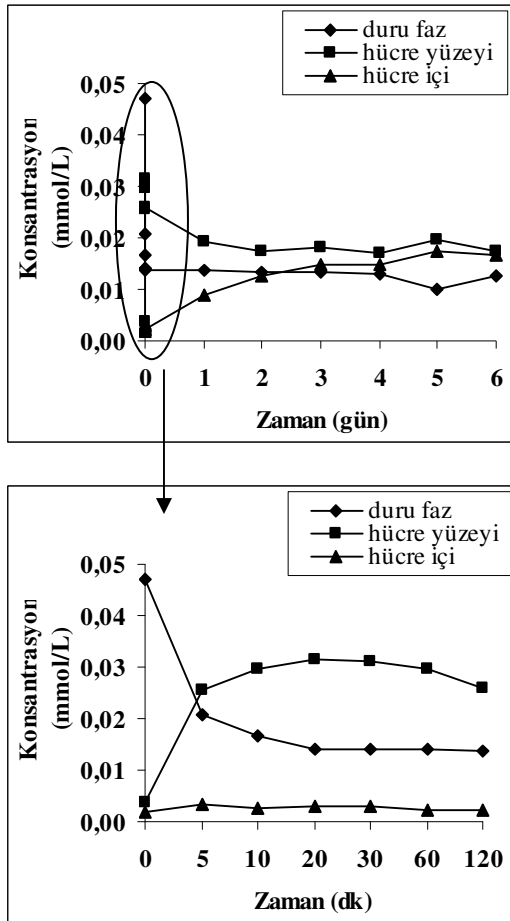
Şekil 7.9 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Çinko ve demir gibi elementler düşük konsantrasyonlarda, hücrenin metabolik faaliyetleri için gereklidir. Bununla birlikte yüksek konsantrasyonlarda, hücrenin homeostatik dengesini bozarak hücreye zarar vermektedirler. Bazı organizmalar, bu metallerin hücredeki konsantrasyonlarını dengede tutmak amacıyla, homeostatik sistemler geliştirmişlerdir. Siyanobakterilerin de dahil olduğu bazı organizmalar, “dışarıya salgılama mekanizmaları (efflux pumps)” geliştirerek, hücrenin ihtiyacından fazlasını stoplazmanın dışına pompalamaktadırlar. Bunun sonucunda, hücre içindeki metal konsantrasyonlarını toksik seviyelerin altında tutmaktadırlar (Chodhury ve Srivastava, 2001). Bu çalışmada hücre içindeki çinkonun, 7 ppm (0.107 mmol/L) ve 10 ppm (0.153 mmol/L) başlangıç konsantrasyonları için 6. günde sırasıyla 0.0093 mmol/L ve 0.0060 mmol/L değerlerinde biriktiği gözlemlenmiştir. Buna karşılık, hücre yüzeyinde ise yine sırasıyla 0.0887 mmol/L ve 0.1274 mmol/L çinko tutulmuştur (Şekil 7.7). *Synechocystis* sp. (E35) izolatının çinkoya karşı refleks sistemleri geliştirerek, potansiyel toksik özelliği bulunabilecek konsantrasyonlardaki çinkoyu hücre yüzeyinde tuttuğu düşünülmektedir. Çinkonun, elektron mikroskobu görüntülerinde net bir şekilde görülen hücre dışı yapılarla (hücre dışı polisakkaritler gibi) ya da hücre duvarındaki fonksiyonel gruplara tutunarak hücre yüzeyinde tutulduğu düşünülmektedir. *Synechocystis* sp. (E35) izolatı çinko metale karşı geliştirdiği bu mekanizma ile çinko iyonlarının hücre yüzeyinde kalmasını ve tekrar stoplazmaya girişini engellemektedir. Ancak bazı araştırmacılar, hücrenin ihtiyacı olduğu takdirde, bu bağlı çinkoyu hücre içine alarak metabolik faaliyetlerinde kullanabileceğini rapor etmişlerdir (Chodhury ve Srivastava, 2001).

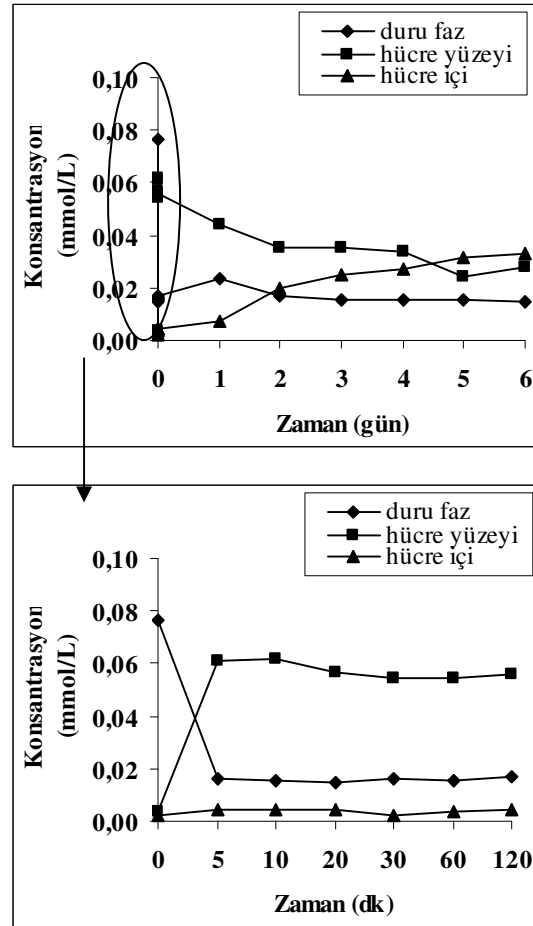
Bakır

Yapılan dirençlilik çalışması sonucunda, bakır metalinin *Synechocystis* sp. (E35) izolatu için, çinko ve demire nazaran daha toksik bir element olduğu görülmüştür. Probit analizi sonucunda EC_{50} değeri de diğer iki metale göre daha düşük çıkmıştır. Bu nedenle Cu^{+2} için; çinko ve demire göre daha düşük konsantrasyonlarda (3 ve 5 ppm) biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması yapılmıştır.

3 ppm (0.047 mmol/L) ve 5 ppm (0.079 mmol/L) başlangıç Cu^{+2} konsantrasyonunda, suda kalan metal konsantrasyonu sırasıyla 0.013 ve 0.015 mmol/L değerlerinde bulunmuştur. Dolayısıyla, çözeltideki başlangıç Cu^{+2} konsantrasyonunun artması, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının metal biyosorpsiyonunu arttırmış olduğu görülmektedir (Şekil 7.10.a ve b).



(a) (C₀=0.047 mmol Cu²⁺/L)



(b) (C₀=0.079 mmol Cu²⁺/L)

Şekil 7.10 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Elde edilen sonuçlar, çözeltideki bakır konsantrasyonu artırıldığında, *Synechocystis* sp. (E35) izolatu tarafından hücre içine alınan bakır miktarının da arttığını göstermektedir. Öyle ki, 3 ppm (0.047 mmol/L) bakıra maruz bırakılan *Synechocystis* sp. (E35) izolatında, hücre içine alınan Cu^{+2} metali 0.017 mmol/L iken 5 ppm'lik (0.079 mmol/L) bakır uygulandığında bu değer 0.033 mmol/L'ye çıkmıştır (Şekil 7.10). Benzer şekilde Dönmez ve Aksu (2001) tarafından, *Candida* sp. kullanılarak yapılan çalışmada da yüksek bakır konsantrasyonlarında organizmanın bakıra karşı direncinin arttığı gözlemlenmiştir. Organizmaların artan metal konsantrasyonlarına dirençliliğini, metalotiyonin gibi bakır bağlayan proteinler sentezleyerek geliştirdiği düşünülmektedir.

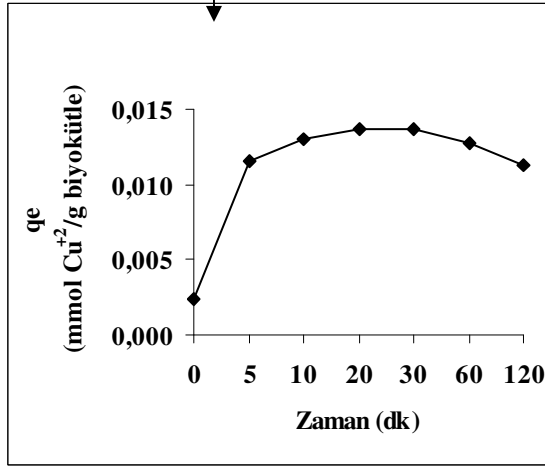
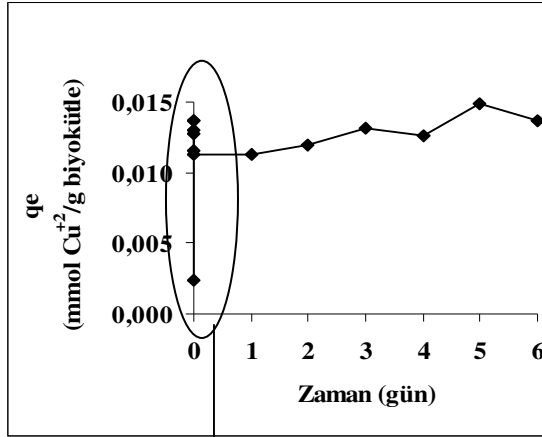
Biyosorpsiyon sürecinin başlangıcında, bakır iyonlarının negatif yüklü hücre duvarına hızla toplandığı görülmektedir. Buna karşılık 3 ppm Cu^{+2} içeren çözeltide 120. dakikadan itibaren, 5 ppm'de ise yaklaşık 1. günden sonra daha yavaş bir şekilde hücre içine alımın gözlemlenmiştir (Şekil 7.10). Malik (2004) tarafından yapılan çalışmada, hücre içine alınan bakırın polifosfat granüllere veya düşük moleküler ağırlıklı proteinlere (metalotiyoninler) bağlandığı üzerinde durulmuştur.

Cu^{+2} konsantrasyonunun, 0.047 mmol/L'den 0.079 mmol/L'ye çıkarılması; *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, sudan hücre yüzeyine alım hızını artırırken, hücre içine metal giriş hızı azalmaktadır (Çizelge 7.6).

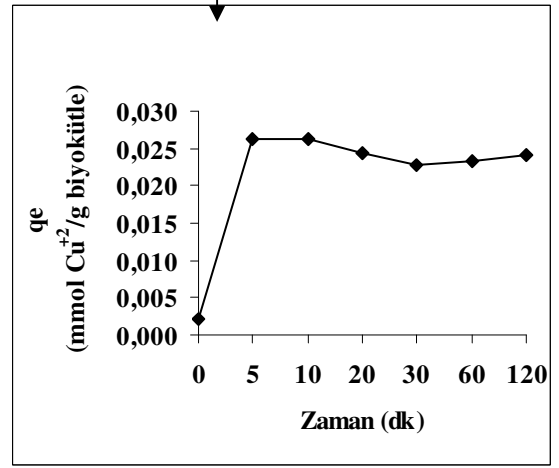
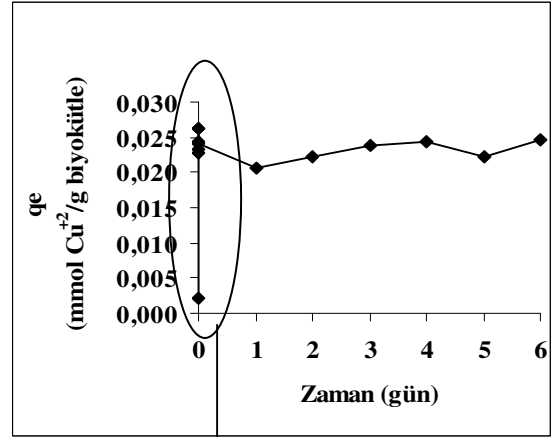
Çizelge 7.6 Fraksiyonlar arası geçiş hızları

Cu^{+2}	C_0 (mmol/L)	dC/dt ($\theta_t=5$ dk)	
		Duru Fazdan Hücre Yüzeyine Geçiş	Hücre Yüzeyinden Hücre İçine Geçiş
	0,047	0,85	0,05
	0,079	0,98	0,03

Demir ve çinko biyosorpsiyonunda elde edilen sonuçlara paralel olarak, bakır ile yapılan biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmasında da çözeltideki başlangıç Cu^{+2} konsantrasyonu arttıkça birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarı artmıştır. Cu^{+2} konsantrasyonu 3 ve 5 ppm (0.047 ve 0.079 mmol/L) için birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarı (q) sırasıyla; 0.014 ve 0.025 mmol Cu^{+2} /g biyokütle'dir (Şekil 7.11 ve Şekil 7.12).

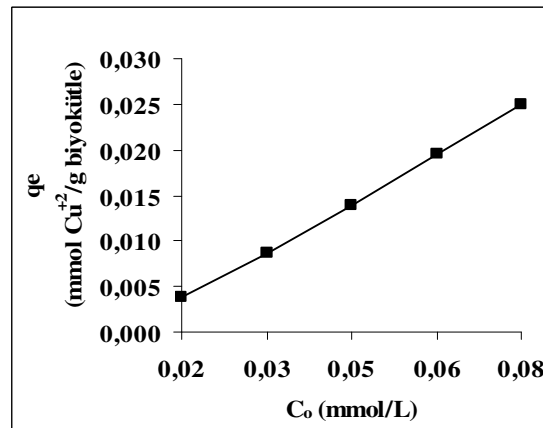


(a) ($C_0=0.047$ mmol Cu^{+2}/L)



(b) ($C_0=0.079$ mmol Cu^{+2}/L)

Şekil 7.11 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)



Şekil 7.12 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Tekli metallerle yürütülen, biyosorpsiyon/biyobirikim denemeleri sonuçları incelendiğinde, sudan (duru fazdan) hücre yüzeyine metallerin geçiş hızı sırasıyla; $\text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$; hücre yüzeyinden hücre içine metal geçiş hızı ise, $\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır.

7.4.2 İkili Metal Ortamında Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

Mikroorganizmaların, belirli bir ortamdaki bir metal iyonunu biyosorplama kapasitesi, ortamda başka metallerin var olduğu durumlarda, tek metalin varlığı ile kıyaslandığında; artabilir (sinerjistik etki), azalabilir (antagonistik etki) veya hiçbir değişim göstermez (noninteraction) (Sağ vd., 1998). *Synechocystis* sp. (E35) izolatının doğal ortamdaki davranışına yaklaşımlar yapabilmek amacıyla ikili ve üçlü metal birleşimlerinden oluşan sentetik çözeltiler kullanılarak sorpsiyon denemeleri sürdürülmüştür.

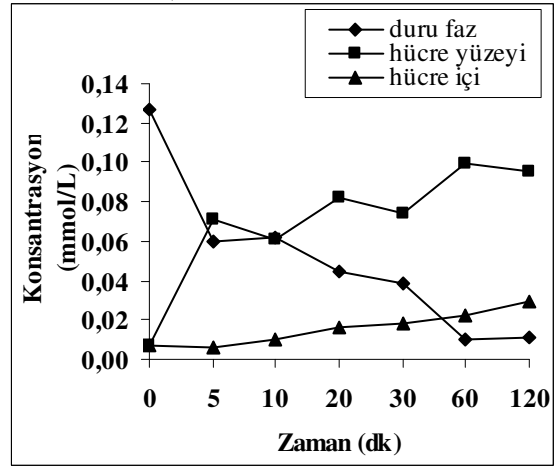
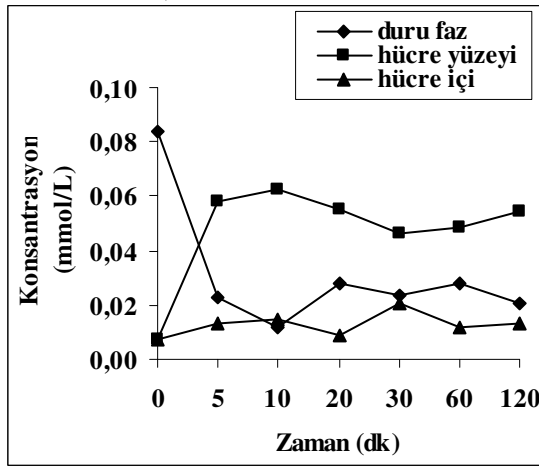
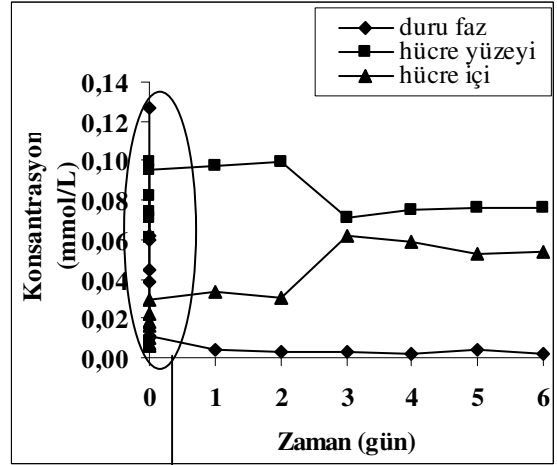
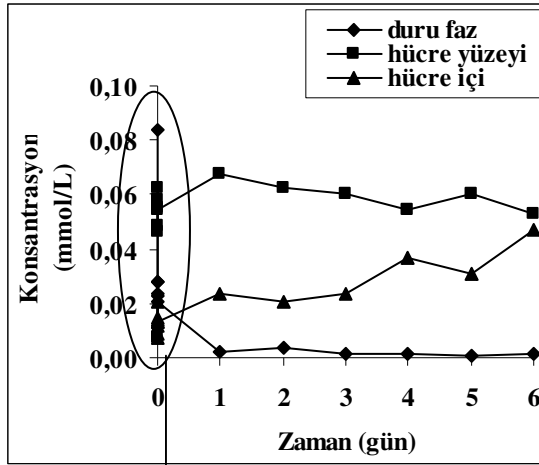
7.4.2.1 Demir-Çinko Metal Ortamında *Synechocystis* sp. (E35) İzolatının Davranışı

Synechocystis sp. (E35) izolatının, demir ve çinko metallerinin bir arada bulunduğu koşullardaki davranış farklılıklarını incelemek amacıyla;

- C_0 : 5 ppm Fe^{+2} (0.090 mmol Fe^{+2}/L) ve 5 ppm Zn^{+2} (0.076 mmol Zn^{+2}/L)
- C_0 : 7.5 ppm Fe^{+2} (0.134 mmol Fe^{+2}/L) ve 7.5 ppm Zn^{+2} (0.115 mmol Zn^{+2}/L) içeren iki deneme seti kurulmuştur.

Çözelti içinde Fe^{+2} ve Zn^{+2} metalinin bir arada bulunması, demirin kararlılığını olumsuz olarak etkilemektedir. Zn^{+2} metalinin varlığı Fe^{+2} biyosorpsiyonunu inhibe etmiş olmasına rağmen, *Synechocystis* sp. (E35) izolatı Fe^{+2} 'e karşı daha çok ilgi (affinity) duymaktadır. Çinkonun, demir biyosorpsiyonunu antagonistik olarak etkilemesi, hücre yüzeyindeki aktif biyosorpsiyon bölgeleri için iki metalin yarışından kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir (Singh, 1998).

Fe^{+2} ve Zn^{+2} iyonlarının bir arada bulunduğu koşullarda, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, 5 ppm'lik Fe^{+2} - Zn^{+2} setinde, başlangıçta Fe^{+2} 'i hücre yüzeyine topladığı, 10. dakikadan sonra çözeltiye geri verdiği görülmektedir. 1. günden itibaren ise tekrar çözeltide kalan Fe^{+2} konsantrasyonunun azaldığı gözlemlenmiştir. Başlangıç konsantrasyonu 7.5 ppm'e (0.134 mmol Fe^{+2}/L ve 0.115 mmol Zn^{+2}/L) çıkarıldığı zaman, *Synechocystis* sp. (E35) izolatı, biyosorpsiyonun 2. gününe kadar Fe^{+2} iyonlarını hücre yüzeyinde tutmuştur. Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmasının 2. gününden sonra ise hücre yüzeyinden hücre içine doğru bir geçiş gözlemlenmiştir (Şekil 7.13).

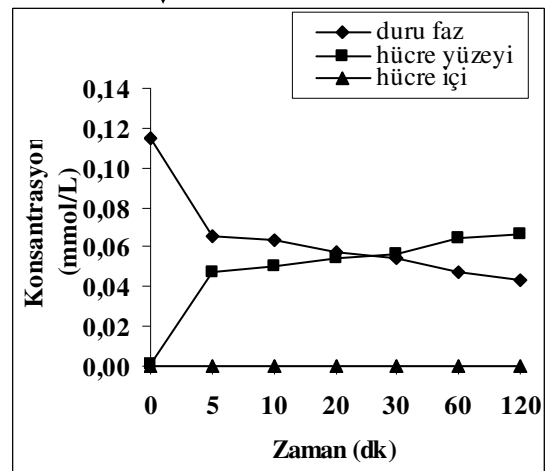
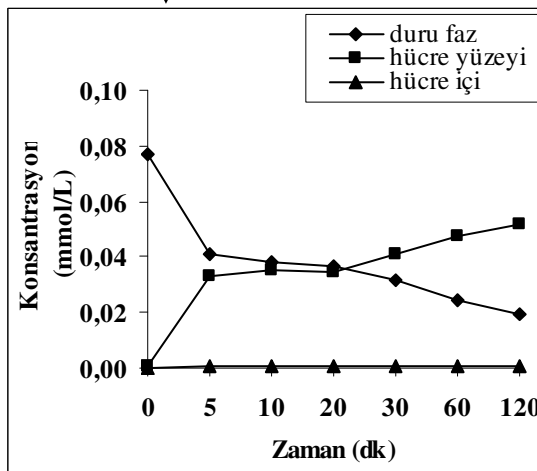
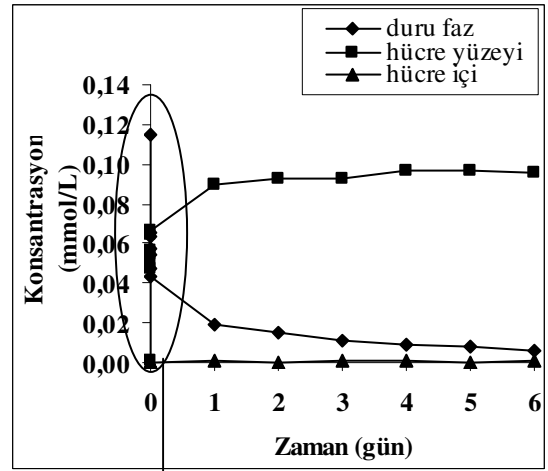
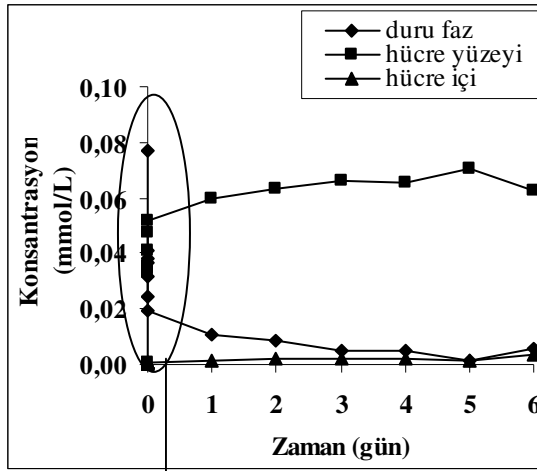


(a) ($C_0=0.090$ mmol Fe^{+2}/L)

(b) ($C_0=0.134$ mmol Fe^{+2}/L)

Şekil 7.13 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Çinkonun demir üzerindeki antagonistik etkisine karşılık, ortamda demirin bulunması *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, Zn^{+2} biyosorpsiyonunda önemli bir değişiklik meydana getirmediği ve çinkonun hücre yüzeyinde tutulduğu görülmektedir. Başlangıç konsantrasyonunun 7.5 ppm'e (0.134 mmol Fe^{+2}/L ve 0.115 mmol Zn^{+2}/L) çıkarılması da, çinkonun biyosorpsiyon davranışını çok fazla etkilenmemiştir (Şekil 7.14).



