

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

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**SULU ÇÖZELTİLERDEN KURŞUN VE KADMIYUMUN
Escherichiae coli İLE BİYOGİDERİMİ**

ELİF PALTA

ÇEVRE MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ADYAMAN, 2019

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

**SULU ÇÖZELTİLERDEN KURŞUN VE KADMİYUMUN
Escherichiae coli İLE BİYOGİDERİMİ**

Elif PALTA

Yüksek Lisans Tezi

Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Bu tez 29/07/2019 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oybirliği /
oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Dr. Öğr. Üyesi Aysel ALKAN UÇKUN
Danışman

Doç. Dr. Mehmet Fatih DİLEKOĞLU
Üye

Doç.Dr. Harun TÜRKMENLER
Üye

Prof.Dr. Murat KOCA
Enstitü Müdürü

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunu'ndaki hükümlere tabidir.

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SULU ÇÖZELTİLERDEN KURŞUN VE KADMIYUMUN *Escherichiae coli* İLE BİYOGİDERİMİ

Elif PALTA

Adıyaman Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman : Dr.Öğr.Üyesi Aysel ALKAN UÇKUN
Yıl : 2019, Sayfa sayısı: 71

Jüri : Doç.Dr. Mehmet Fatih DİLEKOĞLU
Doç.Dr. Harun TÜRKMENLER
Dr. Öğr. Üyesi Aysel ALKAN UÇKUN

Son zamanlarda metal içeren atık suların arıtımında biyolojik yöntemler, etkili, pratik ve ekonomik olmaları nedeniyle konvansiyonel, fiziksel, kimyasal arıtım yöntemlerine tercih edilmekte ve bilimsel araştırmalar bu yönde ağırlık kazanmaktadır.

Kurşun ve kadmiyum endüstriyel atık sularda en fazla bulunan ve canlılara önemli toksik etkileri olan metallere aittir. Bu çalışmada, farklı konsantrasyonlarda kurşun ve kadmiyum içeren sulu çözeltilerden *Escherichiae coli* suşu kullanılarak biyogiderim denemeleri yapılmıştır. Bunun için, öncelikle kurşun ve kadmiyum metallerinin minimum inhibisyon konsantrasyonları hesaplanmış (kurşun için 500 ppm; kadmiyum için 50 ppm), daha sonra belirlenen bu konsantrasyonların alt dozları (kurşun için 62,5, 125, 250 ppm; kadmiyum için 6,25, 12,5, 25 ppm) 24 saat uygulanarak besi yerinde kalan, bakteri hücre yüzeyinde tutulan ve hücre içinde biriken metal düzeyleri atomik absorpsiyon spektroskopisinde belirlenmiştir. Hücre içinde en fazla birikim kontrol grubuna göre %7'lik bir farkla 12,5 ve 25 ppm dozunda kadmiyum uygulaması sonucunda, hücre yüzeyine en fazla tutulum ise kontrole göre %44'lük bir artış ile 250 ppm kurşun uygulaması sonucunda gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçları ile bundan sonraki kurşun ve kadmiyum biyoremediasyonu/ biyosorpsiyonu/ biyoakümülasyonu çalışmalarına bir ön fikir kazandırılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Kurşun; Kadmiyum; Biyogiderim; Atık Su.

ABSTRACT

MSc Thesis

BIOREMEDIATION OF LEAD AND CADMIUM FROM WATER SOLUTIONS WITH *Escherichiae coli*

Elif PALTA

Adiyaman University
Institute of Science and Technology
Department of Environmental Engineering

Supervisor : Dr. Aysel ALKAN UÇKUN
Year : 2019, Number of pages: 71

Jury : Assoc. Prof. Dr. Mehmet Fatih DİLEKOĞLU
Assoc. Prof. Dr. Harun TÜRKMENLER
Dr. Aysel ALKAN UÇKUN

Recently, biological methods in the treatment of metal-containing wastewater are preferred to conventional physical chemical treatment methods because they are effective, practical and economical and scientific research is gaining importance in this direction.