(a) ($C_0=0.076 \text{ mmol Zn}^{+2}/\text{L}$)

(b) ($C_0=0.115 \text{ mmol Zn}^{+2} /\text{L}$)

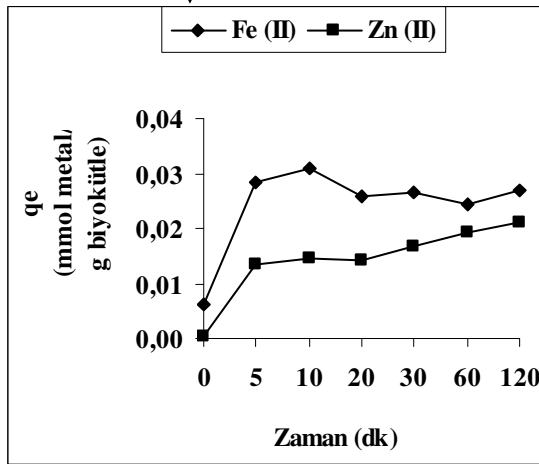
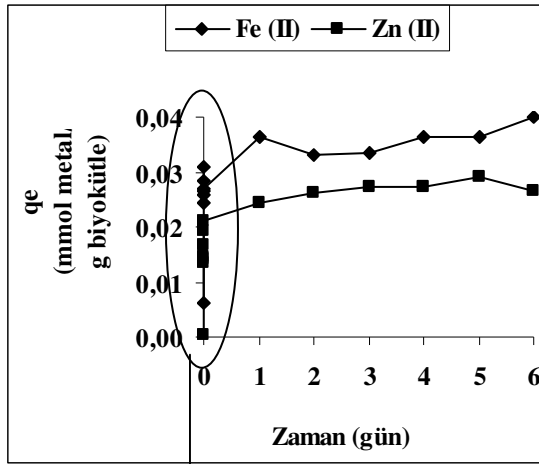
Şekil 7.14 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40 \text{ ml}$, Çalkalama Hızı= 100 rpm)

Tek başına bulundukları deneme setinde sudan hücre yüzeyine geçiş hızının $\text{Zn}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$; hücre içine geçiş hızının ise $\text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ şeklinde olduğu gözlemlenmiştir. Demir ve çinko metalinin bir arada bulunması da tekli çözeltideki hız sıralamalarını değiştirmemiştir. Demir-çinko ikili deneme setinde; başlangıç konsantrasyonu 5'er ppm ($0.090 \text{ mmol Fe}^{+2}/\text{L}$ ve $0.076 \text{ mmol Zn}^{+2}/\text{L}$) iken, sudan hücre yüzeyine geçiş hızı $\text{Zn}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$; konsantrasyonunun 7.5 ppm'e ($0.134 \text{ mmol Fe}^{+2}/\text{L}$ ve $0.115 \text{ mmol Zn}^{+2}/\text{L}$) çıkarılması durumunda ise, demirin hızı artmasına rağmen, çinkonun hızını aşamamıştır ($\text{Zn}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$). Hücre içine geçiş hızı sıralaması ise; düşük konsantrasyonda ($0.090 \text{ mmol Fe}^{+2}/\text{L}$ ve $0.076 \text{ mmol Zn}^{+2}/\text{L}$), $\text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$; konsantrasyon artışında ise; demirin hücre içine geçiş hızı azalmaktadır, ancak sıralama değişmemiştir (Çizelge 7.7).

Çizelge 7.7 Fraksiyonlar arası geçiş hızları

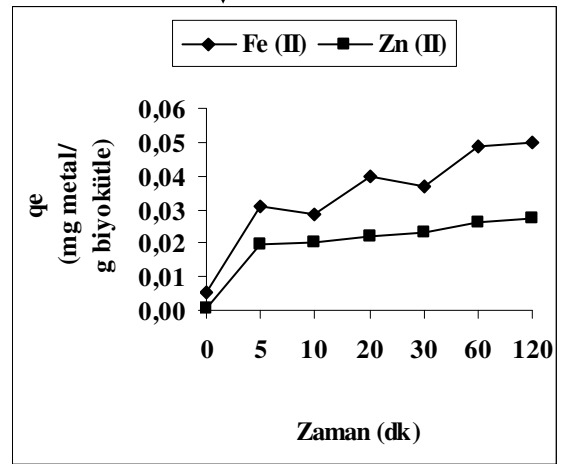
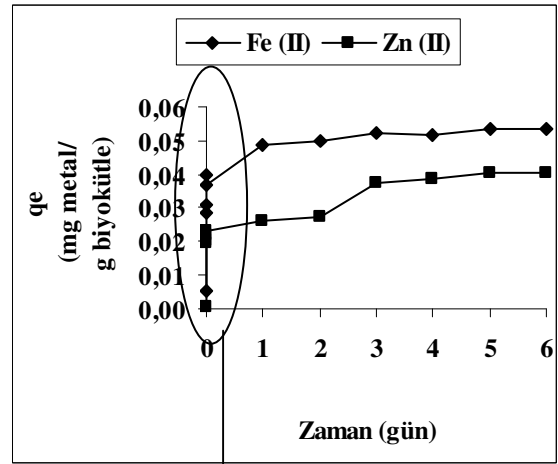
		C_0 (mmol/L)	dC/dt ($\theta_t=5$ dk)	
			Duru Fazdan Hücre Yüzeyine Geçiş	Hücre Yüzeyinden Hücre İçine Geçiş
$Fe^{+2}-Zn^{+2}$	Fe^{+2}	0,090	0,82	0,10
		0,134	0,96	0,00
	Zn^{+2}	0,076	0,92	0,03
		0,115	0,96	0,00

$Fe^{+2}-Zn^{+2}$ deneme setinde; başlangıç konsantrasyonu her bir metal için 5 ppm (0.090 mmol Fe^{+2} /L ve 0.076 mmol Zn^{+2} /L) olduğunda; q değeri 0.040 mmol Fe^{+2} /g biyokütle ve 0.027 mmol Zn^{+2} /g biyokütle değerinde iken; başlangıç konsantrasyonu 7.5 ppm'e (0.134 mmol Fe^{+2} /L ve 0.115 mmol Zn^{+2} /L) çıkarıldığında; q değeri 0.052 mmol Fe^{+2} /g biyokütle ve 0.041 mmol Zn^{+2} /g biyokütle değerine çıkmıştır (Şekil 7.15).



(a)

($C_0=0.090$ mmol Fe^{+2}/L ve 0.076 mmol Zn^{+2}/L)



(b)

($C_0=0.134$ mmol Fe^{+2}/L ve 0.115 mmol Zn^{+2}/L)

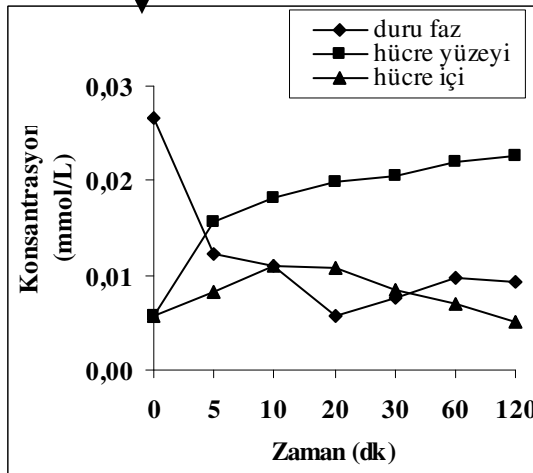
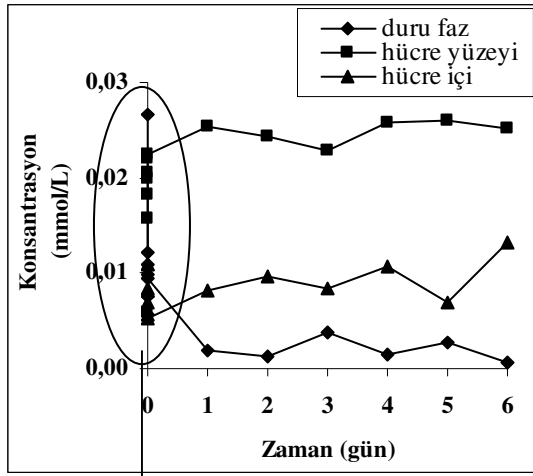
Şekil 7.15 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

7.4.2.2 Demir-Bakır Metal Ortamında *Synechocystis* sp. (E35) İzolatının Davranışı

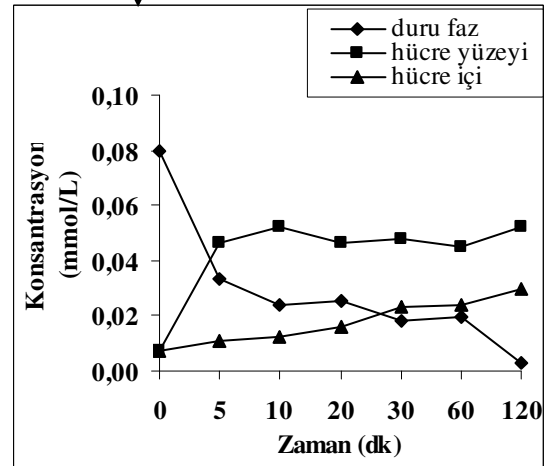
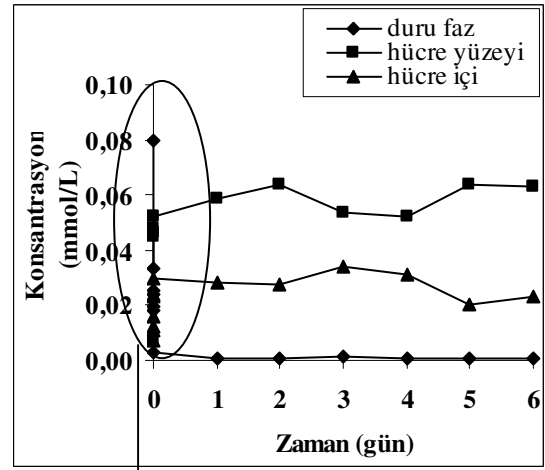
Bakır düşük konsantrasyonlarda, hücre fonksiyonlarında kullanılan önemli bir kofaktör olmakla birlikte, belirli konsantrasyonları aştığı zaman hücrede toksik etkiler meydana getirmektedir. Öyle ki, bu çalışmanın ilk aşamalarında yapılan toksisite çalışmalarında, bakır için EC_{50} değeri 3.42 mg/l, demir için ise 13.92 mg/l bulunmuştur. Yani, biyosorpsiyonda kullanılan *Synechocystis* sp. (E35) izolatı için bakır, demire nazaran daha toksik bir özelliğe sahiptir. *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, demir ve bakır metallerinin bir arada bulunduğu koşullardaki davranış farklılıklarını incelemek amacıyla;

- C_0 : 2 ppm Fe^{+2} (0.036 mmol Fe^{+2} /L) ve 2 ppm Cu^{+2} (0.031 mmol Cu^{+2} /L)
- C_0 : 5 ppm Fe^{+2} (0.090 mmol Fe^{+2} /L) ve 5 ppm Cu^{+2} (0.079 mmol Cu^{+2} /L) içeren iki deneme seti kurulmuştur.

Fe^{+2} - Cu^{+2} bimetalik biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmaları sonuçları incelendiğinde, Cu^{+2} metalinin toksik özelliğinin, Fe^{+2} 'nin biyosorpsiyonunu azalttığı görülmektedir (antagonistik etki). Bimetalik biyosorpsiyon sisteminde, 2 ppm'lik deneme setinde, 60. dakikaya kadar Fe^{+2} iyonunun, duru fazda salınımlar yaptığı görülmektedir. Ancak 60. dakikadan sonra *Synechocystis* sp. (E35) izolatının demiri daha fazla tercih ederek biyosorpsiyona devam ettiği gözlemlenmiştir (Şekil 7.16).



(a) ($C_0=0.036$ mmol Fe^{+2} /L)

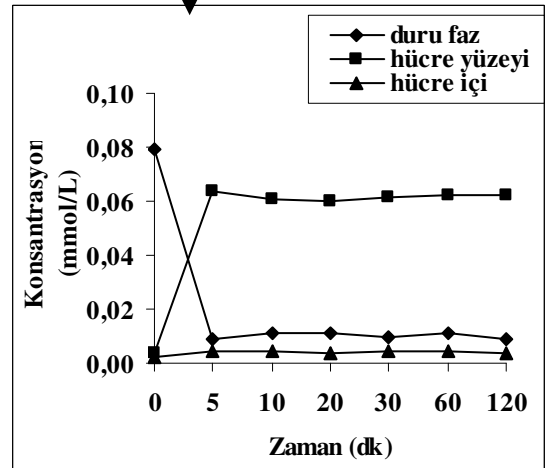
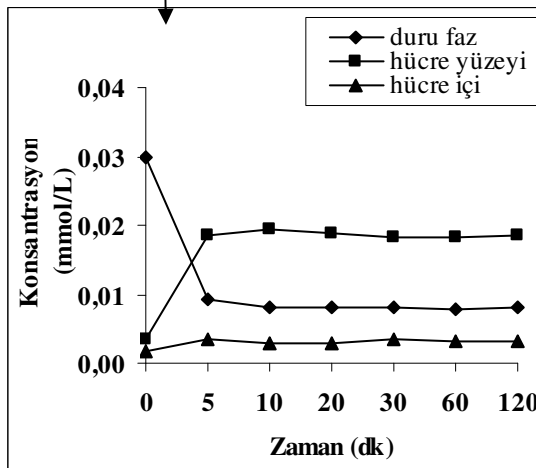
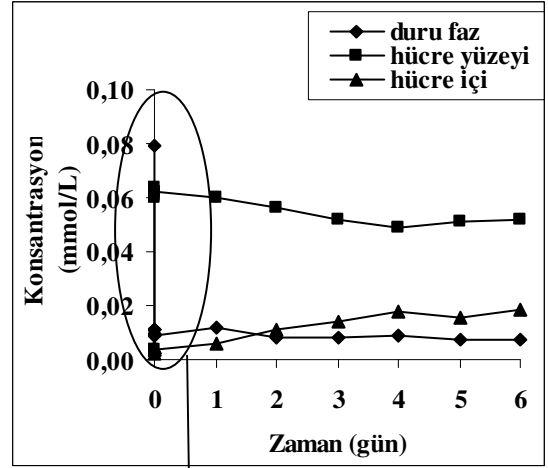
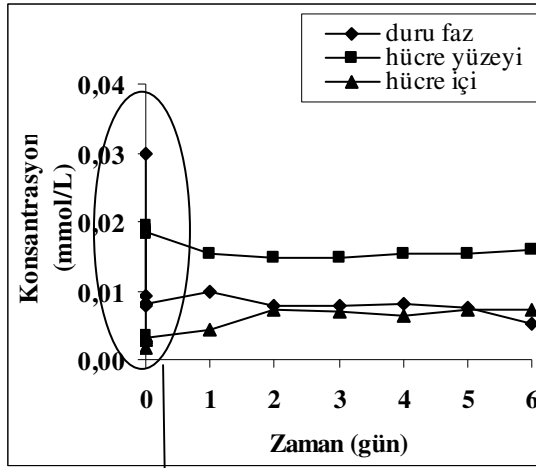


(b) ($C_0=0.090$ mmol Fe^{+2} /L)

Şekil 7.16 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Ortamda Cu^{+2} iyonlarının bulunması, Fe^{+2} 'in hücre içine alınımını 0.013 mmol/L değerine düşürmüştür (Şekil 7.16.a). Benzer şekilde, Cu^{+2} iyonlarının *Synechocystis* sp. (E35) izolatu tarafından hücre içine alınımının da azaldığı ve 0.007 mmol/L değerine ulaştığı görülmektedir (Şekil 7.17.a). *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, metalleri hücre içine aldığı metal miktarındaki bu düşüşün sebebi; özellikle bakır metalinin toksik etkisinden dolayı, hücre duvarındaki metal bağlanma bölgelerinin bozulması ya da hücre fonksiyonlarının inhibe olmasından kaynaklanmış olabilir. Benzer şekilde, Kadukova ve Vircikova (2005) tarafından yapılan bir çalışmada; taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve iletimli elektron mikroskobu (TEM) görüntülerinde, bakır metalinin hücrede meydana getirdiği bozunmalar görülmektedir. Çalışmada, bu bozunmalar sonucunda, hücrenin metal bağlama özelliğini kısmen kaybettiği vurgulanmıştır.

Demir ve bakırdan oluşan bimetalik biyosorpsiyon sisteminde, başlangıç konsantrasyonları arttırıldığında, 6. gündeki hücre içine alınan Fe^{+2} 0.024 mmol/L olduğu görülmüştür (Şekil 7.16.b). Buna karşılık, hücre içine alınan Cu^{+2} 0.018 mmol/L değerindedir (Şekil 7.17.b).



(a) ($C_0=0.031$ mmol Cu^{+2}/L)

(b) ($C_0=0.079$ mmol Cu^{+2}/L)

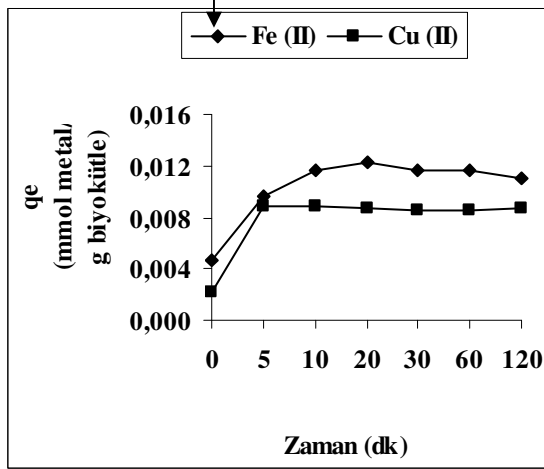
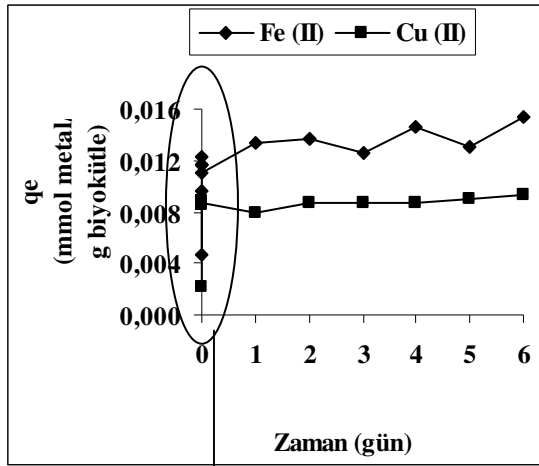
Şekil 7.17 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Bakır ve demir metallerinin tekli çözeltide, sudan hücre yüzeyine geçiş hızı kıyaslandığında, $\text{Cu}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$; hücre içine geçiş hızında ise $\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ olduğu gözlemlenmiştir. İkili metal setlerinde ise; Fe^{+2} - Cu^{+2} konsantrasyonu 2 ppm (0.036 mmol Fe^{+2}/L ; 0.031 mmol Cu^{+2}/L) iken, sudan hücre yüzeyine metal geçiş hızının $\text{Cu}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$, konsantrasyon 5 ppm (0.090 mmol Fe^{+2}/L ; 0.079 mmol Cu^{+2}/L) olduğunda Fe^{+2} ,nin hızını arttırmasına rağmen $\text{Cu}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$ sıralamasının korunduğu görülmektedir. 2 ppm'lik deneme setinde; hücre yüzeyinden, hücre içine metal geçiş hızı sıralaması ise $\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ şeklinde iken konsantrasyon artışı, demirin hücre içine geçiş hızını düşürmüştür ($\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$). (Çizelge 7.8).

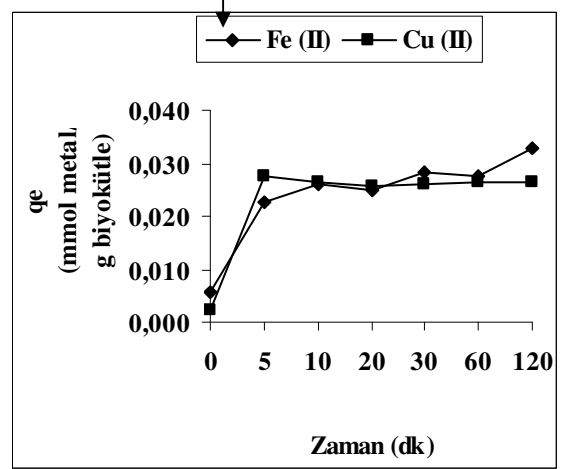
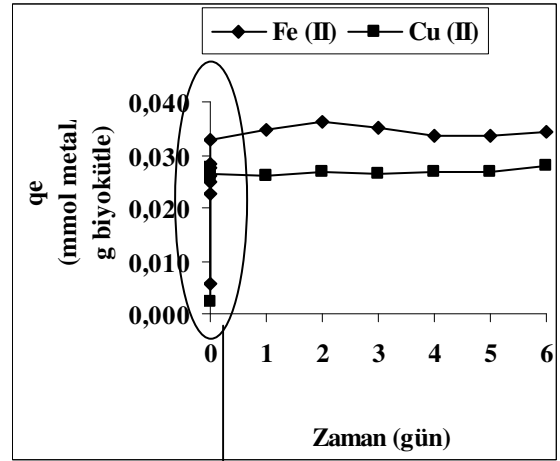
Çizelge 7.8 Fraksiyonlar arası geçiş hızları

		C_0 (mmol/L)	dC/dt ($\theta_t=5$ dk)	
			Duru Fazdan Hücre Yüzeyine Geçiş	Hücre Yüzeyinden Hücre İçine Geçiş
$Fe^{+2}-Cu^{+2}$	Fe^{+2}	0,036	0,67	0,50
		0,090	0,85	0,10
	Cu^{+2}	0,031	0,71	0,13
		0,079	0,89	0,05

Fe^{+2} ve Cu^{+2} , dan oluşan ikili metal sisteminde, birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarının (q); 0.015 mmol Fe^{+2} /g biyokütle ve 0.009 mmol Cu^{+2} /g biyokütle ($C_0=0.036$ mmol Fe^{+2} /L; 0.031 mmol Cu^{+2} /L) , Her bir metalin başlangıç konsantrasyonu arttırıldığında ise, q değeri 0.035 mmol Fe^{+2} /g biyokütle ve 0.028 mmol Cu^{+2} /g biyokütle değerlerine yükselmiştir ($C_0=0.090$ mmol Fe^{+2} /L; 0.079 mmol Cu^{+2} /L) (Şekil 7.18).



(a) ($C_0=0.036$ mmol Fe^{+2}/L ve 0.031 mmol Cu^{+2}/L)



(b) ($C_0=0.090$ mmol Fe^{+2}/L ve 0.079 mmol Cu^{+2}/L)

Şekil 7.18 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Cu biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

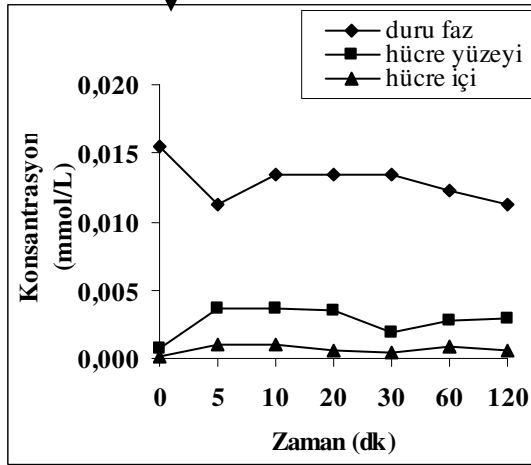
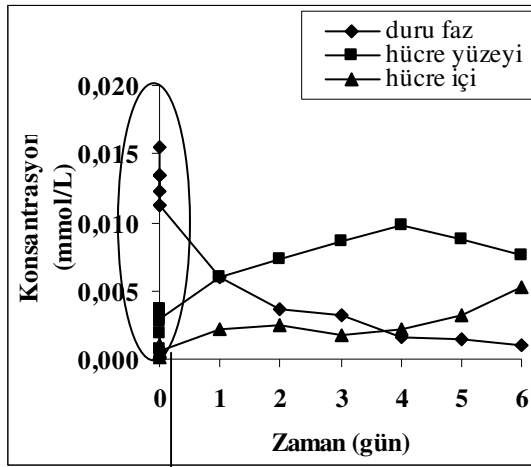
7.4.2.3 Bakır-Çinko Metal Ortamında *Synechocystis* sp. (E35) İzolatının Davranışı

Synechocystis sp. (E35) izolatının, bakır ve çinko metallerinin bir arada bulunduğu koşullardaki biyosorpsiyon/biyobirikim özelliklerini incelemek amacıyla;

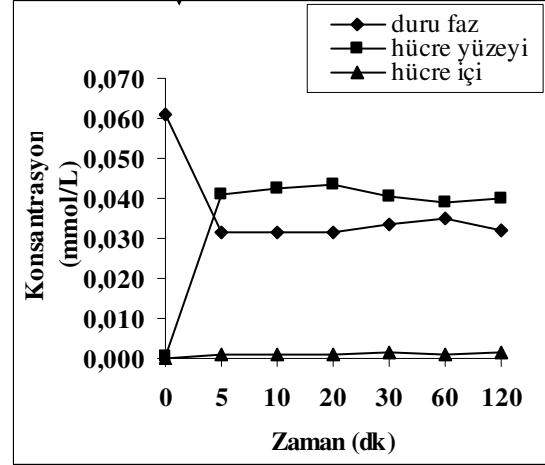
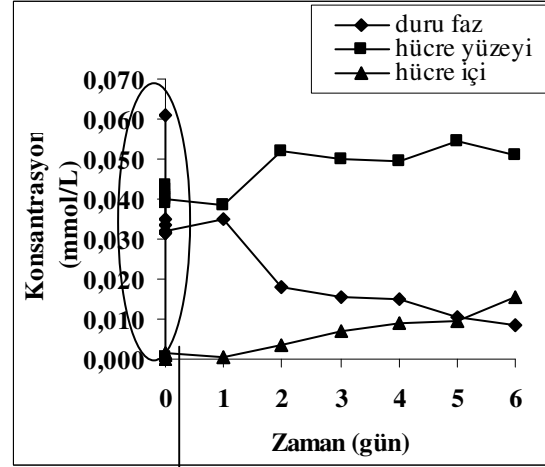
- C_0 : 1 ppm Cu^{+2} (0.016 mmol Cu^{+2}/L) ve 1 ppm Zn^{+2} (0.015 mmol Zn^{+2}/L)
- C_0 : 4 ppm Cu^{+2} (0.063 mmol Cu^{+2}/L) ve 4 ppm Zn^{+2} (0.061 mmol Zn^{+2}/L) içeren iki deneme seti kurulmuştur.

Cu^{+2} ve Zn^{+2} , den oluşan ikili metal sisteminde, 120. dakikaya kadar Zn^{+2} biyosorpsiyonunun çok yavaş ilerlediği, bu aşamadan sonra ise keskin bir hızla sudaki çinko konsantrasyonunun

azaldığı gözlemlenmektedir (Şekil 7.19.a). Sheng ve arkadaşları (2004) tarafından yapılan bir çalışmada; biyosorpsiyonun iki aşamalı bir davranış göstermesi biyokütleinin heterojen yapısına bağlanmaktadır.



(a) ($C_0=0.015$ mmol Zn^{+2}/L)



(b) ($C_0=0.061$ mmol Zn^{+2}/L)

Şekil 7.19 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^{\circ}C$, $pH=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Cu^{+2} ve Zn^{+2} ’den oluşan ikili metal sisteminde, Zn^{+2} iyonlarının hücre içindeki konsantrasyonu, her iki başlangıç konsantrasyonu için sırasıyla; 0.005 ve 0.015 mmol/L’dir. Bu değerler, çinkonun tekli biyosorpsiyon/biyobirikim değerlerinden daha yüksektir. Dolayısıyla, çözelti içinde Cu^{+2} iyonlarının bulunması, Zn^{+2} iyonunun biyobirikimini arttırmıştır (Sinerjistik) (Şekil 7.19). Cavet ve arkadaşları (2003) tarafından yapılan bir araştırmada, siyanobakterilerin, çinko ve bakır metallerinin bulunduğu ortamlarda homeostaz sistemlerini kullanarak, bu metalleri metabolik faaliyetlerinde kullandıkları vurgulanmıştır.

Cu^{+2} iyonları, 30. dakikaya kadar suda azalırken, 30. dakikadan sonra sudaki bakır

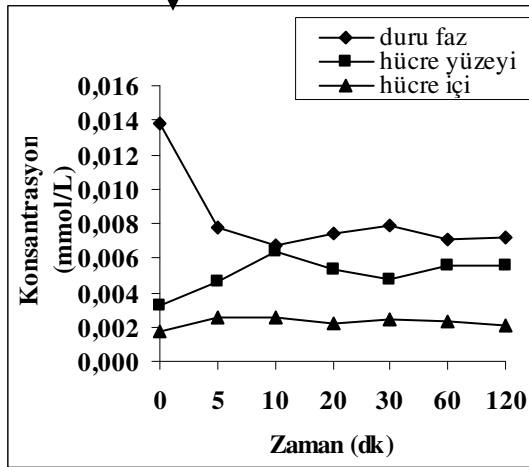
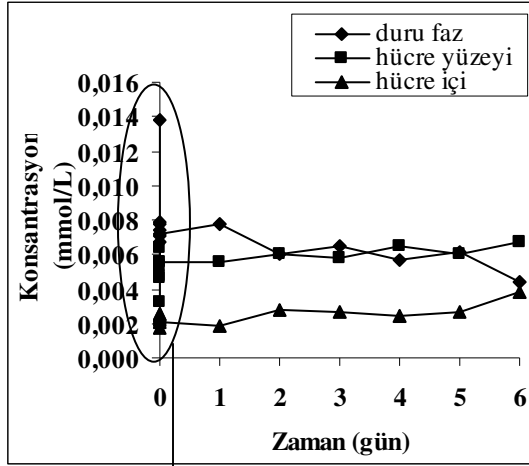
konsantrasyonu çok fazla değişmemiştir (Şekil 7.20.a). Çinko-bakır ikili biyosorpsiyon sisteminde, her bir metalin başlangıç konsantrasyonu arttırıldığında, bakırın biyosorpsiyonunun daha hızlı gerçekleştiği görülmektedir. Cu^{+2} - Zn^{+2} bimetalik biyosorpsiyon sisteminde, hücre içine alınan bakır konsantrasyonu 0.004 mmol/L'dir (Şekil 7.20.a). Her bir metalin başlangıç konsantrasyonu arttırıldığında, hücre içine alınan Cu^{+2} 0.021 mmol/L'ye ulaşmıştır (Şekil 7.20.b).

Tekli biyosorpsiyon/biyobirikim setinde; bakırın demirden daha hızlı hücre yüzeyine geçişi gözlemlenmiştir. İkili deneme setinde ise çinkonun hızını arttırdığı ve bakırı geçtiği görülmüştür. Metallerin tek başına olduğu setlerde, hücre yüzeyinden, hücre içine geçiş hızında ise bakırın, çinkoya kıyasla daha hızlı olduğu söylenebilir. İkili deneme setlerinde, bakırın yavaşladığı, çinkonun ise hızlandığı görülmüştür.

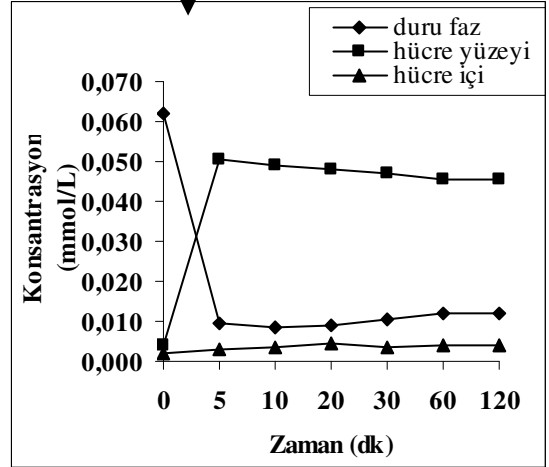
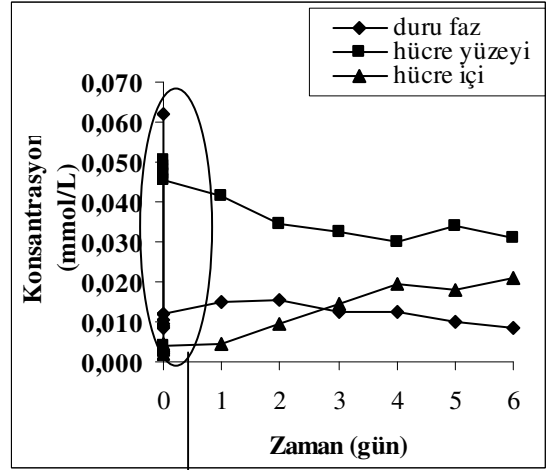
Bakır-çinko bimetalik iyon sisteminde, konsantrasyon artışı her iki metalin de sudan hücre yüzeyine geçiş hızını arttırmakla birlikte, konsantrasyon artışının, hız sıralamasını değiştirmedeği: $\text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ olduğu görülmektedir. Hücre yüzeyinden, hücre içine geçiş hızı incelendiğinde ise, 1 ppm'de (0.015 mmol Zn^{+2} /L; 0.016 mmol Cu^{+2} /L) $\text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ iken, konsantrasyon 4 ppm'e (0.061 mmol Zn^{+2} /L; 0.063 mmol Cu^{+2} /L) çıkarıldığında, metal hızının yaklaşık aynı olduğu: $\text{Zn}^{+2} \approx \text{Cu}^{+2}$ görülmektedir (Çizelge 7.9).

Çizelge 7.9 Fraksiyonlar arası geçiş hızları

		C_0 (mmol/L)	dC/dt ($\theta_t=5$ dk)	
			Duru Fazdan Hücre Yüzeyine Geçiş	Hücre Yüzeyinden Hücre İçine Geçiş
Zn^{+2} - Cu^{+2}	Zn^{+2}	0,015	0,60	0,33
		0,061	1,37	0,02
	Cu^{+2}	0,016	0,33	0,50
		0,063	0,87	0,02



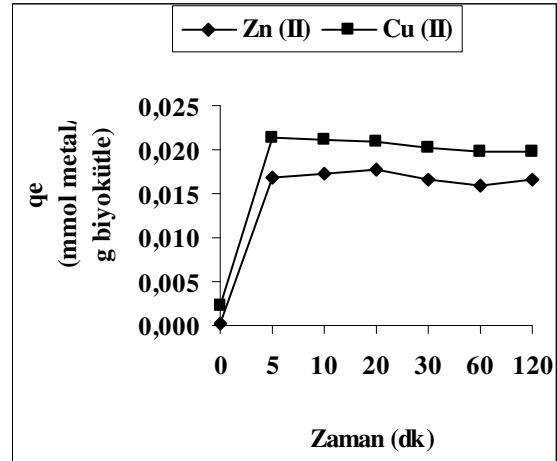
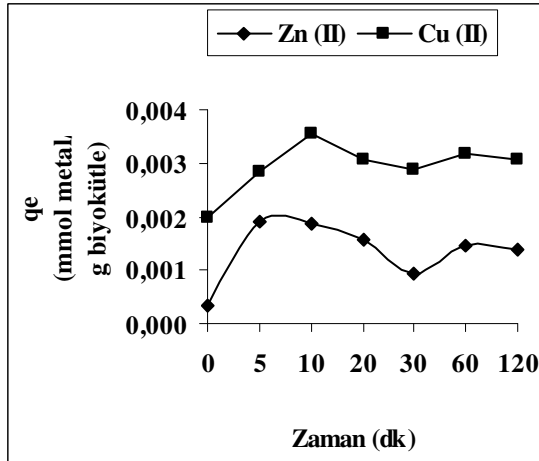
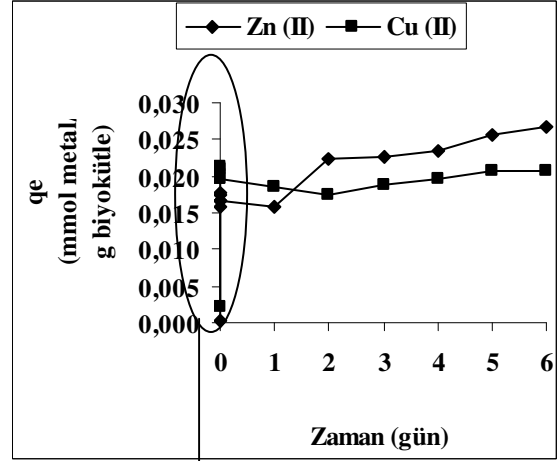
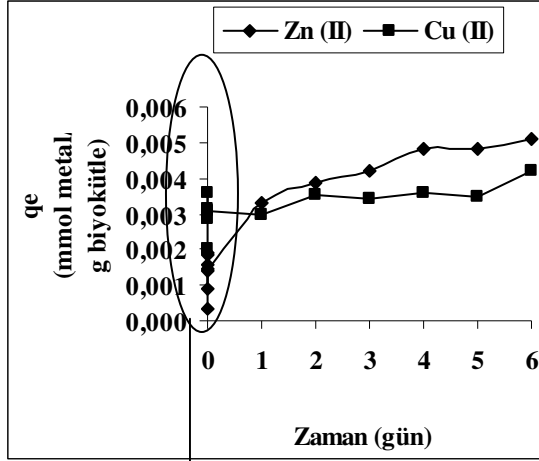
(a) (C₀=0.016 mmol Cu²⁺/L)



(b) (C₀=0.063 mmol Cu²⁺/L)

Şekil 7.20 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

Cu^{+2} ve Zn^{+2} , dan oluşan ikili metal sisteminde, birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarının (q); 0.004 mmol Cu^{+2} /g biyokütle ve 0.005 mmol Zn^{+2} /g biyokütle ($C_0=0.016$ mmol Cu^{+2} /L; 0.015 mmol Zn^{+2} /L) , Her bir metalin başlangıç konsantrasyonu arttırıldığında ise, q değeri 0.021 mmol Cu^{+2} /g biyokütle ve 0.027 mmol Zn^{+2} /g biyokütle değerlerine yükselmiştir ($C_0=0.063$ mmol Cu^{+2} /L; 0.061 mmol Zn^{+2} /L) (Şekil 7.21).



(a) ($C_0=0.016$ mmol Cu^{+2} /L ve 0.015 mmol Zn^{+2} /L)

(b) ($C_0=0.063$ mmol Cu^{+2} /L ve 0.061 mmol Zn^{+2} /L)

Şekil 7.21 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm)

7.4.3 Üçlü Metal Ortamında Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

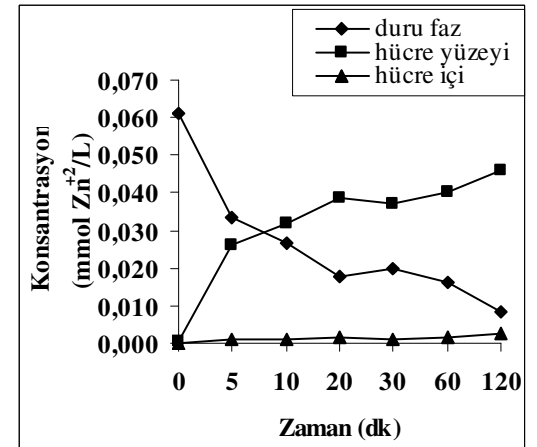
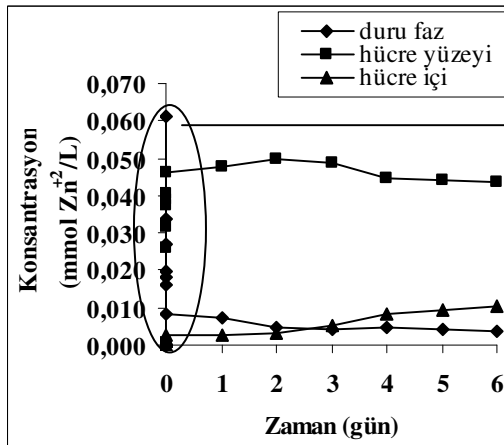
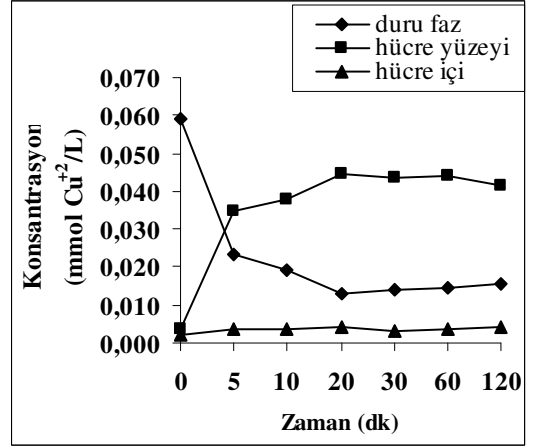
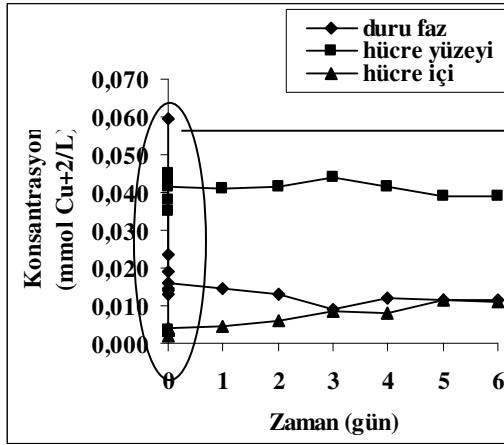
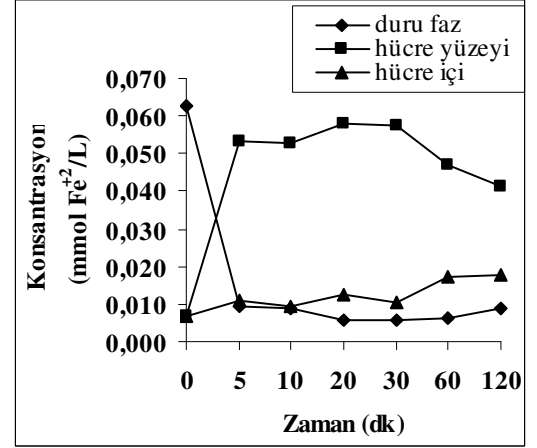
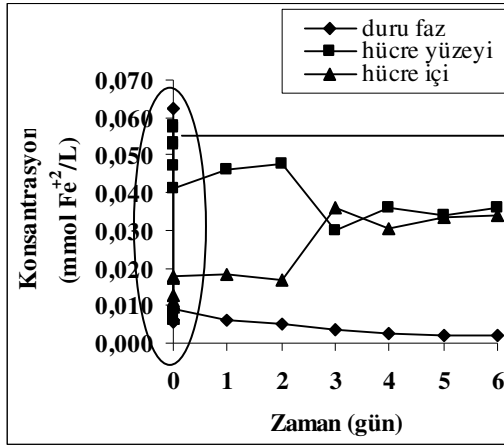
Birden fazla metalin bir arada bulunması, metallerin bağlanma bölgeleri için birbirleriyle yarışması ve metal konsantrasyonları gibi pek çok sebepten dolayı, tekli metal sistemlerinden farklı biyosorpsiyon davranışları sergilemektedirler (Al-Rub vd., 2006).

Bu çalışmada, üç metalin bir arada bulunması durumunda biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması, başlangıç konsantrasyonu 4 ppm Fe^{+2} (0.072 mmol/L), 4 ppm Cu^{+2} (0.063 mmol/L) ve 4 ppm Zn^{+2} (0.061 mmol/L) olarak yürütülmüştür.

Her üç metalin bir arada bulunması durumunda, sudan hücre yüzeyine metal geçiş hızı sıralamasının $\text{Zn}^{+2} \approx \text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ olduğu görülmektedir. Hücre yüzeyinden hücre içine geçiş hızı ise $\text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır (Çizelge 7.10).