Lead and cadmium are the most common industrial wastewater and have significant toxic effects on living organisms. In this study, bioassay experiments were carried out using different concentrations of lead and cadmium-containing solutions using *Escherichiae coli* strain. For this purpose, the minimum inhibition concentrations for lead and cadmium metals were calculated (500 ppm for lead; 50 ppm for cadmium), then the sub-doses of these concentrations (62,5, 125, 250 ppm for lead, 6,25, 12,5, 25 ppm for cadmium) were applied for 24 hours and the levels of metal that remained in the broth, kept on the bacterial cell surface and deposited in the cell were determined by atomic absorption spectroscopy. As a result of the application of cadmium at a dose of 25 ppm with a difference of 6,97% according to the control group, the maximum accumulation was observed as a result of 250 ppm lead application with an increase of 44,83% compared to the control. With the results of this study, a preliminary idea was given to the studies of lead and cadmium bioremediation / biosorption / bioaccumulation.

Key Words: Lead; Cadmium; Bioremediation; Wastewater.

DESTEKLER

Bu çalışmamızda kullanmış olduğumuz *E. coli* ATCC 25922 suşu Adıyaman Üniversitesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Doç.Dr. Hesna YİĞİT'ten temin edilmiştir.



BEYAN

"Sulu özelti­lerden Kurşun ve Kadmiyumun *Escherichiae Coli* ile Biyogiderimi" başlıklı tezimde çalışmaların tamamen akademik kurallara ve etik değ­erlere sadık kalınarak yürütüldüğünü ve yazımda yararlandığım eserlerin kaynakçada gösterilenlerden oluştuğunu ayrıca alıntılardan bilimsel etiğe uygun atıf yaparak yararlanmış olduğumu beyan ederim.

Elif PALTA

TEŞEKKÜR

Zorlu geçen bu Yüksek Lisans tez döneminin her aşamasında bana desteğini esirgemedi yardımcı olan değerli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Aysel ALKAN UÇKUN 'a ve değerli eşim Mehmet PALTA ' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
DESTEKLER.....	III
BEYAN.....	IV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
ÇİZELGELER DİZİNİ	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
RESİMLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XI
1. GİRİŞ	1
1.1. Çevre Kirliliği.....	3
1.1.1. Çevre Kirliliğine Genel Bakış.....	3
1.1.2. Su Kirliliği	3
1.1.3. Su Kirlenmesinin Nedenleri ve Çeşitleri	4
1.1.4. Su Kalitesi Standartları	5
1.2. Atık Su.....	6
1.2.1. Atık su Arıtma Yöntemleri	7
1.2.1.1. Fiziksel Temel İşlemler.....	7
1.2.1.2. Kimyasal Temel İşlemler	8
1.2.1.3. Biyolojik İşlemler.....	8
1.3. Ağır Metaller	9
1.3.1. Ağır Metallerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri.....	9
1.3.2. Atık Suların Fiziksel Özellikleri	11
1.3.3. Atık Suların Kimyasal Özellikleri	11
1.3.4. Atık Suların Biyolojik Özellikleri.....	12
1.4. Kadmiyum	13
1.4.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	13
1.4.2. Tabiatta Bulunuşu	13
1.4.3. Kullanım Alanları	14
1.4.4. Etkileri	15
1.5. Kurşun	15
1.5.1. Kurşun Elementinin İnsan Vücuduna Alınma Biçimleri.....	17
1.5.2. Kurşun Toksisitesi	18
1.5.3. Kurşun Kirliliği.....	18
1.6. Ağır Metal Stresi	19
1.7. Metallerin Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi	19
1.7.1. Mikroorganizmaların Metallere Karşı Direnç Mekanizmaları	20
1.7.2. Biyobirikim (Biyoakümülyasyon)	21
1.7.3. Biyosorpsiyon	21
1.7.3.1. Biyosorpsiyon Mekanizmaları	23
1.7.3.2. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler	25
1.7.3.3. Biyosorpsiyon Amacı ile Kullanılan Mikroorganizmalar	27