Çizelge 7.10 Fraksiyonlar arası geçiş hızları

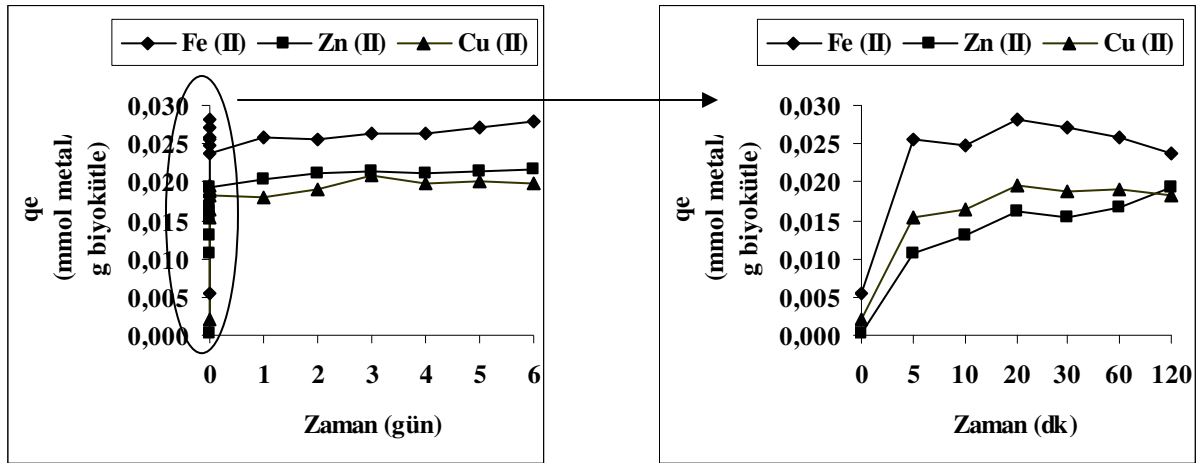
		C_0 (mmol/L)	dC/dt ($\theta_t=5$ dk)	
			Duru Fazdan Hücre Yüzeyine Geçiş	Hücre Yüzeyinden Hücre İçine Geçiş
$\text{Fe}^{+2}-\text{Cu}^{+2}-\text{Zn}^{+2}$	Fe^{+2}	0,072	0,89	0,09
	Cu^{+2}	0,061	0,86	0,03
	Zn^{+2}	0,063	0,89	0,04



Şekil 7.22 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm, C₀=0.072 mmol Fe²⁺/L, 0.063 mmol Cu²⁺/L ve 0.061 mmol Zn²⁺/L)

Her üç metalin bir arada bulunması halinde, deneme süresi sonunda suda kalan metal konsantrasyonu; Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} iyonları için sırasıyla; 0.002, 0.004 ve 0.011 mmol/L olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 7.22).

Synechocystis sp. (E35) izolatının, üçlü metal sisteminde birim biyokütle başına düşen metal miktarı, Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} için sırasıyla; 0.028 mmol Fe^{+2} /g biyokütle, 0.022 mmol Zn^{+2} /g biyokütle ve 0.020 mmol Cu^{+2} /g biyokütle olduğu görülmektedir (Şekil 7.23). Elde edilen sonuçlardan, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının bu üç metalin bir arada bulunması durumunda tercih sırasının $\text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ olduğu belirlenmiştir. Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmasından önce, bu metallerin *Synechocystis* sp. (E35) izolatına toksik seviyelerini belirlemek amacıyla yapılan ön çalışmada da benzer sonuçlar elde edildiği görülmektedir (Çizelge 7.1). Aynı zamanda elektron mikroskobu görüntülerinde de *Synechocystis* sp. (E35), ortamda Fe^{+2} iyonları bulunduğu koşullarda, yüksek oranda hücre dışı polisakkaritler olduğu düşünülen yapılar meydana getirdiği tespit edilmiştir (Şekil 7.32). Bu hücre dışı yapılara, Zn^{+2} ve Cu^{+2} a maruz kalmış izolatın görüntülerinde de rastlanmıştır. Ancak HDP yoğunluklarının, demir metaline maruz kalmış izolata nazaran daha az olduğunu söylemek mümkündür (Şekil 7.35 ve 7.37).



Şekil 7.23 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe-Cu-Zn biyosorpsiyonu/biyobirikimi ($T=23^\circ\text{C}$, $\text{pH}=7$, $V=40$ ml, Çalkalama Hızı=100 rpm, $C_0=0.072$ mmol Fe^{+2} /L, 0.063 mmol Cu^{+2} /L ve 0.061 mmol Zn^{+2} /L)

Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması süresince, birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarının, metalin türüne, konsantrasyonuna ve canlının metabolik ihtiyaçlarına göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir (Çizelge 7.11)

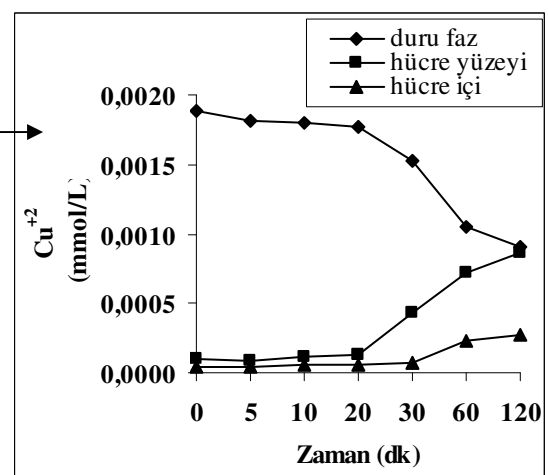
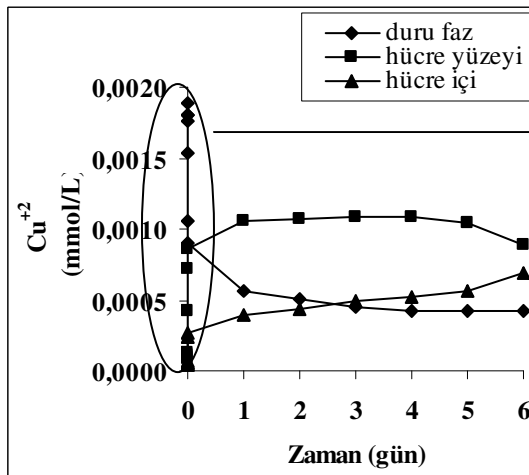
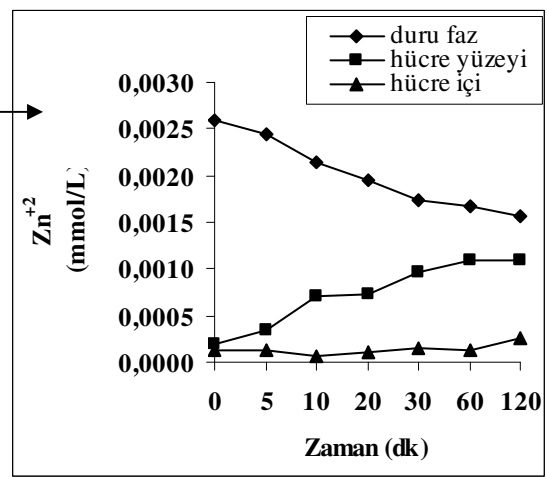
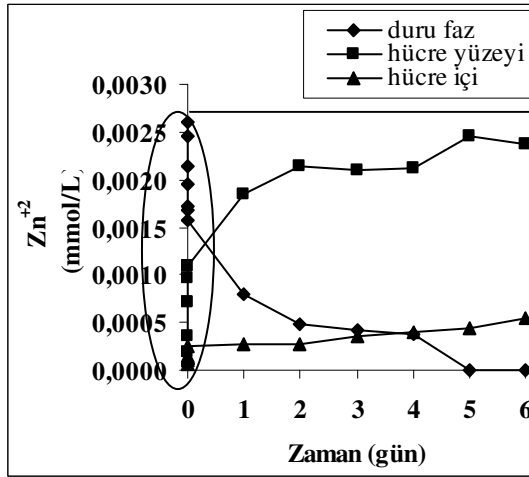
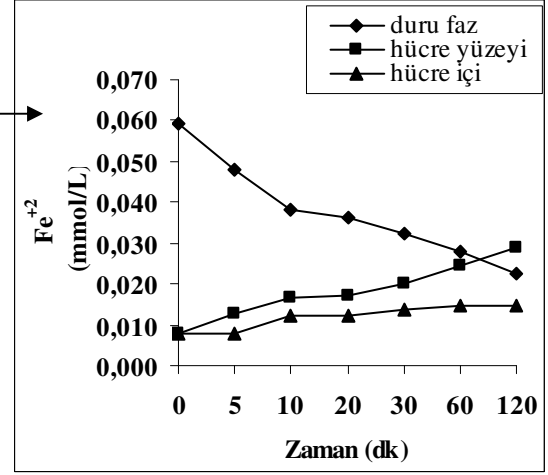
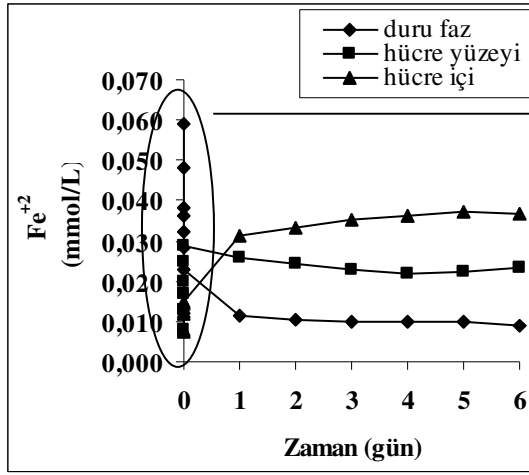
Çizelge 7.11 Farklı metal kombinasyonlarında birim kütle başına biyosorplanan metal miktarları (q)

Metal		C ₀		q (mmol/g biyokütle)
		ppm	mmol/L	
Fe ⁺²	Fe ⁺²	10	0,179	0,071
		15	0,269	0,101
	Fe ⁺² + Cu ⁺²	2	0,036	0,015
		5	0,090	0,035
	Fe ⁺² + Zn ⁺²	5	0,090	0,040
		7,5	0,134	0,052
	Fe ⁺² + Cu ⁺² + Zn ⁺²	4	0,072	0,028
Cu ⁺²	Cu ⁺²	3	0,047	0,014
		5	0,079	0,025
	Cu ⁺² + Fe ⁺²	2	0,031	0,009
		5	0,079	0,028
	Cu ⁺² + Zn ⁺²	1	0,016	0,004
		4	0,063	0,021
	Cu ⁺² + Zn ⁺² + Fe ⁺²	4	0,061	0,020
Zn ⁺²	Zn ⁺²	7	0,107	0,039
		10	0,153	0,053
	Zn ⁺² + Fe ⁺²	5	0,076	0,027
		7,5	0,115	0,041
	Zn ⁺² + Cu ⁺²	1	0,015	0,005
		4	0,061	0,027
	Zn ⁺² + Fe ⁺² + Cu ⁺²	4	0,063	0,022

7.4.4 Doğal Ortamdan Alınmış Numunelerde Biyosorpsiyon ve Biyobirikim

Mikroorganizmalar, toksik metallerin ekosistemdeki taşınımında önemli rollere sahiptirler. Özellikle, fizikokimyasal ve biyolojik mekanizmalarla, metallerin çözünen ve çözünmeyen faz arasındaki taşınımında görev aldıkları bilinmektedir (Gadd, 2001). Mikroorganizmaların bu özelliği kullanılarak, kirletilmiş alıcı ortamların iyileştirilmesi mümkün olabilmektedir. Literatürde, yapılan biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmaları incelendiğinde, denemelerin genellikle sentetik metal çözeltileri ile yapıldığı görülmektedir. Bu çalışmalar, biyoteknolojik yöntemlerle alıcı ortamların iyileştirilmesinde yol gösterici olmakla birlikte yeterli değildir. Bu nedenle, Küçükçekmece Gölü'nden izole edilen *Synechocystis* sp. (E35) izolatının doğal ortamdaki davranışlarını, laboratuvar ölçeğinde inceleyebilmek amacıyla gölden alınan örneklerde de biyosorpsiyon/biyobirikim çalışması yürütülmüştür.

Sentetik çözeltilerle yapılan denemelerde, üç metalin bir arada bulunması halinde hücre içine Fe^{+2} alınımları 0.034 mmol/L iken, doğal ortamda 0.037 mmol/L değerine ulaştığı görülmüştür. Bakır metali için ise doğal ortam koşullarının hücre içine alınımlarını azalttığı söylenebilir. Üç metalin bir arada bulunduğu koşullarda 0.011 mmol/L değerindeki hücre içine alınımları, doğal ortamın denendiği bu aşamada 0.0007 değerine düşmüştür. Bunun sebebi, doğal ortam koşullarındaki bakır konsantrasyonunun 0.12 ppm gibi düşük bir değerde olmasından kaynaklanabilir. Yani sentetik çözeltideki bakır konsantrasyonunun, doğal ortamdan alınan numuneye nazaran yüksek olması, metalinin hücre içine girişi için baskı yaptığı düşünülmektedir. Bunun yanında, ortamda bulunan farklı iyonların (demir, çinko dışında) antagonistik etkisiyle, bakırın hücre içine alınımlarının azaldığı düşünülmektedir. Çinko da bakır gibi, üç metalin bir arada bulunduğu sentetik çözeltideki hücre içi konsantrasyonunu 0.010 mmol/L iken, doğal ortamdan alınan numunedeki hücre içi konsantrasyonu 0.0005 mmol/L olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 7.24).



Şekil 7.24 *Synechocystis* sp. (E35) izolatının doğal ortamdan alınmış su numunesinden biyosorpsiyonu/biyobirikimi (T=23°C, pH=7, V=40 ml, Çalkalama Hızı=100 rpm, C₀=3.30 ppm Fe⁺², 0.17 ppm Zn⁺² ve 0.12 ppm Cu⁺²)

7.5 Biyosorpsiyon/Biyobirikim Çalışmasının İstatistiksel Değerlendirilmesi

Yapılan çalışmanın sayısal değerlendirilmesinde, verilerin anlamlı olup olmadığı Ki-Kare test yöntemiyle analiz edilmiştir. Bu istatistiksel analiz için, tekli ve çoklu metal setlerindeki, her bir metal kombinasyonuna ait “n=13” adet veri kullanılmıştır. Deneme öncesi ve sonrası veriler kullanılarak “Ki-Kare” değerleri hesaplanmıştır (Denklem 7.1).

$$\text{Ki-kare değeri} = \sum [(a-b)^2/b] \quad (7.1)$$

a= Deneme sonrası ölçüm değeri

b= Deneme öncesi ölçüm değeri

S.D.= Serbestlik derecesi (n-1=12)

Elde edilen Ki-Kare değerleri, $\alpha = 0.995$ güven aralığında ve S.D=12 olmak üzere Ek 6’daki Ki-Kare tablosu ile kıyaslanmıştır. Yapılan kıyaslama sonucunda, her bir değer için elde edilen Ki-Kare test değerlerinin tamamı, tablo değerinden küçük çıkmıştır (Çizelge 7.12). Dolayısıyla, H_0 hipotezi kabul edilerek; deneme öncesindeki ve sonrasındaki ölçüm değerleri arasında, kütle farkının olmadığı görüşüne varılmıştır.

Çizelge 7.12 Ki-Kare (Chi-Square) testi sonuçları

Metal		C (mmol/L)		Ki-Kare Değerleri
		Deneme Öncesi	Deneme Sonrası	
Fe ⁺²	Fe ⁺²	0,179	0,178	0,0017*
		0,269	0,256	0,0073*
	Fe ⁺² + Cu ⁺²	0,036	0,039	0,0012*
		0,090	0,087	0,0014*
	Fe ⁺² + Zn ⁺²	0,090	0,101	0,0031*
		0,134	0,132	0,0013*
	Fe ⁺² + Cu ⁺² + Zn ⁺²	0,072	0,072	0,0013*
	Doğal Ortam	0,074	0,69	0,0067*
Cu ⁺²	Cu ⁺²	0,047	0,047	0,0027*
		0,079	0,077	0,0030*
	Cu ⁺² + Fe ⁺²	0,031	0,029	0,0012*
		0,079	0,077	0,0356*
	Cu ⁺² + Zn ⁺²	0,016	0,015	0,0012*
		0,063	0,061	0,0012*
	Cu ⁺² + Zn ⁺² + Fe ⁺²	0,061	0,061	0,0007*
	Doğal Ortam	0,002	0,002	0,0067*
Zn ⁺²	Zn ⁺²	0,107	0,103	0,0010*
		0,153	0,142	0,0048*
	Zn ⁺² + Fe ⁺²	0,076	0,072	0,0016*
		0,115	0,103	0,0052*
	Zn ⁺² + Cu ⁺²	0,015	0,014	0,0020*
		0,061	0,075	0,0341*
	Zn ⁺² + Cu ⁺² + Fe ⁺²	0,063	0,063	0,0018*
	Doğal Ortam	0,003	0,003	0,0001*

*Bu değerler “α” değerinden küçüktür.

7.6 Biyosorpsiyon İzotermi

Genellikle, biyokütle tarafından biyosorbe edilen madde miktarı, sabit sıcaklıkta konsantrasyonun bir fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Elde edilen fonksiyon ise “adsorpsiyon/biyosorpsiyon izotermi” şeklinde isimlendirilmektedir. Yapılan araştırmada, izoterm belirlenirken, sıcaklık sabit tutulurken farklı konsantrasyonlardaki metal çözeltileri ile biyosorpsiyon çalışmaları sürdürülmüştür. Biyosorpsiyon denemelerinde yaklaşık 24 saat sonra metal konsantrasyonunun dengeye vardığı görülmüştür. Bu nedenle izoterm hesaplamalarında 24. saatteki metal konsantrasyonu, denge konsantrasyonu olarak kullanılmıştır.

Adsorpsiyon ve biyosorpsiyon çalışmalarında, Freundlich, Langmuir tarafından geliştirilen eşitlikler en sık kullanılan izoterm modelleridir (Metcalf-Eddy, 2003).

1912 yılında ampirik olarak çıkarılan Freundlich izotermi Denklem 7.1’deki şekilde ifade edilmektedir.

$$q_e = K_F C_e^{1/n} \quad (7.1)$$

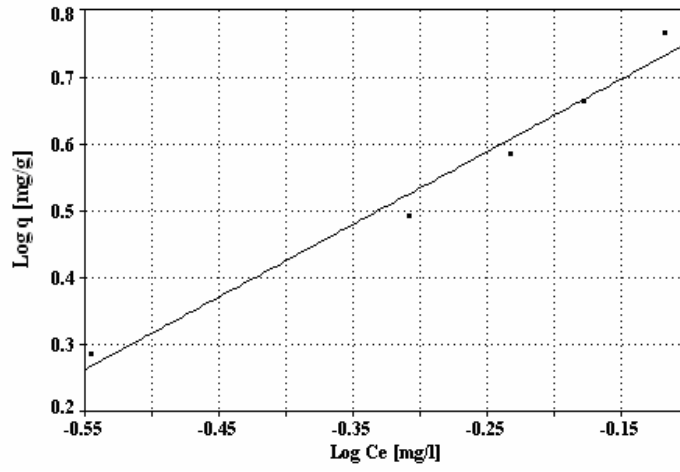
q_e = Birim biyokütle başına biyosorbe olunan metal miktarı, mg metal /g biyokütle

C_e = Reaksiyonun dengeye ulaştığı andaki metal konsantrasyonu, mg/L

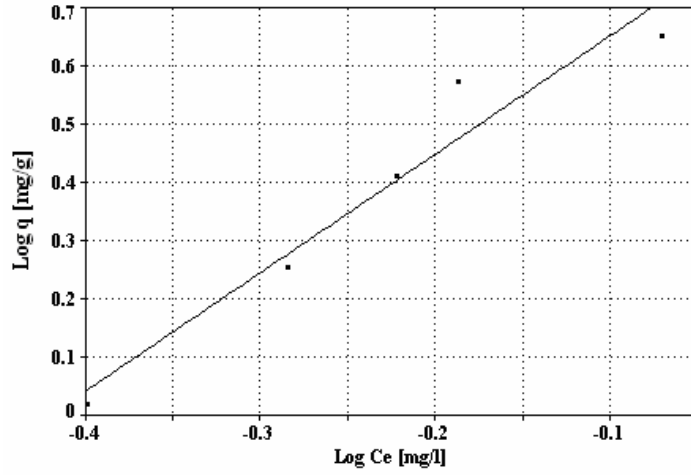
K_F = Freundlich kapasite faktörü

$1/n$ = Freundlich şiddet parametresi

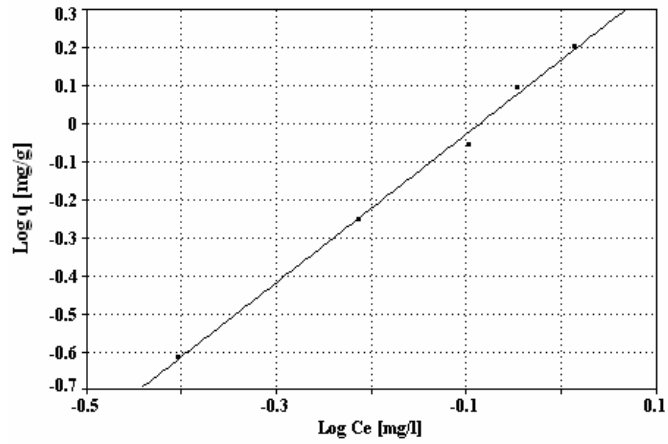
Freundlich ve Langmuir biyosorpsiyon modeline ait parametreler “TableCurve Windows” programı kullanılarak belirlenmiştir (Çizelge 7.13 ve 7.14).



Şekil 7.25 Fe (II) metali için Freundlich İzotermi



Şekil 7.26 Zn(II) metali için Freundlich İzotermi



Şekil 7.27 Cu (II) metali için Freundlich İzotermi

Çizelge 7.13 *Synechocystis* sp. izolatının Freundlich izotermi sabitleri (pH 7, T= 23°C, t=144 saat)

Metaller	$q_e = K_F C_e^{1/n}$		
	K_F	n	R^2
Fe^{+2}	0,85	0,92	0,97
Zn^{+2}	0,85	0,49	0,94
Cu^{+2}	0,16	0,51	0,99

Adsorpsiyon kapasitesi (K_F) değerinin, Fe^{+2} ve Zn^{+2} metallerinde daha yüksek olduğu görülmektedir (Çizelge 7.13). *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe^{+2} ve Zn^{+2} metallerini Cu^{+2} 'a kıyasla daha iyi biyosorbe ettiğini söylemek mümkündür.

Langmuir izotermi ise Denklem 7.2'deki oransal ifade ile açıklanmaktadır.

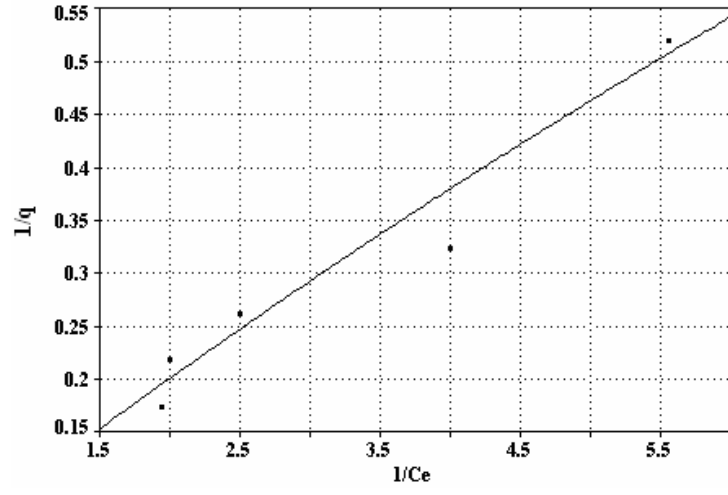
$$q_e = abC_e / (1 + bC_e) \quad (7.2)$$

q_e = Birim biyokütle başına biyosorbe olunan metal miktarı, mg metal /g biyokütle

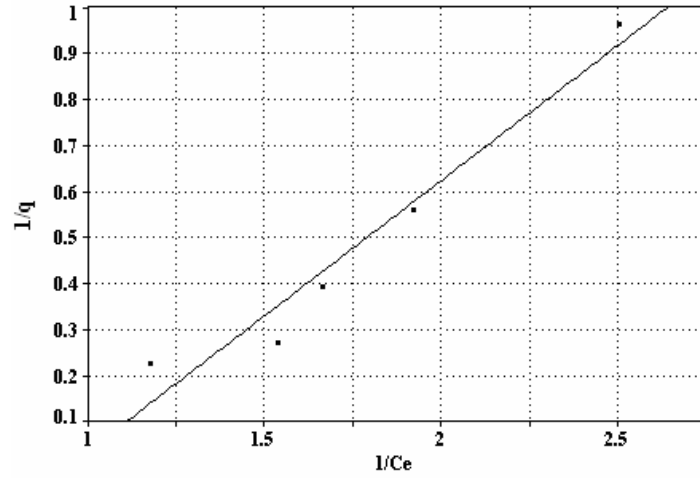
C_e = Reaksiyonun dengeye ulaştığı andaki metal konsantrasyonu, mg/L

a = Maksimum biyosorpsiyon kapasitesi (mg/g)

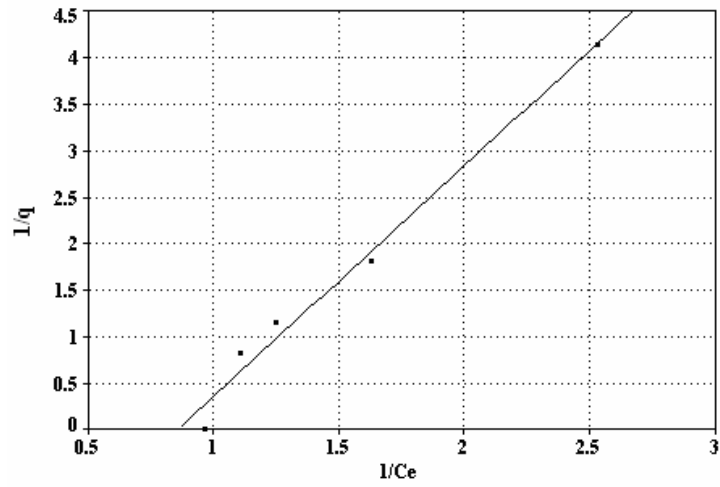
b =Biyosorbent ile biyosorbat arasındaki ilgiyi ifade eden sabit (L/mg)



Şekil 7.28 Fe (II) metali için Langmuir İzotermi



Şekil 7.29 Zn(II) metali için Langmuir İzotermi



Şekil 7.30 Cu (II) metali için Langmuir İzotermi

Çizelge 7.14 *Synechocystis* sp. izolatının Langmuir izotermi sabitleri (pH 7, T= 23°C, t=144 saat)

Metaller	$1/q_e = 1/(abC_e) + 1/a$		
	a	b	R ²
Fe ⁺²	37,03	0,32	0,95
Zn ⁺²	(-)1,81	0,94	0,95
Cu ⁺²	(-)0,46	0,86	0,98

"a" maksimum biyosorpsiyon kapasitesini ve "b" sorbent ile sorbat arasındaki ilgiyi ifade etmektedir (İleri, 2006). Dolayısıyla, "b"nin değeri düştükçe, siyanobakteri hücresi ile metal arasındaki ilgi artmaktadır. Langmuir izotermi sabitleri incelendiğinde, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, en yüksek "a" değeri (37.03) ve en düşük b değeri (0.32) Fe⁺² sonuçlarında görülmektedir (Çizelge 7.14). *Synechocystis* sp. (E35) izolatının en iyi demir metalini biyosorbe ettiğini söylenebilir.

Synechocystis sp. (E35) izolatı ile yapılan Fe⁺², Zn⁺² ve Cu⁺² biyosorpsiyon denemeleri sonucu elde edilen korelasyon katsayıları (R²) karşılaştırıldığında, biyosorpsiyonun hem Freundlich hem de Langmuir izoterm modeline uyduğu görülmektedir.

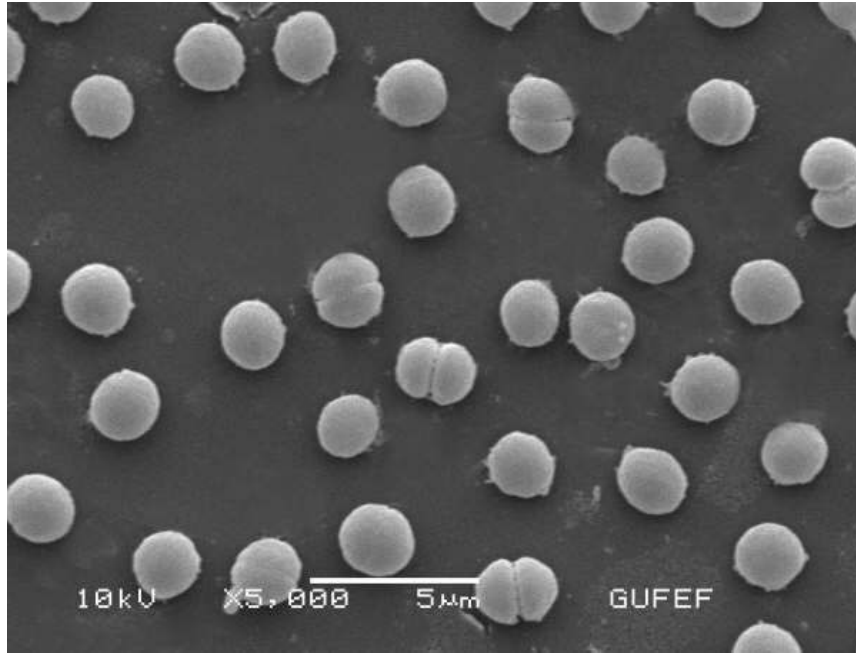
7.7 Elektron Mikroskobu Analizleri

Bu bölümde biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmaları ile aynı koşullarda inkübasyona bırakılmış siyanobakteri hücrelerinin elektron mikroskobu görüntüleri ve görüntülerin elemental analiz sonuçları yer almaktadır.

Elektron mikroskobu çekimleri için; kontrol, 5 ppm Cu^{+2} , 10 ppm Zn^{+2} ve 10 ppm Fe^{+2} olmak üzere 4 farklı kültür hazırlanmıştır. Kontrol olarak kullanılan hücre kültürleri ağır metal içermemektedir. 144 saatlik inkübasyona bırakılan kültürlerde, siyanobakteri hücrelerinin yapısında meydana gelen değişiklikler elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir. Elektron mikroskobu çekimlerinden sonra, X-ray analizörü (Energy dispersive X-ray spectroscopy, EDS) ile görüntüsü çekilen alanlardaki element dağılımları belirlenmiştir.

7.7.1 Kontrol Hücrelerinin Elektron Mikroskobu Görüntüleri

Kontrol olarak, BG11 besiyerinde inkübasyona bırakılmış ve ağır metal ilave edilmemiş *Synechocystis* sp. hücreleri ile elektron mikroskobu çekimleri yapılmıştır (Şekil 7.31).



Şekil 7.31 Kontrol siyanobakteri hücrelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri

Şekil 7.31’de görülen kontrol hücre görüntülerinin enerji dağıtımli X-ray analizörü (Energy dispersive X-ray spectroscopy, EDS) ile yapılan elemental analiz sonuçlarında, spektrumdaki metallerin % 0.33’ünün demir olduğu görülmüştür (Çizelge 7.15). Kontrol kültüre metal uygulanmamıştır, spektrumda görülen demir ise besiyerinden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 7.15 Kontrol hücrelerinin EDS sonuçları

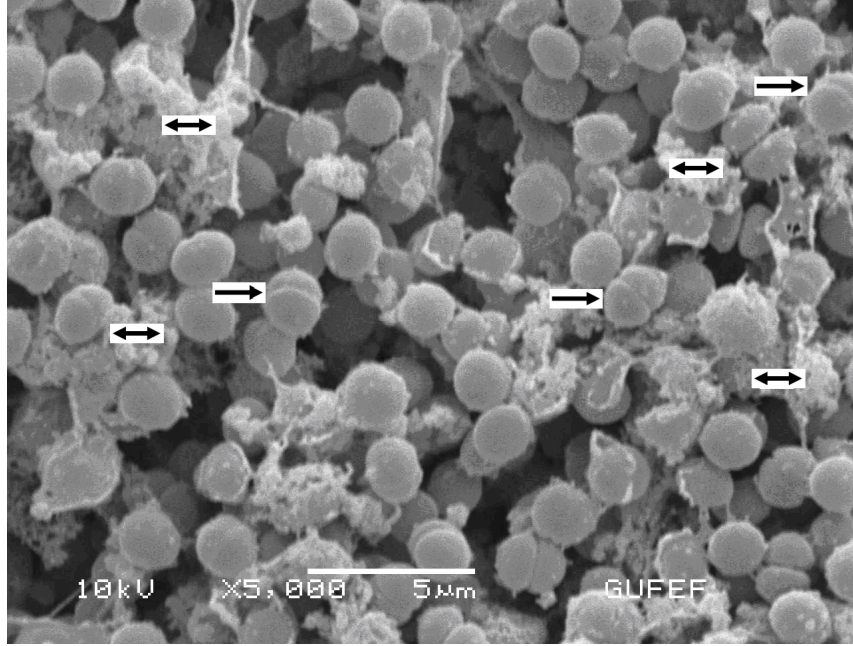
Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	38,77	42,22	9,17	2,28	1,56	5,67	0,33	0,00	0,00	100,00

7.7.2 Fe⁺² Metalinin Siyanobakteri Hücrelerine Etkisi

Fe elementi; yer kabuğunda en çok bulunan elementler arasında yer almaktadır. (Benesova et al., 2000). Demir bakteriler de dahil olmak üzere çoğu organizma için enzimatik reaksiyonlarda kofaktör olarak kullanılan önemli elementler arasında yer almaktadır. Kofaktör olarak demir kullanan enzimler, trikarboksilik asit çevrimi (TCA), solunum ve DNA sentezi gibi metabolizmanın önemli reaksiyonlarında görev almaktadır (Masse et al., 2007).

Bazı araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda, çoğu canlıda olduğu gibi siyanobakterilerde de optimum büyümenin sağlanabilmesi için demir elementinin gerekliliği vurgulanmıştır (Brown et al, 2005). Bununla birlikte; bu çalışmada demir içermeyen BG11 besiyerinin kullanıldığı inkübasyon denemeleri yapılmış ve hücre büyümesinin gerilediği gözlemlenmiştir. Böylece çalışılan siyanobakteri izolatlarının hücresel fonksiyonlarını gerçekleştirebilmeleri için demire ihtiyaç duydukları görülmüştür.

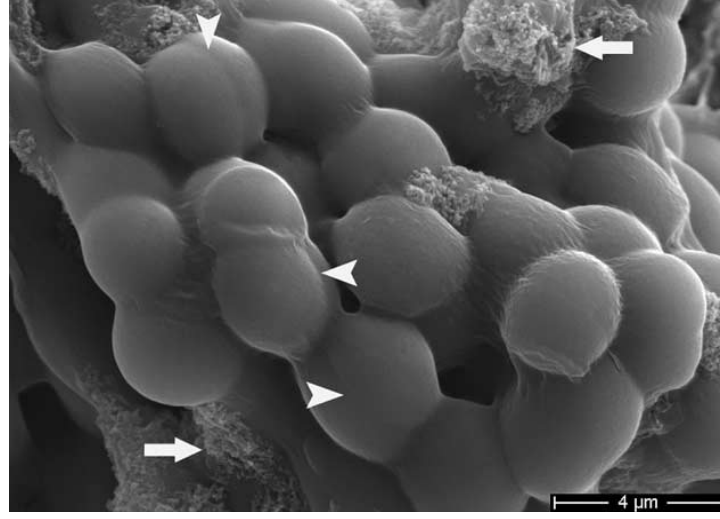
Bu çalışmada Küçükçekmece Gölü'nden izole edilen *Synechocystis* sp., diğer izolatlar arasından dirençli olması açısından bir model organizma olarak seçilmiştir. *Synechocystis* sp., tek hücreli ve gram negatif bakteri grubuna dahil olan bir siyanobakteri türüdür. Diğer gram negatif bakteriler gibi, demiri önce dış zardan daha sonra ise iç hücre zarından geçirerek bünyesine almaktadır.



Şekil 7.32 10 ppm'lik Fe^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri; çoğalma sırasındaki hücre bölünmesini (tek taraflı ok) ve hücre dışı polimerik (polisakkarit) yapıları (çift taraflı ok) göstermektedir

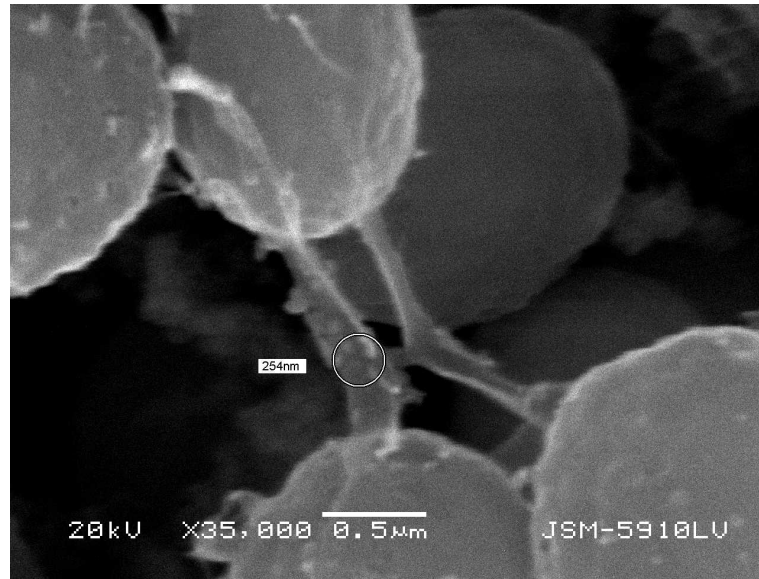
10 ppm'lik Fe^{+2} 'ye maruz bırakılan *Synechocystis* sp. E35 izolatı, hücrelerinin elektron mikroskobu görüntülerinde, kontrol hücrelerde rastlanmayan hücre dışı polimerik (ekzopolisakkarit) yapılar (HDP) oluştuğu gözlemlenmiştir (Şekil 7.32). Brown ve arkadaşları (2005) tarafından, demir konsantrasyonu yüksek bir sıcak su kaynağından izole edilen *Synechocystis* sp., izolatı ile yapılan bir çalışmada da benzer yapılar görülmektedir (Şekil 7.33). Şekil 7.34'te daire içine alınan bölgede, iki siyanobakteri hücresi arasında meydana gelen HDP yapıları görülmektedir. Bu bölgenin, taramalı elektron mikroskobuna bağlı EDS (enerji dağıtımli X-ray analizörü) yardımıyla yapılan elemental analiz sonuçlarında spektrumda görünen metallerin % 7.81'inin demir olduğu bulunmuştur (Çizelge 7.17 ve Şekil Ek 5.6). Aynı spektrumda bakır ve çinkoya rastlanmamıştır. Ayrıca 10 ppm'lik Fe^{+2} 'ye maruz bırakılan *Synechocystis* sp., izolatının elektron mikroskobu görüntülerinde hücre bölünmesi net bir şekilde görülmektedir (Şekil 7.32). Dolayısıyla siyanobakteri hücrelerinin 10 ppm'lik

Fe^{+2} metalinin hücrede meydana getireceği toksik etkileri azaltarak veya gidererek canlılığını devam ettirdiği görülmektedir.



Şekil 7.33 Yüksek konsantrasyonda demir içeren bir sıcak su kaynağından izole edilen *Synechocystis* sp., hücrelerinin taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri

Elektron mikroskobu görüntülerinin elemental analizi yapılırken üç farklı bölge analizi yapılmıştır. Öncelikle, elektron mikroskobuna bağlı monitördeki görüntünün tamamına ait elemental analiz yapılmış, ikinci analizde ise; görüntüde metalin toplandığı bölge olduğu düşünülen alanda, nokta analizi yapılmıştır. Üçüncü analizde ise, metalin az bulunduğu düşünülen bölgede, nokta analizi yapılarak sonuçlar birlikte değerlendirilmiştir.



Şekil 7.34 10 ppm'lik Fe^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücreleri arasındaki HDP yapıların taramalı elektron mikroskobu (SEM) görüntüleri

Çizelge 7.16 10 ppm’lik Fe⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	57,10	26,72	5,07	0,32	6,17	1,57	3,05	0,00	0,00	100,00

Çizelge 7.17 10 ppm’lik Fe⁺² metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde oluşan hücre dışı yapıların EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	53,22	20,78	4,58	0,34	10,94	2,32	7,81	0,00	0,00	100,00

Çizelge 7.18 10 ppm’lik Fe+2 metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde demirin az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları

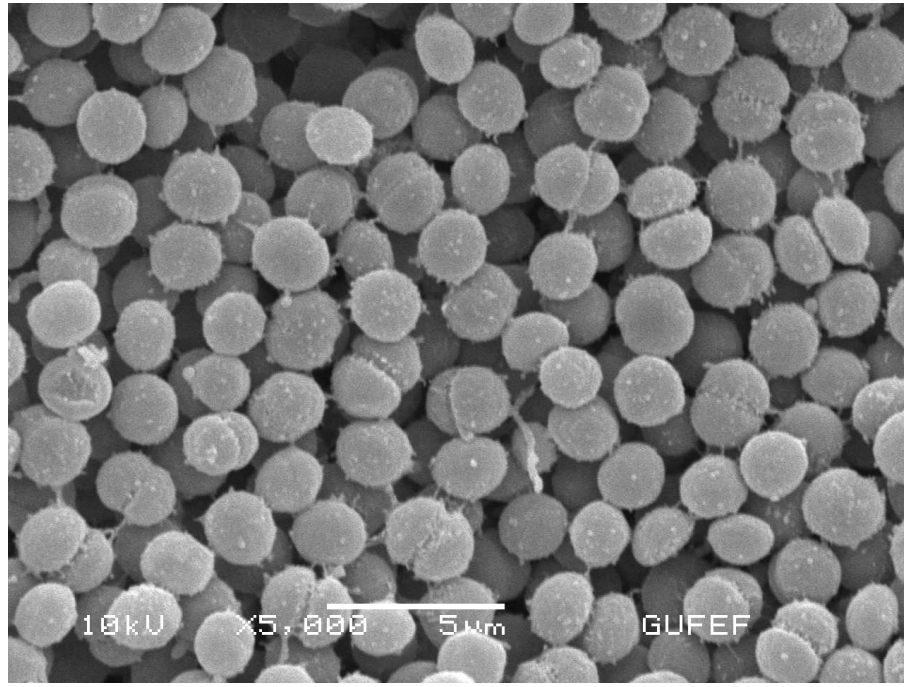
Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	46,32	39,77	5,65	0,73	3,87	1,71	1,96	0,00	0,00	100,00

Elektron mikroskobu çalışmalarında, elde edilen görüntülerin EDS analizleri yapılırken, demir yoğunluğunun az olduğu bölgeler ayrı olarak incelenmiştir. Yapılan EDS analizi sonucunda bu bölgede, spektrumda görünen metallerin % 1.96’sının demir olduğu görülmüştür (Çizelge 7.18 ve Şekil Ek 5.5).

7.7.3 Zn⁺² Metalinin Siyanobakteri Hücrelerine Etkisi

Çinko, DNA’nın kopyalanması (replication) ve hücre bölünmesi gibi temel hücresel fonksiyonlarda görev almaktadır (Choudhury ve Srivastava, 2001). Ayrıca enzim ve protein yapısında rol alan, yaşam için önemli iz elementlerden birisidir. Yüksek çinko konsantrasyonları ise tiyol gruplarıyla reaksiyona girerek, hücredeki hayati reaksiyonları bloke edebilmektedir (Hantke, 2005).

Bu araştırmada çinkonun genellikle hücre yüzeyinde toplandığı, biyosorpsiyon/biyobirikim denemelerinin birinci gününden itibaren ise, hücre içine geçişin olduğu görülmüştür. Şekil 7.35’deki elektron mikroskobu görüntüsünde, 10 ppm’lik Zn⁺²,ya maruz bırakılan *Synechocystis* sp. hücrelerinin hücre dışı polisakkarit yapılar oluşturdukları görülmektedir. Bu yapıların çinkonun toksik etkilerine karşı *Synechocystis* sp. hücrelerinin oluşturduğu bir savunma mekanizması olduğu düşünülmektedir.



Şekil 7.35 10 ppm’lik Zn^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin SEM görüntüleri

Şekil 7.35’deki genel elektron mikroskobu görüntüsüne ait EDS sonuçlarında, spektrumda görünen metallerin % 0.72’si Fe^{+2} ve % 4.5’i Zn^{+2} ’dir (Çizelge 7.19).

Elektron mikroskobu çalışmalarında, elde edilen görüntülerin EDS analizleri yapılırken, çinko yoğunluğuna göre ayrı ayrı incelenmiştir. Yapılan EDS analizi sonucunda çinkonun yoğun olduğu bölgenin EDS analizi sonuçlarında, % 5.77 (Çizelge 7.20 ve Şekil Ek 5.8), çinkonun az olduğu bölgenin sonuçları incelendiğinde ise; genel görüntüdeki çinko oranının altında, % 3.45 oranında çinko görülmüştür (Çizelge 7.21 ve Şekil Ek 5.9).

Çizelge 7.19 10 ppm’lik Zn^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Mn	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	48,45	33,61	4,40	0,53	5,72	1,79	0,28	0,72	0,00	4,50	100,00

Çizelge 7.20 10 ppm’lik Zn^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	37,30	40,53	6,14	0,61	6,39	1,99	1,26	0,00	5,77	100,00

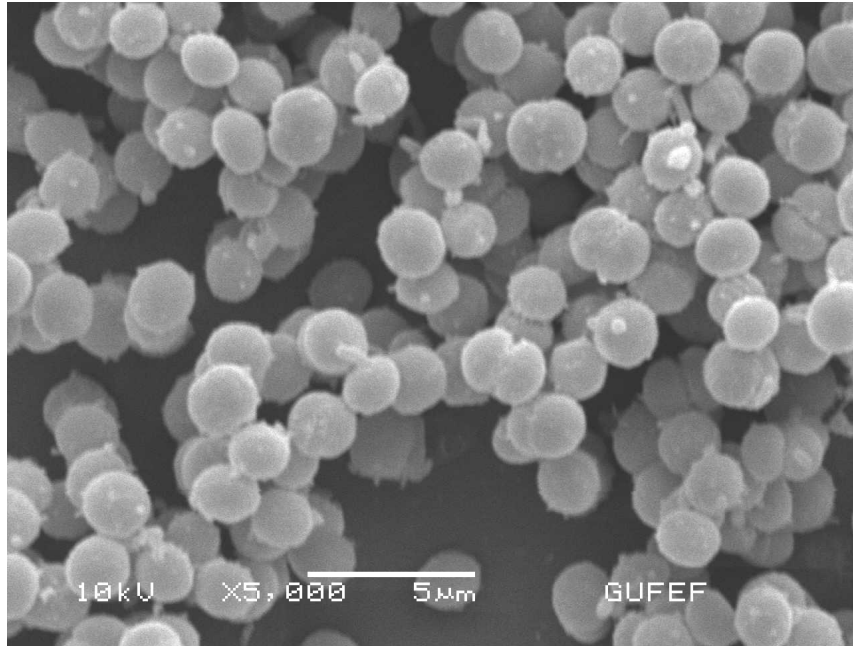
Çizelge 7.21 10 ppm'lik Zn^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	59,71	25,91	3,43	0,29	5,03	1,83	0,35	0,00	3,45	100,00

7.7.4 Cu^{+2} Metalinin Siyanobakteri Hücrelerine Etkisi

Bakır, canlılarda elektron taşınımında kofaktör olarak kullanılan önemli iz elementlerden birisidir. Ancak belli konsantrasyonların üzerinde, algler ve siyanobakteriler de dâhil birçok mikroorganizmada fotosentez, enzim aktivitesi ve solunum gibi metabolik faaliyetleri inhibe ederek, hücrede toksik etkilere yol açabilmektedir (Yan ve Pan, 2002).