1.8.	<i>Escherichiae coli</i>	27
1.8.1.	Su Saflaştırılması ve Evsel Atık Su Arıtımında Önemi.....	28
1.8.2.	Bakterinin Hastalıkta Rolü.....	29
1.8.3.	Virülans Faktörleri	30
1.8.4.	Suşlar	32
2.	YAPILAN ÇALIŞMALAR	34
3.	MATERYAL VE YÖNTEM	38
3.1.	Araştırmalarda Kullanılan Bakteri ve Saklanma Koşulları	38
3.2.	Araştırmalarda Kullanılan Besiyerleri.....	38
3.3.	Araştırmalarda Kullanılan Metaller.....	38
3.4.	Kültür Koşulları.....	39
3.5.	Metal Giderim Tayini	40
3.5.1.	Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) Tayin Metodu	40
3.5.2.	Besiyerinde Kalan Metal Miktarı	40
3.5.3.	Hücre Yüzeyinde Emilim-Tutunma.....	40
3.5.4.	Hücre İçinde Birikim	41
4.	SONUÇLAR VE TARTIŞMA	42
	KAYNAKLAR	52
	KİŞİSEL BİLGİLER.....	58

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Akarsuların ihtiva ettiği çözünmüş oksijen konsantrasyonuna göre sınıflandırılması	6
Çizelge 1.2 Ağır metalleri insan sağlığına etkileri.....	10
Çizelge 3.1 Metal isimleri ve MA 'sı tuz formlarının kimyasal formülü ve MA'sı.	39
Çizelge 4.1 Farklı dozlarda Cd uygulamasına bağlı olarak elde edilen OD ₆₀₀ absorbans değerleri	42
Çizelge 4.2 Farklı dozlarda Cd uygulamasına bağlı olarak elde edilen canlı hücre sayıları.....	43
Çizelge 4.3 Farklı dozlarda Pb uygulamasına bağlı olarak elde edilen OD ₆₀₀ absorbans değerleri	44
Çizelge 4.4 Farklı dozlarda Pb uygulamasına bağlı olarak elde edilen canlı hücre sayıları.....	44
Çizelge 4.5 Atomik adsorpsiyon spektroskopisi kurşun kalıntı değerleri.....	45
Çizelge 4.6 Atomik adsorpsiyon spektroskopisi kadmiyum kalıntı değerleri	47

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1	Mikroorganizmaların metallerle ilişkilerine göre biyoremediasyon teknikleri.....	22
Şekil 1.2	Biyosorpsiyon mekanizması	23
	a.Hücre metabolizmasına göre sınıflandırılmış.....	23
	b.Metal alımının gerçekleştiği bölgelere göre sınıflandırılmış	24
Şekil 4.1	Cd uygulama dozu ve süresine göre MIC değeri ve mikrobiyal büyüme eğrisi	43
Şekil 4.2	Pb uygulama dozu ve süresine göre MIC değeri ve mikrobiyal büyüme eğrisi	45
Şekil 4.3.	62,5 ppm dozunda kurşunun AAS kalıntı değerleri.....	46
Şekil 4.4	125 ppm dozunda kurşunun AAS kalıntı değerleri.....	46
Şekil 4.5	250 ppm dozunda kurşunun AAS kalıntı değerleri.....	46
Şekil 4.6	6,25 ppm dozunda kadmiyumun AAS kalıntı değerleri	48
Şekil 4.7	12,5 ppm dozunda kadmiyumun AAS kalıntı değerleri	48
Şekil 4.8	25 ppm dozunda kadmiyumun AAS kalıntı değerleri	48

RESİMLER DİZİNİ

- Resim 1.1 Kadmiyum yayınıımı (katı ve sıvı ortam toplam) $\text{kg/ km}^2/\text{ yıl2001.....}$ 14
Resim 1.2 Kurşun yayınıımı (katı ve sıvı ortam toplam) $\text{kg/ km}^2/\text{ yıl2001}$ 17



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

°C	: Santigrat
Cd	: Kadmiyum
cm ³	: Santimetreküp
g	: Gram
kob	: Koloni oluşturma birimi
L	: Litre
Mg	: Miligram
mL	: Mililitre
Pb	: Kurşun
PbS	: Kurşun sülfür
Ph	: Hidrojen İyon Konsantrasyonunun eksi logaritması
Rpm	: Dakikadaki devir sayısı
µg	: mikrogram

Kısaltmalar

AAS	: Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi
BOİ	: Biyokimyasal Oksijen İhtiyacı
EPS	: Ekzopolisakkarit
KOİ	: Kimyasal Oksijen İhtiyacı
LPS	: Lipopolisakkarit
MA	: Moleküler Ağırlık
NAG	: N-asetilglukozamin
NAM	: N-asetilmuramik asit
WHO	: Dünya Sağlık Örgüt

1. GİRİŞ

Teknolojinin gelişmesi ile metal kirleticiler de artmaktadır. Bu kirleticiler çoğunlukla su içerisinde bulunmaktadır. Sularda oluşan toplanmalardan kaynaklanan kirleticilerin neden olduğu durumlar; evsel, zirai, endüstriyel atıklar veya çeşitli nedenlerle çevreye bırakılan metal atıklardır [1]. pH, kadmiyumun suda çözünürlüğünü etkilemektedir. Doğal kaynaklı sularda 0,001 mg/L den az kadmiyum bulunur. Başka sularda bu oran 0,010 mg/L' ye ulaşmaktadır. Sucul ortamdaki canlılar için gerekli olan yüzey suyunun kadmiyum değeri ortalama 0,0002 mg/L olarak belirtilmiştir [2]. Kurşun, doğada az, fakat yaygın olarak bulunan bir elementtir. Kurşuna göre yüzey ve yeraltı sularında ortalama olarak 0,01 mg/L oranında bulunmaktadır. Kurşun kirliliği endüstriyel veya maden kaynaklı gibi görünse de çoğunlukla tesisat kaynaklıdır. Kurşunun endüstriyel alandaki yaygınlığı, çevresel ve mesleki alandaki kullanımı da yaygınlığının artmasına sebep olmuştur. İnsanlar için önemli yarar ve alternatif sunan teknolojik ürünler, bu avantajın yanında atıklara da maruz bırakmaktadır. Bu atıklar sıvı veya katı atıklar olabilir. Bu atıkların arıtılması için gerekli ve yeterli arıtım yapılmamaktadır. Yeterli bir arıtım yapılması da endüstriyel kuruluşlar için masraflı olmaktadır. Hem arıtımın kolay ve etkili olması hem de endüstri kuruluşları için pahalıya mal olmadan yapılacak arıtmalar bilimsel açıdan araştırılmaya devam edilmektedir [3]. Endüstri kuruluşlarının neden olduğu ağır metaller çevrenin kirlenmesine ve ekosistemin bozulmasına neden olmaktadır. Bazı endüstri kuruluşları metal iyonları içeren ağır metaller kullanmaktadırlar. Bunlar krom, kurşun, çinko, bakır, arsenik, gümüş, kobalt gibi metallerdir. Bu metallere maruz kalan atık suların arıtımında fiziksel-kimyasal yöntemler olumlu sonuçlar verebilir. Ancak maliyetlerinin yüksek olması, karmaşık bir sisteme sahip olmaları, arıtım proseslerinin zorluklar içermesi ve arıtım verimliliğinin istenilen seviyede olmaması endüstri kuruluşlarının bu yöntemleri tercih etmemesinin başlıca sebepleridir. Özellikle arıtım verimliliğinin yeterli olmamasından dolayı nehirlerle, denizlere, göllere bırakılan bu sular, kirliliğe sebep olmaktadır. Bu kirlilik sucul ortamlarda yaşayan veya bu ortamları kullanan canlılar için zehirli bir alan oluşturmaktadır. Arıtım sistemlerinde bölünemeyen bu metaller biyolojik arıtım