Şekil 7.36'daki elektron mikroskobu görüntülerinde, demir metalinin uygulandığı hücrelerin görüntülerindeki kadar yoğun olmamakla birlikte hücreler arası köprü oluşturan HDP yapılar gözlemlenmektedir. Ayrıca *Synechocystis* sp. hücrelerinin bölünme anının görüntülendiği bu şekilde, ötrofikasyon kontrolü gibi uygulamalarda algisit olarak kullanılan bakır metalinin, toksik etkilerinin azaltılarak canlılığın devam ettirildiği görülmektedir.



Şekil 7.36 5 ppm'lik Cu^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin SEM görüntüleri

Bakıra maruz bırakılmış kültüre ait genel elektron mikroskobu görüntüsünün EDS sonuçlarında, spektrumda görünen metallerin % 4.28'ini Cu^{+2} ve % 0.97'sini de Fe^{+2} oluşturmaktadır. Analiz sonuçlarında düşük miktarda bulunan demir, kullanılan besiyerinden gelmektedir (Çizelge 7.22).

Bakırın yoğun olduğu bölgenin EDS analizi sonuçlarında, spektrumda görünen metaller arasında % 12.78 oranında (Çizelge 7.23 ve Şekil Ek 5.11), bakırın az olduğu bölgenin sonuçları incelendiğinde ise; genel görüntüdeki bakır oranının altında, % 0.5 oranında bakır görülmüştür (Çizelge 7.24 ve Şekil Ek 5.12).

Çizelge 7.22 5 ppm'lik Cu^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinin EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	37,45	40,62	6,18	1,32	5,19	4,00	0,97	4,28	0,00	100,00

Çizelge 7.23 5 ppm'lik Cu^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	25,64	42,98	6,59	0,49	9,48	1,61	0,43	12,78	0,00	100,00

Çizelge 7.24 5 ppm'lik Cu^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları

Spektrum	C	O	Na	Mg	P	Ca	Fe	Cu	Zn	Total
Spektrum 1	47,82	33,44	5,98	1,43	4,23	4,86	1,74	0,50	0,00	100,00

8. DEĞERLENDİRME VE ÖNERİLER

Küçükçekmece Gölü, birçok endemik türü bünyesinde barındıran, doğal lagün göllerinden birisidir. İstanbul kentinde yaşanan çarpık kentleşme, hızlı nüfus artışı ve kontrolsüz endüstrileşmenin sonuçlarından biri olarak, Küçükçekmece Gölü ekosistemi, gözle görülebilir bir çevresel tahribatın etkisi altındadır. Üstün vd. (2005) tarafından yapılan çalışmada, Küçükçekmece Gölü su, sediment ve sediment arası boşluk suyunda önemli konsantrasyonlarda Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerine rastlanmıştır.

Küçükçekmece Gölü ve Havzası'nda; evsel, endüstriyel ve tarımsal kaynaklı kirleticilerin doğrudan ya da dolaylı olarak deşarjı sonucunda, gölde dönem dönem aşırı alg çoğalmaları gözlemlenmektedir. Bu çalışmada, aşırı alg artışları sırasında ortaya çıkan siyanobakteri türlerinin, Küçükçekmece Gölü'nde en sık rastlanan metalleri biyosorpsiyon/biyobirikim özelliklerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

- ✓ Bu çalışmada, 2005 yılı Kasım-Aralık aylarında Küçükçekmece Gölü'nden alınan su örneklerinden 5 farklı siyanobakteri türü izole edilmiştir.
- ✓ Bu siyanobakteri türlerinin Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerine karşı dirençliliği araştırılmıştır. Dirençlilik çalışması sonucunda, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının Fe^{+2} , Cu^{+2} ve Zn^{+2} metallerine karşı en dirençli izolat olduğu görülmüştür.
- ✓ En dirençli izolatın canlılığının devamının sağlanması ve ortamdaki metalin alınımında rol alabilmesi için öncelikle uygun çevresel koşulların oluşturulması gerekmektedir. Optimizasyon çalışması sonucunda, dirençli izolatın pH 7 ve 23 °C sıcaklıkta en iyi ürediği gözlemlenmiştir ve biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmaları bu koşullarda yürütülmüştür. Aynı zamanda bu koşullar, Küçükçekmece Gölü'nün doğal pH ve sıcaklık değerleri aralığındadır.
- ✓ Biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmasında, Fe^{+2} konsantrasyonundaki artışın, sulu çözeltiden hücre yüzeyine geçişi hızlandırdığı gözlemlenmiştir. Hücre yüzeyinden hücre içine geçiş ise daha yavaş hızla gerçekleşmektedir.
- ✓ Cu^{+2} iyonu konsantrasyonunun artması, hücre yüzeyine alım hızını arttırdığı, buna karşılık konsantrasyon artışı; hücre yüzeyinden hücre içine geçiş hızını azalttığı görülmektedir.
- ✓ Zn^{+2} konsantrasyonunun artması, sudan hücre yüzeyine geçiş hızını azaltmaktadır,

ancak yavaş da olsa çinko geçişi gerçekleşmektedir. Hücre yüzeyinden hücre içine geçiş hızı ise artmaktadır.

- ✓ Tekli metallerle yürütülen, biyosorpsiyon/biyobirikim denemeleri sonuçları incelendiğinde, sudan (duru fazdan) hücre yüzeyine metallerin geçiş hızı sırasıyla; $\text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$; hücre yüzeyinden hücre içine metal geçiş hızı ise, $\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır.
- ✓ Çözelti içinde Fe^{+2} ve Zn^{+2} metalinin bir arada bulunması, demirin kararlılığını olumsuz olarak etkilemiştir. Zn^{+2} metalinin varlığı Fe^{+2} biyosorpsiyonunu inhibe etmiş olmasına rağmen, *Synechocystis* sp. (E35) izolatu Fe^{+2} 'e karşı daha çok ilgi (affinity) duymaktadır.
- ✓ Fe^{+2} - Cu^{+2} biyosorpsiyon/biyobirikim deneme setinde, Cu^{+2} metalinin toksik özelliği, Fe^{+2} 'nin biyosorpsiyonunu azaltmıştır (antagonistik etki).
- ✓ Çözelti içinde Cu^{+2} iyonlarının bulunması, Zn^{+2} iyonlarının hücre içine alım oranını arttırmıştır (Sinerjistik).
- ✓ İkili metal çözeltilerinde, sudan hücre yüzeyine metal geçiş hızı sıralaması $\text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Fe}^{+2}$; hücre yüzeyinden hücre içine geçiş hızı ise $\text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2} > \text{Zn}^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır.
- ✓ Her üç metalin bir arada bulunması halinde, deneme süresi sonunda suda kalan metal konsantrasyonu; Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} iyonları için sırasıyla; 0.002, 0.004 ve 0.011 mmol/L olduğu gözlemlenmiştir. Dolayısıyla, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının bu üç metalin bir arada bulunması durumunda, tercih sırasının $\text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ olduğu belirlenmiştir.
- ✓ Üç metalin bir arada bulunması halinde, sudan hücre yüzeyine metal geçiş hızı sıralamasının $\text{Zn}^{+2} \approx \text{Fe}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ olduğu görülmektedir. Hücre yüzeyinden hücre içine geçiş hızı ise $\text{Fe}^{+2} > \text{Zn}^{+2} > \text{Cu}^{+2}$ şeklinde sıralanmaktadır.
- ✓ Biyosorpsiyon/biyobirikim denemeleri sonunda, birim biyokütle başına biyosorplanan metal miktarının, çözeltideki metal konsantrasyonu ile orantılı olduğu görülmektedir.
- ✓ *Synechocystis* sp. (E35) izolatu ile yapılan Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} denemeleri sonucunda, biyosorpsiyonun hem Freundlich hem de Langmuir izoterm modeline uyduğu görülmektedir.

- ✓ 10 ppm Fe^{+2} 'e maruz bırakılan *Synechocystis* sp. (E35) izolatına ait elektron mikroskobu görüntülerinde, hücre dışı polisakkarit (HDP) yapılar gözlemlenmiştir. Bu yapıların, demirin biyosorpsiyonunda önemli rol aldıkları düşünülmektedir. Çünkü; elektron mikroskobu görüntülerinde, HDP yapıların EDS analizi sonuçlarında, spektrumda görünen metalin % 7.81'inin demir olduğu görülmüştür.
- ✓ 10 ppm Zn^{+2} ise; *Synechocystis* sp. (E35) izolatının, HDP oluşumuna sebep olmuştur. Bu yapılar, elektron mikroskobu görüntülerinde net bir şekilde görülmektedir.
- ✓ 5 ppm Cu^{+2} iyonları da hücrede, demirde görüldüğü kadar yoğun olmamakla birlikte, HDP yapıların oluşmasına sebep olmuştur. Dolayısıyla, *Synechocystis* sp. (E35) izolatının metallere karşı çeşitli savunma mekanizmaları oluşturduğu elektron mikroskobu görüntülerinde yer almaktadır. Ayrıca; izolatın metallere karşı oluşturduğu savunma mekanizmalarının, metal türüne bağlı olarak değiştiği gözlemlenmektedir.
- ✓ Bazı organizmalar, metallerin hücredeki konsantrasyonlarını dengede tutmak amacıyla, homeostatik sistemler geliştirmişlerdir. Bu çalışmada kullanılan dirençli izolatın da, Fe^{+2} , Zn^{+2} ve Cu^{+2} metallerine karşı homeostatik sistemler geliştirdiği düşünülmektedir (HDP yapılar).

Bu çalışmanın devamına ya da başka araştırmacıların çalışmalarına ışık tutmak amacıyla;

- ✓ Küçükçekmece Gölü'nden izole edilecek, yeni siyanobakteri türleri ile biyosorpsiyon/biyobirikim denemelerinin yapılması,
- ✓ Metal konsantrasyonunun siyanobakteri üzerindeki stres etkisini irdeleyebilmek amacıyla; izole edilen izolatların, metalli ortama kademeli olarak alıştırıldıktan sonra biyosorpsiyon/biyobirikim özelliklerinin incelenmesi,
- ✓ Dirençli izolatın, hücre yüzeyinde bulunan fonksiyonel grupların infra-red (IR) spektroskopi yöntemleri ile belirlenmesi,
- ✓ Dirençli izolatın hücre dışı polisakkarit yapıları (HDP) üretme özelliklerinin ve üretilen HDP'nin kimyasal özelliklerinin tespit edilmesi,
- ✓ Dirençli izolatın ürettiği HDP yapıların, izole edilmesi ve bu HDP yapıların biyosorpsiyon özelliklerinin belirlenmesi,
- ✓ Biyosorpsiyon/biyobirikim denemeleri sonrasında, hücrede meydana gelen değişikliklerin gözlemlenmesi için taramalı elektron mikroskobunun (Scanning

Electron Microscopy; SEM) yanı sıra geçirimli elektron mikroskobu (Transmission Electron Microscopy; TEM) teknolojilerinin de kullanılması,

- ✓ Ölü, ölü immobilize ve canlı immobilize siyanobakteri hücreleri ile biyosorpsiyon/biyobirikim çalışmalarının sürdürülmesi,
- ✓ Kesikli reaktörlerin yanı sıra sürekli reaktörlerle çalışılması,
- ✓ Kesikli ve sürekli reaktör denemelerinden elde edilen sonuçlar göz önünde bulundurularak, biyofiltre tasarımı için çalışmalar yapılması,
- ✓ Tasarlanacak biyofiltrenin, Küçükçekmece Gölü'nde belirlenecek noktalarda performans analizlerinin yapılması gibi öneriler getirmek mümkündür.

KAYNAKLAR

- Ağcıoğlu, B., (2004), Küçükçekmece Gölü ve Havzası'nın Çevre Sorunları ile Çevre Yönetim Biriminin Gerekliği, Küçükçekmece Gölü ve Havzası İçin Çevre Yönetim Biriminin Oluşturulma Süreci ve Bölgeye Katkıları Çalıştayı, 20-22 Ekim, 2004, İstanbul
- Ahalya, N., Kanamadi, R.D., Ramachandra, T.V., (2006), "Biosorption of iron (III) from aqueous solutions using the husk of *Cicer arietinum*", Indian Journal of Chemical Technology, 13; 128-134
- Andrade, L., Keim, C.N., Farina, M., Pfeiffer, W.C., (2004), Zinc detoxification by a cyanobacterium from a metal contaminated bay in Brazil", Brazilian Archives of Biology and Technology, 47 (1); 147-152
- Andrews, S.C., Robinson, A.K., Rodriguez-Quinones, F., (2003), "Bacterial iron homeostasis", FEMS Microbiology Reviews, 27; 215-237
- Albay, M., Akçaalan, R., Gürevin, C., Aykulu, G., (2004), Küçükçekmece Gölü ve Havzası'nın Çevre Sorunları ile Çevre Yönetim Biriminin Gerekliği, Küçükçekmece Gölü ve Havzası İçin Çevre Yönetim Biriminin Oluşturulma Süreci ve Bölgeye Katkıları Çalıştayı, 20-22 Ekim, 2004, İstanbul
- Albay, M., Matthiensen A., Codd, G.A., (2005), "Occurrence of Toxic Blue-Green Algae in the Kucukcekmece Lagoon (İstanbul, Turkey)", Environmental Toxicology, 20; 277-284
- Ahuja, P., Gupta, R., Saxena, R.K., (1999), "Zn⁺² biosorption by *Oscillatoria angustissima*", Process Biochemistry, 34; 77-85
- Aksu, Z., (2001), "Equilibrium and kinetic modelling of cadmium (II) biosorption by *C.vulgaris* in a batch systems: effect of temperature", Separation and Purification Technology, 21, 285-294
- Ali, N.A., Bernal, M.P. and A ter, M., (2004), "Tolerance and Bioaccumulation of Cadmium by *Phragmites australis* Grown in the Presence of Elevated Concentrations of Cadmium, Copper and Zinc", Aquatic Botany, 80; 163-176
- Andrade, L., Keim, C.N., Farina, M. and Pfeiffer, W.C., (2004), "Zinc Detoxification by a Cyanobacterium from a Metal Contaminated Bay in Brazil", Brazillian Archives of Biology and Technology, 47 (1); 147-152
- Başer, K., (2006), Sazlıdere'nin Azot ve Fosfor Kirliliğinin İzlenmesi ve Etkilerinin İrdelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi Çevre Bilimleri Enstitüsü, İstanbul
- Benesova, J., Nickova, K., Ferimazova, N. and STSY, D., (2000), "Morphological and Physiological Differences in *Synechococcus elongatus* During Continuous Cultivation at High Iron, Low Iron, and Iron Deficient Medium", Photosynthetica, 38 (2); 233-241
- Bergey's Manuel of Systematic Bacteriology, "2001", Second Edition, New York
- Brown, I.I., Mummey, D. and Cooksey, K.E., (2005), "A novel cyanobacterium exhibiting an elevated tolerance for iron", FEMS Microbiology Ecology, 52; 307-314
- Castenholz, R.W. and Waterbury, J.B., (1989), "Oxygenic Photosynthetic Bacteria. Group I. Cyanobacteria. In: Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", 3; 1710-1789

- Cavet, J.S., Borely, G.P.M., Robinson, N.J., (2003), "Zn, Cu and Co in cyanobacteria: selective control of metal availability", *FEMS Microbiology Reviews*, 27; 165-181
- Choudhury, R. and Srivastava, S., (2001), "Zinc resistance mechanism in bacteria", *Current Science*, 81 (7); 768-775
- Cruz, C.V.C, da Costa, A.C.A., Henriques, C.A., Luna, A.S., (2004), "Kinetic modelling and equilibrium studies during cadmium biosorption by dead *Sargassum* sp. biomass, *Bioresource Technology*, 91; 249–257
- Dağhan, H., (2004), "Phytoextraction of Heavy Metal from, Contaminated Soils Using Genetically Modified Plants", MSc Thesis, Adana
- Davis, T.A., Volesky, B., Mucci, A., (2003), "A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae", *Water Research*, 37; 4311-4330
- Dominguez, M.G., Maury, L.L., Florencio, F.J., Reyes, J.C., (2000), A gene cluster involved in metal homeostasis in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803, *Journal of Bacteriology*, 182 (6); 1507-1514
- Douterele, I., Perona, E., Mateo, P., (2004), "Use of cyanobacteria to assess water quality in running waters", *Environmental Pollution*, 127; 377–384
- Dönmez, G. ve Aksu, Z., (2001), "Bioaccumulation of copper (II) and Nickel (II) by the non-adapted and adapted growing *Candida* sp.", *Water Resource*, 35 (6); 1425-1434
- Dursun, A.Y., (2006), "A comparative study on determination of the equilibrium, kinetic and thermodynamic parameters of biosorption of copper (II) and lead (II) ions onto pretreated *Aspergillus niger*", *Biochemical Engineering Journal*, 28; 187-195
- Dursun, A.Y., Uslu, G., Cuci, Y. and Aksu, Z., (2003), "Bioaccumulation of Copper(II), Lead (II) and Chromium (IV) by Growing *Aspergillus niger*, *Process Biochemistry*, 38; 1647-1651
- Eroglu, V., (1999) Su Tasfiyesi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İnşaat Fakültesi Matbaası, İstanbul
- Edwards, K. A., Macklin, M.G., Miller, J.R., Lechler, P. J., (2001), "Sources, Distribution and Storage of Heavy Metals in the Rio Pilcomayo, Bolivia", *Journal of Geochemical Exploration*, 72; 229-250
- Ehrlich, H.L., (1997), "Microbes and metals", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 48; 687-692
- El-Enany, A.E., Issa, A.A., (2000), "Cyanobacteria as a biosorbent of heavy metals in sewage water", *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 8; 95-101
- Esposito, A., Pagnanelli, F., Lodi, A., Solisio, C., Veglio, F., (2001), "Biosorption of heavy metals by *Sphaerotilus natans*: an equilibrium study at different pH and biomass concentrations", *Hydrometallurgy*, 60, 129-141
- Finney, D.J., (1963), "Probit Analysis (rev. ed.)", Cambridge Univ. Press, London
- Fogg, G.E., (1956), "The comparative physiology and biochemistry of the blue-green algae", *Bacteriological Reviews*, 20 (3); 148–165
- Gadd, G.M., (2001), "Microbial Metal Transformations", *The Journal of Microbiology*, 39 (2); 83-88

- Garrity, G.M., Bone, D.R., (2001), "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Volume 1: The Archaea and the Deeply Branching and Phototrophic Bacteria"
- Goldberg, J.J., (2005), "Heavy metal sequestration by a representative group of biological organisms: A study in their compartmentalization", PhD Thesis, The University of Newyork.
- Gramion, F., (2003), "Analyses Of Microbial Community Structures And Functions In Heavy Metal-Contaminated Soils Using Molecular Methods", Ph.D. thesis, Swiss Federal Institute of Technology of Lausanne
- Gupta, R., Ahuja, P., Khan, S., Saxena, R.K. and Mohapatra H., (2000), "Microbial Biosorbents: Meeting challenges of Heavy Metal Pollution in Aqueous Solutions", Current Science, 78; 8
- Gupta, V.K., Rastogi, A., Saini, V.K., Jain, N., (2005), "Biosorption of Copper (II) from Aqueous Solutions by Spirogyra species", Journal of Colloid and Interface Science, 296; 59-63
- Hantke, K., (2005), "Bacterial zinc uptake and regulators", Current Opinion in Microbiology, 8; 196-202
- Hernandez, J.A., Bes, M.T., Fillat, M.F., Neira, J.L. ve Peleato, M.L., (2002), "Biochemical analyses of the recombinanat Fur (ferric uptake regulator) protein from *Anabaena* PCC 7119: factors effecting its oligomerization state", Biochemical Journal, 366; 315-322
- Housecroft, C.E. and Sharpe, A.G., (2002), Inorganic Chemistry, First Edition, 509-529
- Humble, A.V., Gadd, G.M., Codd, G.A., (1997), "Binding of Copper and Zinc to Three Cyanobacterial Microcystins Quantified by Differential Pulse Polarography", Water Research, 31 (7); 1679-1686
- Iyer, A., Mody, K. And Jha, B., (2005), "Biosorption of heavy metals by a marine bacterium", Marine Pollution Bulletin, 50 (3); 340-343
- İleri, R., (2006), "Bakır İyonlarının (Cu^{+2}) Sıvı Ortamdan Biyosorpsiyonla Gideriminin İzoterm Sabitlerinin Matlab Programı İle Belirlenmesi" Ekoloji, 15 (59); 8-17
- Kadukova, J., and Vircikova, E., (2005), "Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption", Environment International, 31; 227-232
- Lodeiro, P., Cordero, B., Barriada, J.L., Herrero, R., Sastre de Vicente, M.E., (2005), "Biosorption of cadmium by biomass of brown marine macroalgae", Bioresource Technology, 96; 1796-1803
- Luna, B.M., Hernandez, J.A., Bes, M.T., Fillat, M.F. ve Peleato, L., (2006), "Idendification of a ferric uptake regulator from *Microcystis aeruginosa* PCC 7806", FEMS Microbiology Letters, 254; 63-70
- Malik, A., (2004), "Metal bioremediation through growing cells", Environment International, 30; 261-278
- Martins, R.J.E., Pardo, R., Boaventura, R.A.R., (2004), " Cadmium (II) and zinc (II) adsorption by the aquatic moss Fontinalis antipyretica: effect of temperature, pH and water hardness", Water Research, 38; 693-699
- Masse, E., Salvail, H., Desnoyers, G. ve Arguin, M., (2007), "Small RNAs controlling iron metabolism", Current Opinion in Microbiology, 10; 140-145

- Matsunaga T., Takeyama H., Nakao T., Yamazawa A., (1999), "Screening of marine microalgae for bioremediation of cadmium-polluted seawater", *Journal of Biotechnology*, 70; 33-38
- Metcalf&Eddy, (2003), "Wastewater Engineering Treatment and Reuse", Fourth Edition, McGraw-Hill Higher Education, 1141-1145
- Mohamed, Z., (2001), "Removal of Cadmium and Manganese by a Non-Toxic Strain of The Freshwater Cyanobacterium *Gloeotheca Manga*", *Water Research*, 35 (18); 4405-4409
- Myers, J., Kratz, W.A., (1955), "Relation Between Pigment Content And Photosynthetic Characteristics in a Blue-Green Alga", *The Journal of General Physiology*, 39; 11-22
- Nakasugi, K. And Neilan, B., (2005), "Identification of Pilus-Like Structures and Genes in *Microcystis aeruginosa* PCC7806", *Applied And Environmental Microbiology*, 71 (11); 7621-7625
- Omar, H.H., (2002), "Bioremoval of Zinc Ions by *Scenedesmus obliquus* and *Scenedesmus quadricauda* and Its Effects on Growth and Metabolism", *International Biodeterioration&Biodegradation*, 50; 95-100
- Okumuş, E., (2007), "Küçükçekmece Gölü Sedimentinde Ağır Metal (Zn^{2+} , Fe^{2+} , Cu^{2+}) Adsorpsiyonu", Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul
- Özdemir, G., Öztürk, T., Ceyhan N., İşler, R., Coşar, T., (2003), "Heavy metal biosorption by biomass of *Ochrobactrum anthropi* producing exopolysaccharide in activated sludge", *Bioresource Technology*, 90; 71-74
- Pagnanelli, F., Trifoni, M., Beolchini, F., Esposito, A., Toro, L., Veglio, F., (2001), "Equilibrium biosorption studies in single and multi-metal systems", *Process Chemistry*, 37; 115-124
- Panoff, J.M. ve Joset, F., (1989), "Selection by Anion-Exchange Chromatography of Exopolysaccharide Mutants of the Cyanobacterium *Synechocystis* Strain PCC 6803", *Applied And Environmental Microbiology*, 55 (6), 1452-1456
- Pennella, M.A., (2005), "Metal specificity and the mechanism of allosteric regulation in metal sensing metal responsive transcriptional repressors *Staphylococcus aureus* C₂rA and *Mycobacterium tuberculosis* NmtR", PhD Thesis, Texas A&M University
- Philippis, R.D., Sili, C., Paperi, R. And Vincenzini, M., (2001), EPS-producing cyanobacteria and their possible exploitation: A review, *Journal of Applied Phycology*, 13; 293-299
- Prego, R., Cobelo-Garcia A, (2003), "Twentieth century overview of heavy metals in the Galician Rias, (NW Iberian Peninsula)", *Environmental Pollution*, 121; 425-452
- Rangsayatorn, N., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Lanza, G.R., (2002), "Phytoremediation Potential of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*: Biosorption and Toxicity Studies of Cadmium", *Environmental Pollution*, 119, 45-53
- Rippka, R., Deruelles, J., Waterbury, J., Herdman, M., Stanier, R., (1979), "Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria", *J. Gen. Microbiol*, 111; 1-61
- Rangsayatorn, N., Upatham, E.S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Lanza, G.R., (2002), "Phytoremediation potential of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*: biosorption and toxicity studies of cadmium", *Environmental Pollution*, 119; 45-53

- Robinson, J.B., Tuovinen, O.H., (1984), "Mechanism of microbial resistance and detoxification of mercury and organomercury compounds: physiological, biochemical and genetic analyses, Microbiology Reviews, 48; 95-124
- Rutherford, J.C. and Bird, A.J., (2004), "Metal-Responsive Transcription Factors That Regulate Iron, Zinc and Copper Homeostasis in Eukaryotic Cells", Eukaryotic Cell, 3 (1); 1-13
- Sağ, Y., Açikel, Ü., Aksu, Z., Kutsal, T., (1998), "İkili Metal Karışımlarından Krom (IV), Demir (III) ve Bakır (II) İyonlarının *R. arrhizus* ve *C. Vulgaris*'e Yarışmalı Biyosorpsiyonu", Journal of Engineering and Environmental Sciences, TUBİTAK, 22; 145-154
- Sartory, D.P., Grobbelar, J.U., (1984), "Extraction of chlorophyll a from fresh water phytoplankton for spectrophotometric analysis", Hydrobiologia, 114; 177-187
- Sawyer, C., McCarty, P., Parkin, G. F., (2003), "Chemistry for Environmental Engineering and Science", Fifth Edition, 659; 720
- Schorer, M. and Eisele, M., (1997), "Accumulation of Inorganic and Organic Pollutants by Biofilms in the Aquatic Environment", Water, Air and Soil Pollution, 99; 651-659
- Selatnia, A., Boukazoula, A., Kechid, N., Bakhti, M.Z., Chergui, A., (2004), "Biosorption of Fe^{3+} from aqueous solution by a bacterial dead *Streptomyces rimus* biomass", Process Biochemistry, 39; 1643-1651
- Sheng, P., X., Ting, Y., P., Chen, J.P., Hong, L., (2004), "Sorption of lead, copper, cadmium, zinc, and nickel by marine algal biomass: characterization of biosorptive capacity and investigation of mechanisms", Journal of Colloid and Interface Science, 275; 131-141
- Singh, S., Pradhan, S., Rai, L.C., (1998), "Comparative assessment of Fe^{3+} and Cu^{2+} biosorption by field and laboratory-grown *Microcystis*", Process Biochemistry, 33 (5); 495-504
- Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater, 2005. American Public Health Association., 21st Edition, Washington
- Şenduran, C., (2007), "Küçükçekmece Lagününde Limnolojik Özellikler Ve Sediment Taşınımının Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul
- Topcuoğlu, S., Güven, K.C., Balkıs, N., Kırbaçoğlu, Ç., (2003), "Heavy metal monitoring of marine algae from the Turkish Coast of the Black Sea, 1998-2000", Chemosphere, 52, 1683-1688
- Uslu, G., Tanyol, M., (2006), "Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead (II) and copper (II) ions onto *Pseudomonas putida*: Effect of temperature", Journal of Hazardous Materials, 135(1-3); 87-93
- Üstün, B., İnce N., Cansever G., Ülger E., Ağcıoğlu B., Şapçı Z., Demirel S. And Okumus E. et al., (2005), "The Development of Environmental Management Model in Küçükçekmece Basin", Joint Research and Development Project (GSRT-TUBİTAK) , Proje No: 102Y011
- Üstün, B., Okumus, E., Demirel, S., (2006), "Seasonal Fluctuations of Bio-Chemical Parameters in Kucukcekmece Lagoon, Istanbul", The Second International Conference on Environmental Science and Technology, American Academy of Sciences, 19-22 August 2006, Houston-Texas, ABD
- Üstün B., Kadirgan, N., Oraltay, G., Peker, İ., Okumus, E., Demirel, S., Gökağaçlı, N.G., ve

diğerleri, (devam ediyor) “Doğal Ortamda Ağır Metal İzlemesi: Uygulama Alanı Küçükçekmece Gölü Ve Havzası”, TÜBİTAK Ulusal Araştırma Projesi 105Y116

Hoek, V., Mann, C., D. G., Jahns, H. M., (1997), *Algae; An Introduction to Phycology*, Cambridge Univ. Press

Veglio, F. and Beolchini, F., (1997), “Removal of metals by biosorption: a review”, *Hydrometallurgy*, 44; 301-316

Vilar, V.J.P., Botelho, C.M.S., Boaventura, R.A.R., (2005), “Influence of pH, ionic strength and temperature on lead biosorption by *Geldium* and algal waste”, *Process Biochemistry*, 40; 3267–3275

Volesky, B. and Holan, Z.R., (1995), “Biosorption of Heavy Metals”, *Biotechnology Progress*, 11; 235-250

Volesky, B., (2003), *Sorption and Biosorption*, BV-Sorbex Inc. Press, Quebec; 6-24

Yan, H. and Pan, G., (2002), “Toxicity and bioaccumulation of copper in three green microalgal species”, *Chemosphere*, 49; 471-476.

Ybarra, G.R. and Webb, R., (1998), “Differential responses of *groEL* and *metallothionein* genes to divalent metal cations and oxyanions of arsenic in the cyanobacterium *Synechococcus* sp. strain PCC7942”, *Proceedings of the 1998 Conference on Hazardous Waste Research*, 76-86

Zak, E., Norling, B., Maitra, R., Huang, F., Andersson and Pakrasi, H.B., (2001), “The initial steps of biogenesis of cyanobacterial photosystems occur in plasma membranes”, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98 (23); 13443-13448

Zhou, W., Juneau, P. And Qiu, B., (2006), “Growth and Photosynthetic Responses of the Bloom-Forming Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* to Elevated Levels of Cadmium”, *Chemosphere*, 65 (10); 1738–1746

Wang, Y-T., Shen, H., (1995), “Bacterial reduction of hexavalent chromium”, *Journal of Industrial Microbiology*, 14; 159-163

Webb, V.L. and Maas, E.W., (2002), “Sequence analysis of 16S rRNA gene of cyanobacteria associated with the marine sponge *Mycale (Carmia) hentscheli*”, *FEMS Microbiology Letters*, 207; 43-47

İNTERNET KAYNAKLARI

[1] <http://lakes.chebucto.org/cyano.html#Introduction>

[1] <http://www.internat.naturvardsverket.se/index.php3?main=/documents/pollutants/metall/tu>
[ngmete.htm](http://www.internat.naturvardsverket.se/index.php3?main=/documents/pollutants/metall/tu)

[2] <http://www.answers.com/topic/heavy-metals>

[3] <http://www.webelements.com>

[4] <http://www.kimyaevi.org>

[5] <http://www.lenntech.com>

[6] <http://www.globalaritim.com/en/ts266.htm>

- [7] <http://www.epa.gov/safewater/standards.html>
- [8] <http://www.speclab.com/elements/iron.htm>
- [9] <http://tr.wikipedia.org/wiki/%C3%87inko>
- [10] <http://www.rvt.com/~lucas/school/cyano.html>
- [11] <http://www.botany.hawaii.edu/faculty/webb/BOT311/Cyanobacteria/Cyanobacteria.htm>
- [12] <http://www-cyanosite.bio.purdue.edu/images/images.html>
- [13] <http://www.netpets.com/fish/reference/reefref/cyanobacteria.html>
- [14] http://www.uta.edu/biology/chrzanowski/classnotes/microbial_diversity/Cyanobacteria2.pdf
- [15] www.sci.sdsu.edu/classes/biology/bio514/edwards/cyanobacteria%20lecture.ppt
- [16] <http://tr.wikipedia.org/wiki/Gram-negatif>
- [17] <http://es.geocities.com/metallothioneinresearch/introductionMTs.htm>

EKLER

Ek 1 BG11 (Blue Green) besiyeri içeriği

<u>Stok Cözeltiler</u>	<u>g/1000 mL H₂O</u>
Sodyum nitrat (NaNO ₃)	15.0
Dipotasyum hidrojen fosfat (K ₂ HPO ₄)	4.0
Magnezyum sülfat (MgSO ₄ .7H ₂ O)	7,5
Kalsiyum klorid dehidrat (CaCl ₂ .2H ₂ O)	3,6
Sitrik asit	0,6
Ferrik amonyum sitrat	0,6
Disodyum magnezyum EDTA	0,1
Sodyum karbonat (Na ₂ CO ₃)	2,0

1M NaOH ve HCl ile pH değeri 7.1'e ayarlanır. Katı ortam için 15 g/L agar ilave edilir.

Ek 2 İz element cözeltisi

1000 mL saf suya aşağıdaki bileşikler ilave edilir.

<u>Bileşik</u>	<u>Miktar (g)</u>
H ₃ BO ₃	2,86
MnCl ₂ . 4H ₂ O	1,81
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	0,222
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0,39
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0,079
Co(NO ₃) ₂ . 6H ₂ O	0,0494

Ek 3 PBS (Phosphate Buffer Saline) tamponu

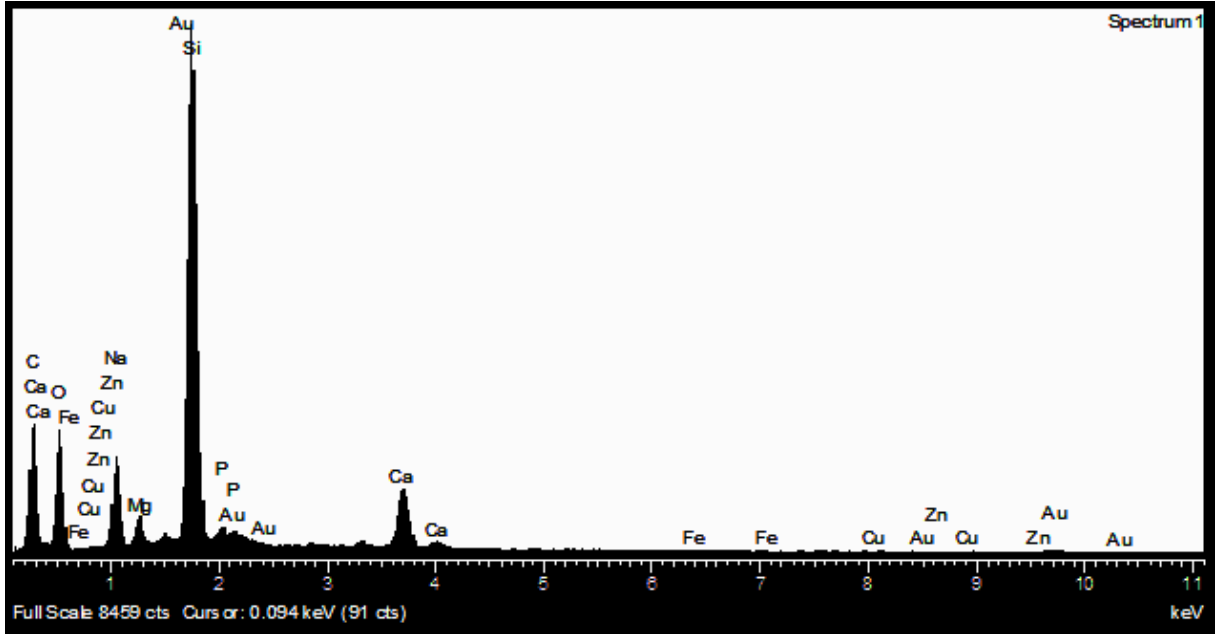
<u>Kullanılan Kimyasal Madde</u>	<u>g/1000 mL H₂O</u>
NaCl	0.8
KCl	0.2
Na ₂ HPO ₄	1.44
KH ₂ PO ₄	0.24

1N NaOH ve HCl ile pH değeri 7.2'e ayarlanır. Distile su ile 1000 ml'ye tamamlanır. Otoklavda steril edildikten sonra kullanılır.

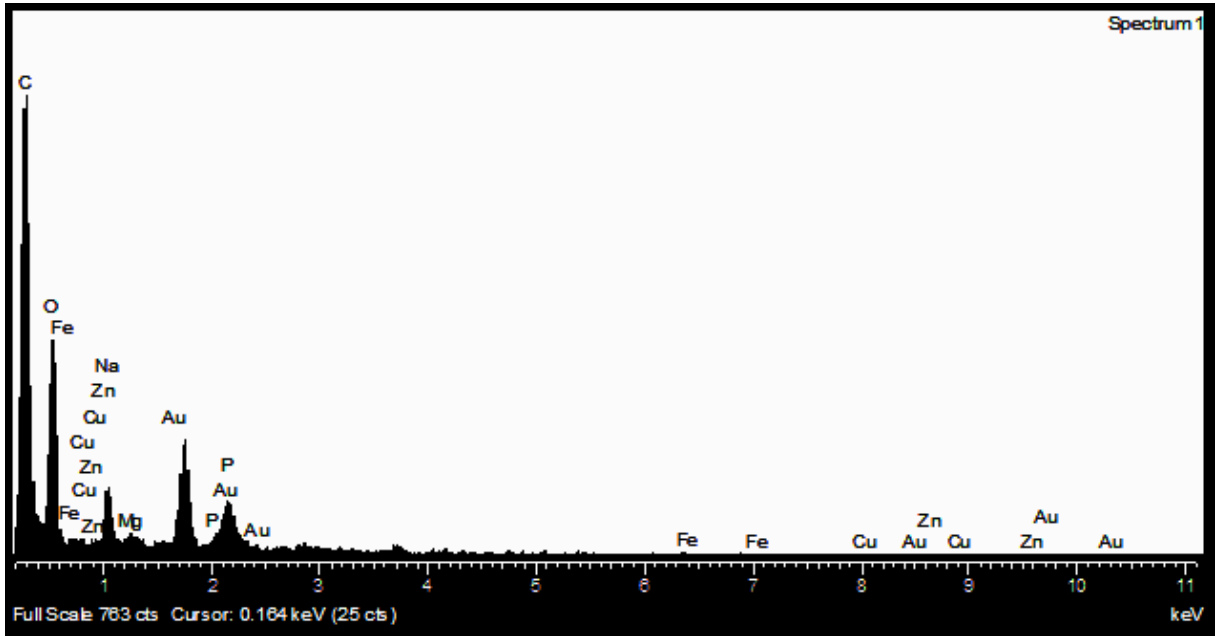
Ek 4 *Synechocystis* sp.(E35) izolatının ikili ve üçlü metallerle probit analiz sonuçları

	EC₁₀ değerleri (mg/l)	EC₅₀ değerleri (mg/l)
Fe⁺² - Zn⁺²	1.22	7.03
Fe⁺² - Cu⁺²	0.10	3.10
Zn⁺² - Cu⁺²	0.10	3.20
Fe⁺² -Cu⁺² - Zn⁺²	0.05	4.00

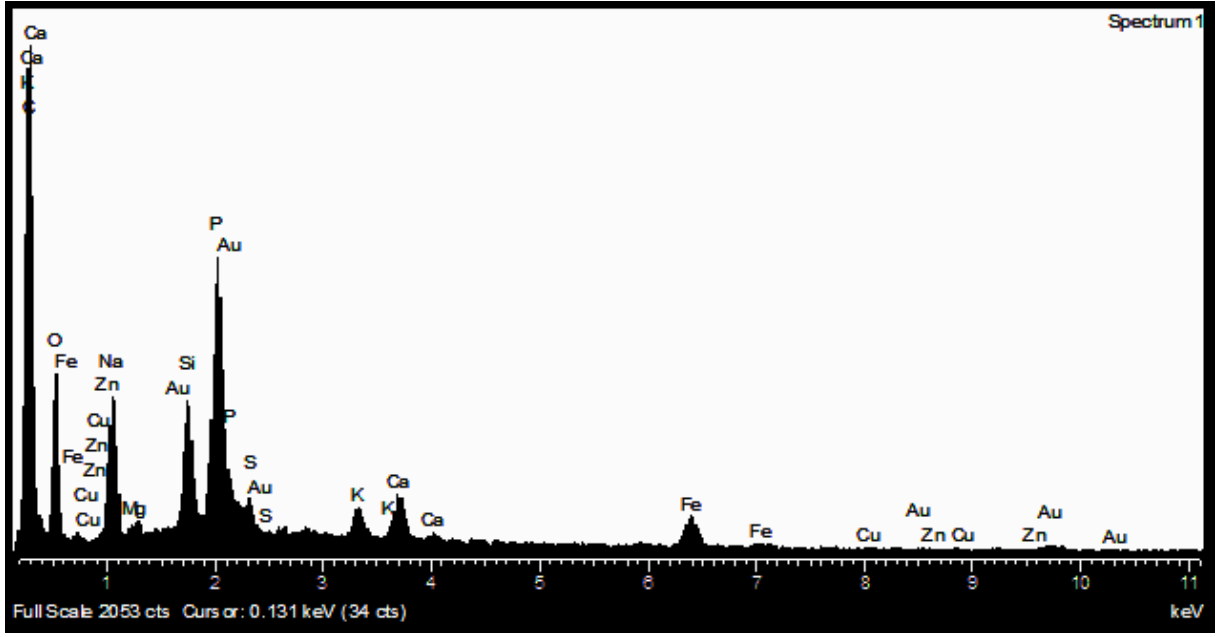
Ek 5 EDS (Energy dispersive X-ray spectroscopy) sonuçları



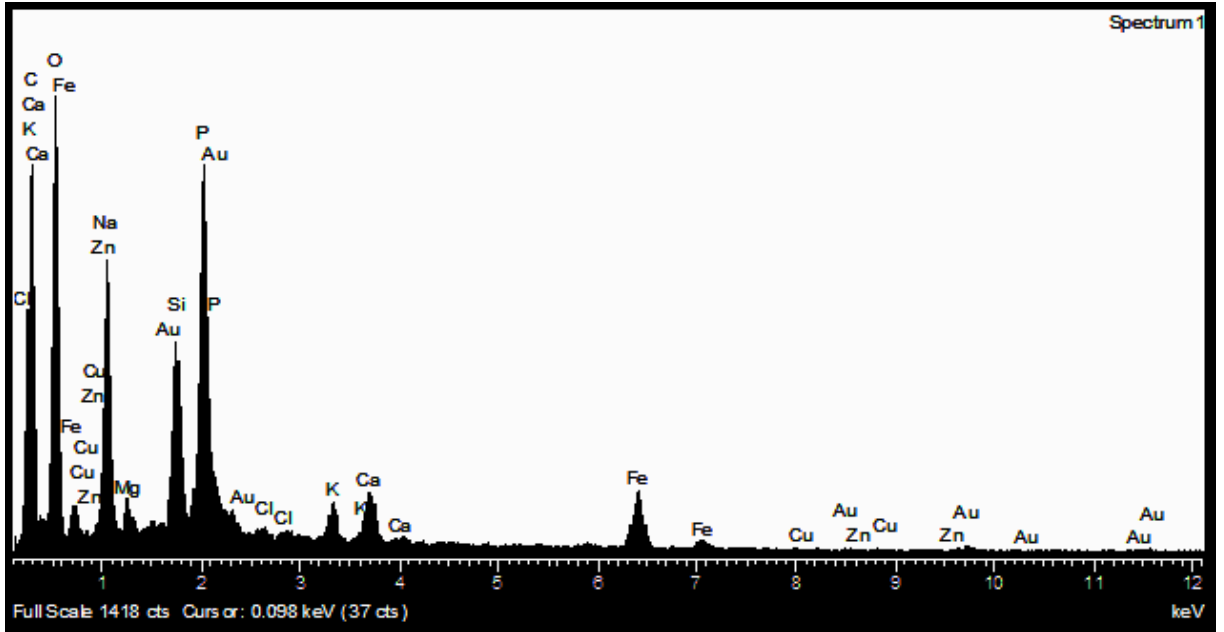
Şekil Ek 5.1 Kontrol kültüre ait genel EDS sonuçları