süreçlerinin önemli bir parçası olan mikroorganizmaları da az bir miktarda bile olsa zehirleyebilmektedir. Bu nedenle de yapılacak arıtımın istenilen amaca ulaşamadığı görülmektedir [4]. Araştırmacılar tarafından sıvı atıkların ağır metallerden arıtılmasında kullanılabilecek birçok yöntem bulunmuştur fakat bu yöntemler birtakım dezavantajlara sahiptir. Bu dezavantajların en önemlileri toksik çamur üretimi, öngörülemeyen metal giderimi ve yüksek reaktif ihtiyacıdır. Tüm bu dezavantajlar göz önüne alındığında etkili metal giderimi yapabilecek, çevreyle dost ve düşük maliyetli yöntemler geliştirme ihtiyacı ortaya çıkmıştır. Metal giderimi için araştırmacılar algal ve bakteriyel biyomas gibi biyolojik materyaller üzerine çalışmalar yapmışlardır. Araştırmacılar kirletilmiş suların arıtılmasında mikroorganizmaların etkili olacağı konusunda fikir birliğine varmışlardır. Çünkü atık sulardaki ağır metallerden ve kirleticilerden en çok etkilenen canlılar mikroorganizmalardır. Metallerle kirletilmiş suların biyosorbsiyon prosesinin iki temel amacı vardır. Bir yandan atık sulardan cıva, kurşun, kadmiyum gibi toksik etki yaratabilecek ağır metalleri arıtmaya çalışırken, diğer yandan da platin, altın, gümüş gibi değerli metalleri geri kazanmak amaçlanmıştır [5]. Sonuç olarak; maliyetlerinin düşük olması, pratik ve kullanışlı olmaları ve verimlilik açısından diğer yöntemlerle kıyaslandığında yüksek verimlilik içermesinden dolayı metallerin biyolojik metodlarla giderilmesi ve geri kazanılması tercih edilen bir yöntem olmuştur [3].

Bu çalışmada, ağır metallerin gerek endüstriyel atık sulardan gerekse ağır metal ile kirlenmiş veya kirletilmiş çevresel su kaynaklarından uzaklaştırılmasında önemli bir potansiyele sahip bakterilerin etkin bir şekilde kullanılması amaçlanmıştır. Bunun için atık sularda en fazla bulunan ve toksik etki gösteren iki metalin (kurşun ve kadmiyum) laboratuvar çalışmalarında pratik olarak kullanılan *Escherichiae coli* yabancıl suşu ile biyolojik olarak giderimine yönelik laboratuvar çalışmaları yapılmıştır.

1.1. Çevre Kirliliği**1.1.1. Çevre Kirliliğine Genel Bakış**

Çevre sorunlarının tarihi 1800'lü yıllara dayanmaktadır ve bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. 1869'da Massachusetts Halk Sağlığı komitesi tarafından ele alınan bu konuda bir de bildiri yayınlanmıştır. Yayınlanan bu bildiride suyun, toprağın ve temiz bir havanın her insanın hakkı olduğunu ve bu haklara tek bir kişi ya da grup değil, bütün insanların sahip çıkıp, değerlerinin bilinmesi gerektiği vurgulanmıştır. Malesef bu yayınlanan bildiri yetkili kişiler tarafından hayata geçirilmemiştir. Stocholm'de 1972 yılında düzenlenen 'Dünya Çevre Sorunları Konferansı' ile çevre sorunları ele alınıp, tüm dünyaya duyurulması sağlanmıştır. Çevreye zarar veren atıklar, kaynakları bakımından üç grupta toplanabilir: tehlikeli atıklar, evsel atıklar ve özel atıklar olmak üzere üç gruba ayrılır [6].

1.1.2. Su Kirliliği

Su, iki hidrojen ve bir oksijen atomundan meydana gelmiş, rengi tadı ve kokusu olmayan maddeye denir. Su bütün canlıların yaşamsal faaliyeti için çok önemlidir [7]. Su kirliliğinin en büyük sorunu atıklardır. Sanayinin artmasıyla her geçen gün su kirliliği de artmaktadır. Bu kirlilik kimyasal, fiziksel ve ekolojik gibi daha birçok sebeplerden dolayı, suyun doğrudan veya dolaylı olarak kirlenmesine neden olmaktadır [4]. Yıllar geçtikçe insanların suya olan gereksinimleri de artmıştır ve bu gereksinim insanların su kaynaklarına olumsuz etki etmelerine neden olmuştur. Sanayinin hızla gelişmesi ve üretim sırasında meydana gelen atıklar suyun önemli oranda kirlenmesine neden olmaktadır. Tarım ve zirai ilaç kullanımları da suların kirlenmesine neden olan sorunlardan biridir. Teknolojinin ve nüfusun artmasıyla üretim ve tüketim de artmaktadır. Bunun sonucu kirlenmenin oranı da artmaktadır [8].

1.1.3 Su Kirlenmesinin Nedenleri ve Çeşitleri

Çağın ilerlemesiyle ağır metal kullanımı da artmaktadır. Ağır metaller zehirleyici bir etkiye sahiptirler. Ağır metallerin sulu ortama verilmesi orada yaşayan canlılar için zehirleyici etki oluşturmaktadır ve canlıların yaşamlarını da olumsuz etkilemektedir. Bu metaller kirlenmesine neden oldukları suların, temizlenmesine mani olmaktadır ve aynı zamanda sulama konusunda bazı kısıtlamalar meydana getirmektedir [9].

Yüzeysel sularda su kirliliğine neden olan unsurlar, WHO tarafından şu şekilde sınıflandırılmıştır.

1. Organik maddeler
2. Bakteri, virüs vd. hastalık yapan canlılar
3. Endüstriyel atıklar
4. Radyoaktivite
5. Zirai mücadele ilaçları
6. Yağlar ve benzeri maddeler
7. Sentetik deterjanlar
8. Ağır metaller
9. Atık ısı
10. Yapay organik kimyasal maddeler
11. Yapay doğal tarımsal gübreler

11 başlıkta sınıflandırılan bu kirleticilerin 4 ana kaynaktan oluştuğu kabul edilir. Bunlar;

1. Evsel atıklar
2. Tarımsal faaliyetler
3. Endüstriyel işlem ve atıklar
4. Diğer birçok kaynaklardır.

1.1.4. Su Kalitesi Standartları

Su kalitesi standartları konusu çok karmaşık ve çok kapsamlı olduğundan, şuan halen belli bir belge bulunmamaktadır. Bu sorunlara rağmen yerel de olsa su standartlarına uygun belge çıkarılmış ve bu iki başlıkta toplanmıştır [10].

1. Atık suların kalitesini dikkate alan standartlar
2. Atık sulardaki su kalitesini dikkate alan standartlar

Suyun kalitesi kadar temizliği de önemlidir ve su kullanım amacına göre değişmektedir. Bunları sıralayacak olursak;

1. İçme ve kullanma suyu
2. Tarımsal sulama suyu
3. Bilimsel araştırma ve sağlık
4. Doğa çevre, balık, vahşi yaşam suyu
5. Endüstriyel amaçlı kullanılan su

Bu sınıflandırılmış olan örnekler amaçlarına göre değişiklik gösterebilir. Yani su kullanımı biri için uygun iken diğeri için tehlike arz edebilir. Akarsular için konuyu daha da anlaşılır kılmak için bazı metinler çıkarılmıştır. Bunların arasında en dikkat çeken 1965'de Amerika'da çıkarılan kanun olmuştur. Bu kanunda akarsu içlerinde çözülmüş halde bulunan oksijen konsantrasyonuna göre A, B, C ve D olarak 4 başlığa ayrılan bir kanundur. Belirtilen bu kanuna göre akarsuların içerdiği oksijen konsantrasyonları Çizelge 1. 1'de verilmiştir.