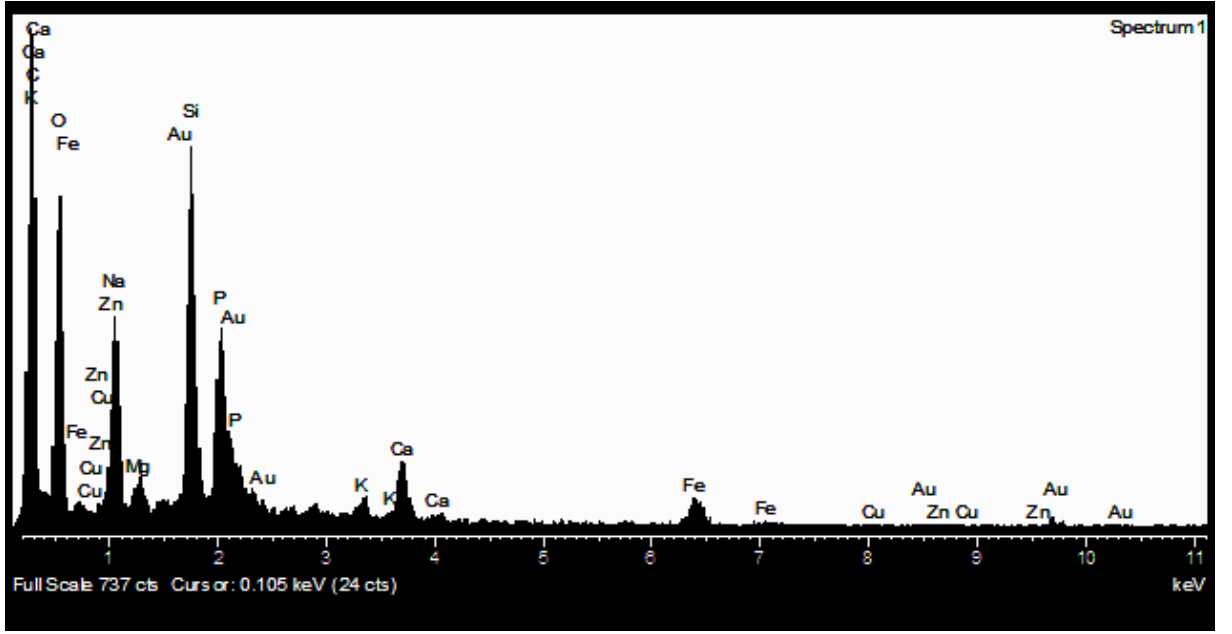
Şekil Ek 5.2 Kontrol kültürde tek bir hücreye ait EDS sonuçları



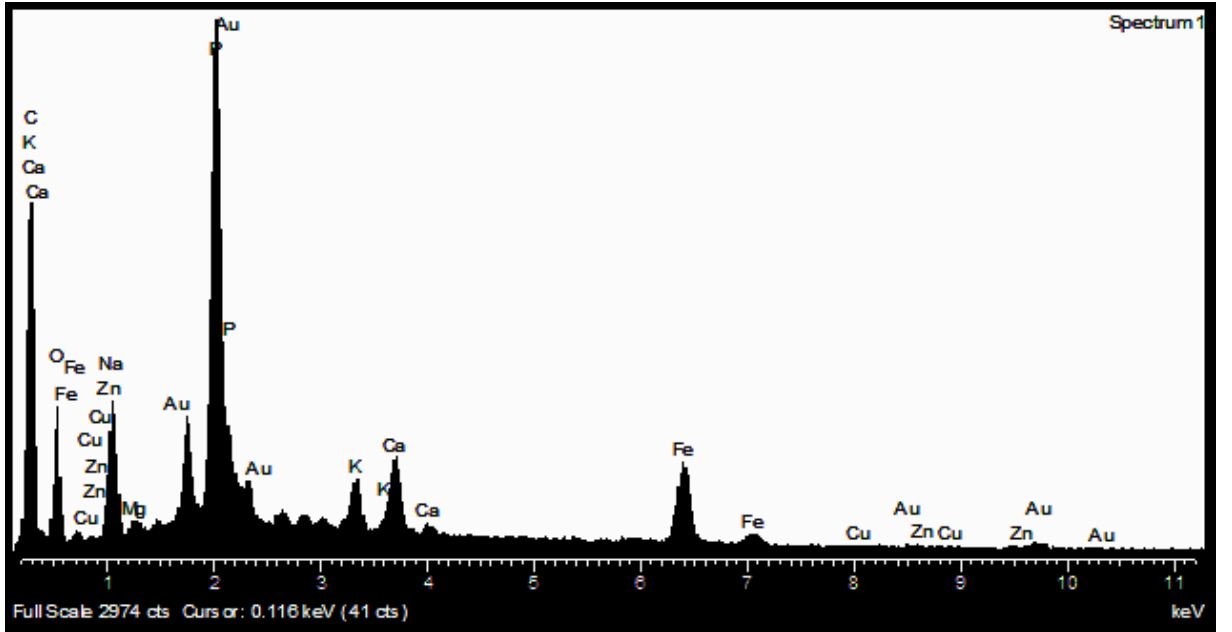
Şekil Ek 5.3 10 ppm'lik Fe^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerine ait genel EDS sonuçları



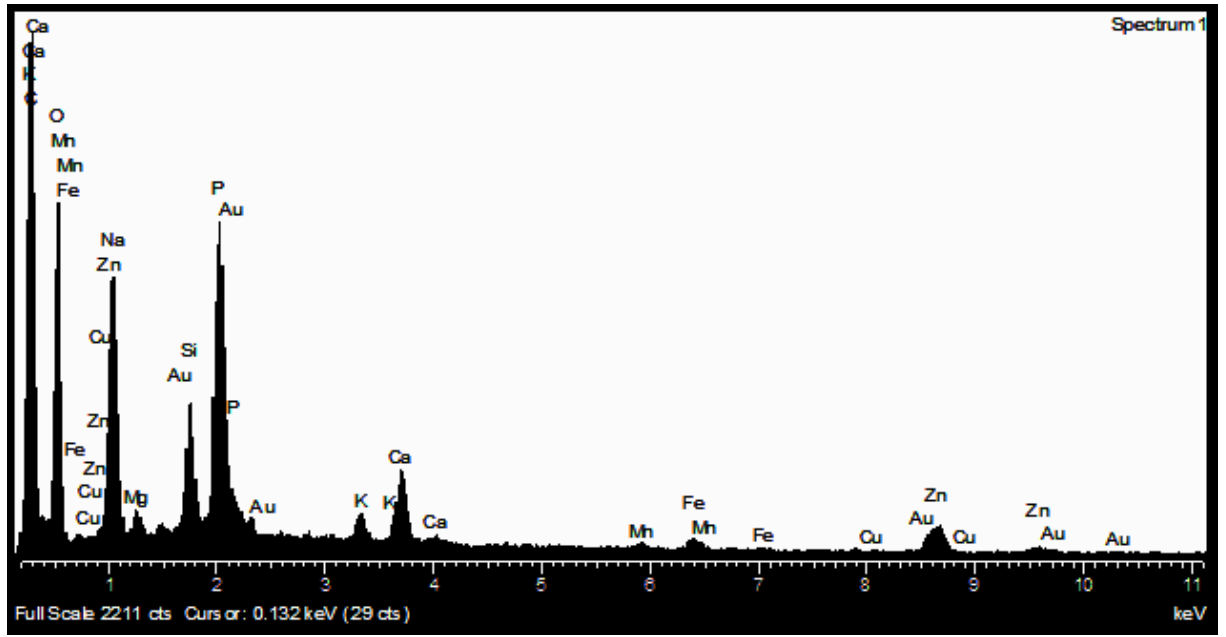
Şekil Ek 5.4 10 ppm'lik Fe^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde demirin yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları



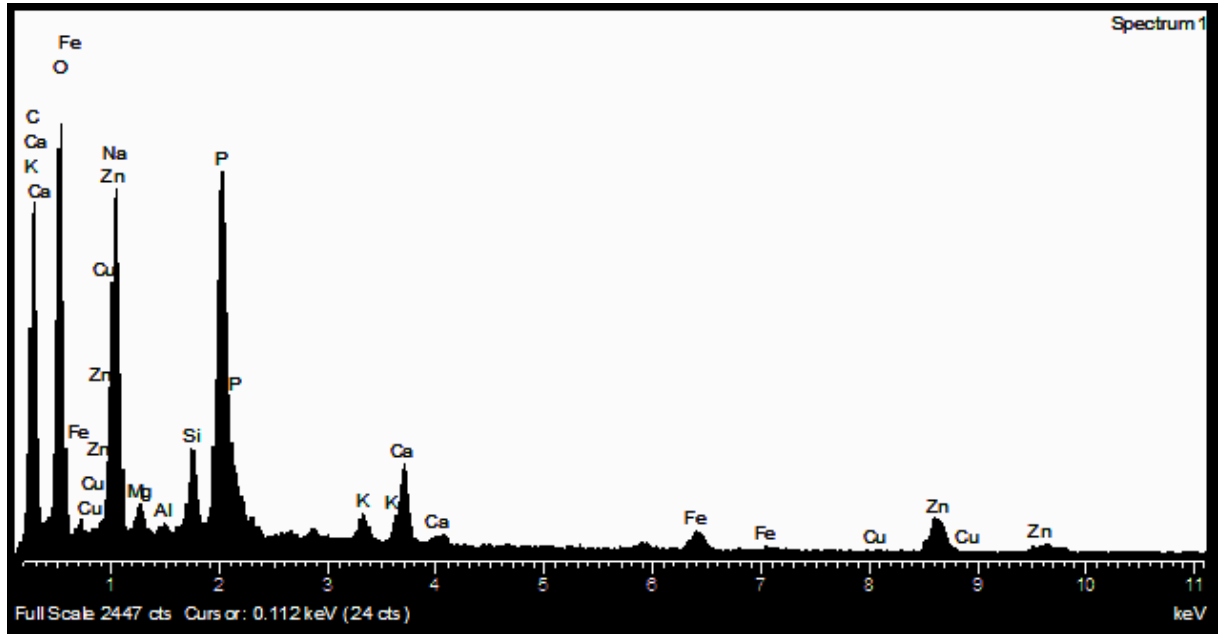
Şekil Ek 5.5 10 ppm'lik Fe^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde demirin az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları



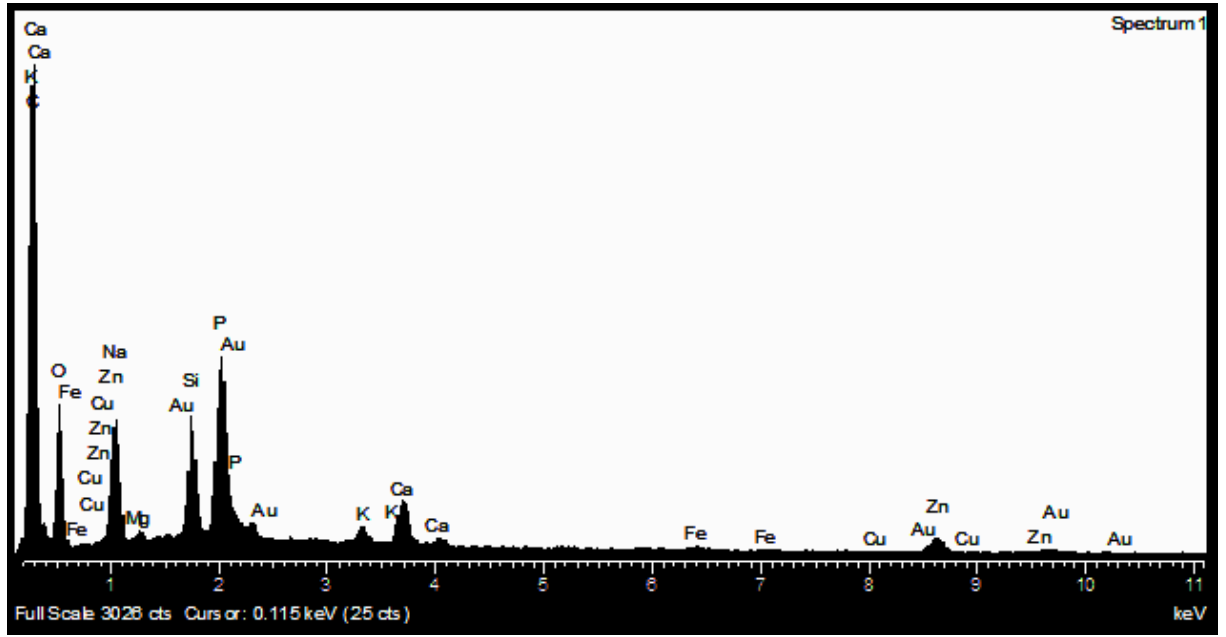
Şekil Ek 5.6 10 ppm'lik Fe^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde HDP yapıların olduğu bölgeye ait EDS sonuçları



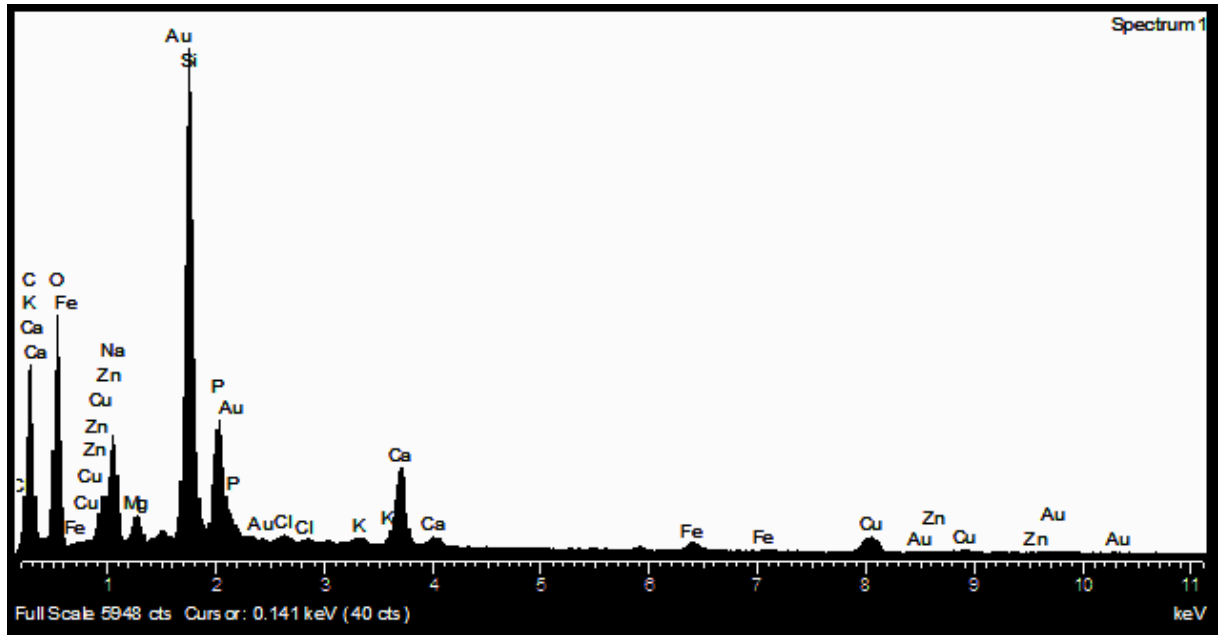
Şekil Ek 5.7 10 ppm'lik Zn^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerine ait genel EDS sonuçları



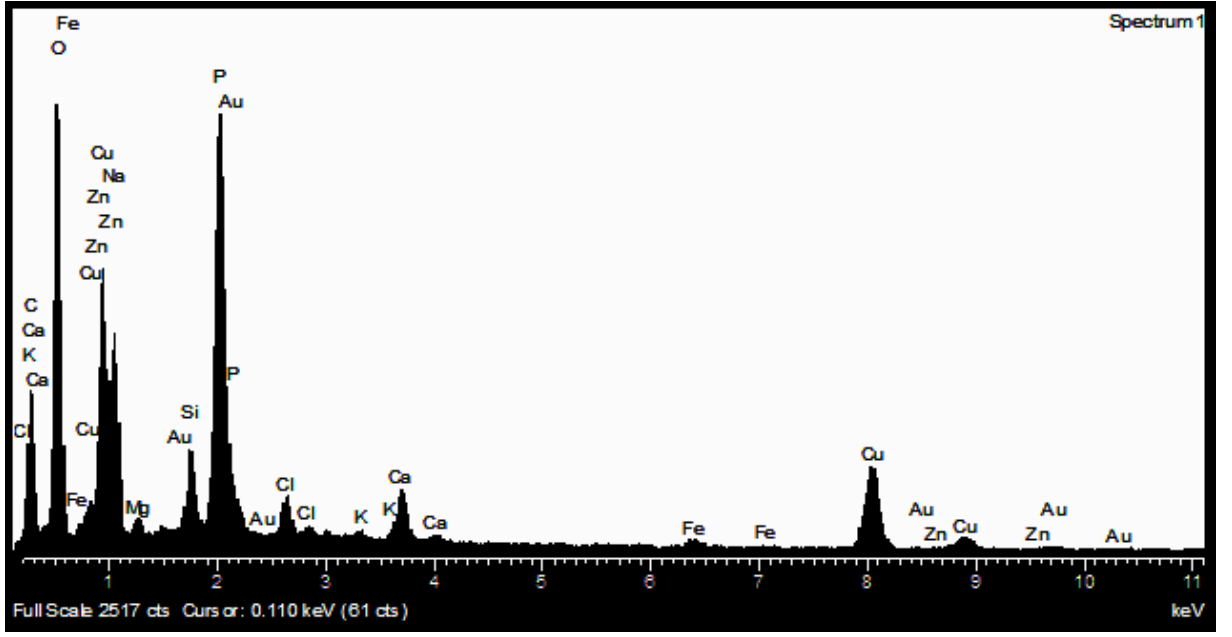
Şekil Ek 5.8 10 ppm'lik Zn^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları



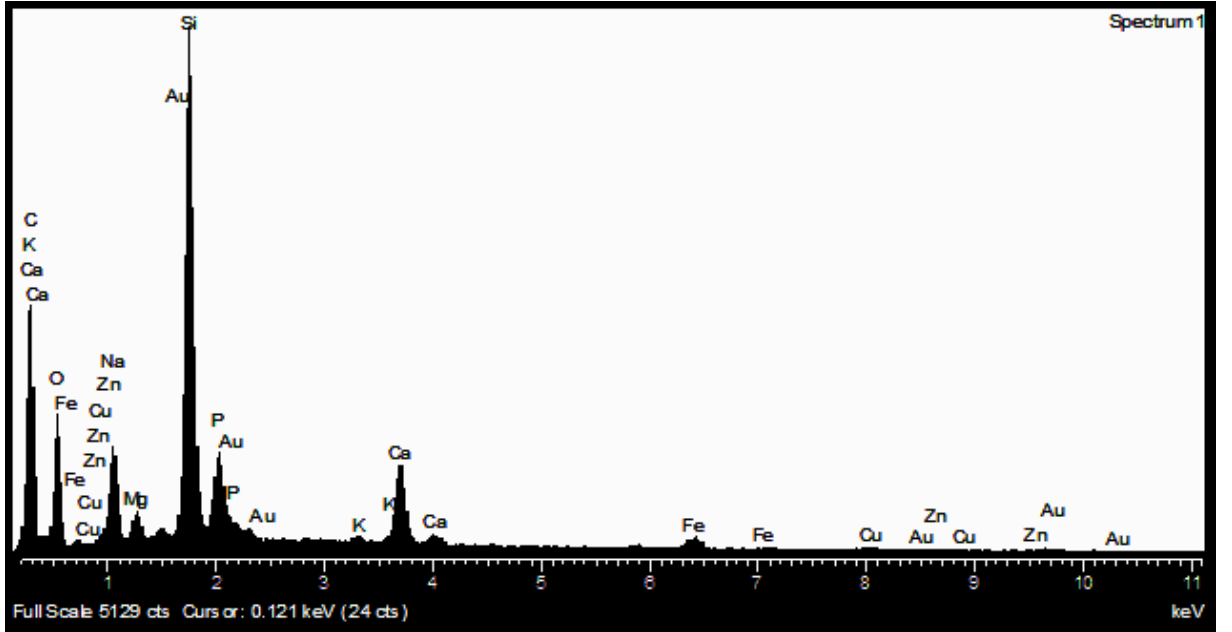
Şekil Ek 5.9 10 ppm'lik Zn^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde çinkonun az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları



Şekil Ek 5.10 5 ppm'lik Cu^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerine ait genel EDS sonuçları



Şekil Ek 5.11 5 ppm'lik Cu^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın yoğun olduğu bölgeye ait EDS sonuçları



Şekil Ek 5.12 5 ppm'lik Cu^{+2} metaline maruz kalmış siyanobakteri hücrelerinde bakırın az olduğu bölgeye ait EDS sonuçları

Ek 6 Ki-Kare Test Tablosu

Serbestlik Derecesi	Güven Aralığı (α)												
	.995	.990	.975	.950	.900	.750	.500	.250	.100	.050	.025	.010	.005
1	0.00004	0.00016	0.00098	0.00393	0.01579	0.10153	0.45494	1.32330	2.70554	3.84146	5.02389	6.63490	7.87944
2	0.01003	0.02010	0.05064	0.10259	0.21072	0.57536	1.38629	2.77259	4.60517	5.99146	7.37776	9.21034	10.59663
3	0.07172	0.11483	0.21580	0.35185	0.58437	1.21253	2.36597	4.10834	6.25139	7.81473	9.34840	11.34487	12.83816
4	0.20699	0.29711	0.48442	0.71072	1.06362	1.92256	3.35669	5.38527	7.77944	9.48773	11.14329	13.27670	14.86026
5	0.41174	0.55430	0.83121	1.14548	1.61031	2.67460	4.35146	6.62568	9.23636	11.07050	12.83250	15.08627	16.74960
6	0.67573	0.87209	1.23734	1.63538	2.20413	3.45460	5.34812	7.84080	10.64464	12.59159	14.44938	16.81189	18.54758
7	0.98926	1.23904	1.68987	2.16735	2.83311	4.25485	6.34581	9.03715	12.01704	14.06714	16.01276	18.47531	20.27774
8	1.34441	1.64650	2.17973	2.73264	3.48954	5.07064	7.34412	10.21885	13.36157	15.50731	17.53455	20.09024	21.95495
9	1.73493	2.08790	2.70039	3.32511	4.16816	5.89883	8.34283	11.38875	14.68366	16.91898	19.02277	21.66599	23.58935
10	2.15586	2.55821	3.24697	3.94030	4.86518	6.73720	9.34182	12.54886	15.98718	18.30704	20.48318	23.20925	25.18818
11	2.60322	3.05348	3.81575	4.57481	5.57778	7.58414	10.34100	13.70069	17.27501	19.67514	21.92005	24.72497	26.75685
12	3.07382	3.57057	4.40379	5.22603	6.30380	8.43842	11.34032	14.84540	18.54935	21.02607	23.33666	26.21697	28.29952
13	3.56503	4.10692	5.00875	5.89186	7.04150	9.29907	12.33976	15.98391	19.81193	22.36203	24.73560	27.68825	29.81947
14	4.07467	4.66043	5.62873	6.57063	7.78953	10.16531	13.33927	17.11693	21.06414	23.68479	26.11895	29.14124	31.31935
15	4.60092	5.22935	6.26214	7.26094	8.54676	11.03654	14.33886	18.24509	22.30713	24.99579	27.48839	30.57791	32.80132

ÖZGEÇMİŞ

Dogum tarihi	01.06.1977	
Dogum yeri	Nizip	
Lise	1991 –1994	Nizip Lisesi
Lisans	1995 –1999	Harran Üniv. Müh. Fak. Çevre Müh. Bölümü
Yüksek Lisans	1999 –2002	Harran Üniv. Fen Bilimleri Ens. Çevre Müh. ABD
Doktora	2004 –	YTÜ Fen Bilimleri Ens. Çevre Müh. ABD

Çalıştığı kurum(lar)

2000- 2003	Harran Üniversitesi	Araştırma Görevlisi
2003-	Yıldız Teknik Üniversitesi	Araştırma Görevlisi