Çizelge 1.1 Akarsuların ihtiva ettiği çözünmüş oksijen konsantrasyonuna (ÇOK) göre sınıflandırılması

Akarsu Grubu	ÇOK (mg/l)	Kullanılacağı yerler	Koliformları (100 mL de)
A	5 (en az)	İçme ve evlerde her amaç için	50 (en çok)
B	4 (en az)	Spor işlerinde,balıkçılıkta içme hariç her işte	500 (en çok)
C	4 (en az)	Temas edilmeyen hallerde balıkçılıkta,gezinti vs.	5000 (en çok)
D	3 (en az)	Tarım endüstri sayılan yerlerin dışında	-

Ağır metaller suyun kirlenmesinde en büyük sorunların başında gelmektedir. Çevreye yayılması sonucu bulunan tüm canlılar için zararlı etki göstermektedir [4].

1.2. Atık Su

Evde veya herhangi bir endüstri sanayi kuruluşunda, tarımda, hayvancılıkta, kullanılan suyun temas sonrası kullanılamayacak hale gelmesine denir. Çünkü su her ne amaçla olursa olsun en ufak bir temasla hijyenik değerlerini kaybeder. Ayrıca göller, denizler gibi yer altı sularının kirlenmesine de neden olur ve bu durum atık su olarak ifade edilir. Kirleticileri genel olarak sıralarsak; deterjanlar, azot, fosfor, siyanür, ağır metal bileşikleri, organik ve inorganik maddelerdir [11]. Üç durumda bozulma görülmektedir. Bunlar; fiziksel, kimyasal ve biyolojiktir. Fiziksel kirlenmeyi renk, koku, bulanıklık ve toplam katı madde oluşturmaktadır. Biyolojik kirliliği ise sulu ortamda üreme gösteren algler, bakteriler ve funguslar oluşturur. Bunlar zamanla sudaki oksijen, karbon, azot gibi maddeleri tüketmektedirler. Kimyasal kirlilik ağır metallerin suda birikmesi sonucu, biyolojik olarak parçalanmayan ya da parçalanamayan organik madde kalıntılarından ve inorganik atıklardan oluşmaktadır. Bunlar aynı zamanda besin yoluyla gıdalara kadar ulaşır, canlılar üzerinde toksik etki oluşturur

[12]. Sulardaki bu kirliliğe neden olan kirleticilerin, belirlenen su standartlarına uygunluğunun kontrol edilmesi ve belirlenen seviyeye indirilmesi gerekmektedir [13].

Atık sular evsel ve endüstriyel olarak ikiye ayrılır;

Endüstriyel atık sular Endüstriyel tesislerde hammaddelerin işlenmesi ve ürün üretilmesi sonucu oluşan sulara denir. Ürün çıkarma aşamasında ortaya çıkan atık sulara pişirme, yıkama, ısıtma, ayırma, taşıma gibi etkenler neden olmaktadır. Endüstriyel atıklar biyolojik olarak kolayca ayrışabilen ya da tam tersi toksik etki oluşturabilen maddeler içermektedir [13].

Atık sulardaki kirliliğe; ağır metaller, azot, fosfor, siyanür, hastalık yapan mikroorganizmalar, kalıcı organikler, çözünmüş inorganik katılar, asitler, renk, koku, ısırlı kirlenme gibi birçok neden etkili olmaktadır [14].

Evsel atık sular Okul, hastane, otel gibi hizmet sektörlerinden kaynaklı %1 ve %5 arası organik ve inorganik maddelerden oluşmuş sulara denir. Bu atık sular içerisinde karbon, azot, fosfor ve mikroorganizmalar gibi kirleticiler barındırmaktadır [15].

1.2.1. Atık su Arıtma Yöntemleri

Başta insan olmak üzere atık sular, tüm canlıların yaşamını ve doğal dengesini olumsuz yönde etkilemektedir. Atık su ilk defa 1870'de Amerika'da arıtmaya başlanmış ve devamında gelişmiş ülkeler başta olmak üzere dünya ülkeleri bu uygulamaya tabi tutulmuştur [13]. Atık sulardaki istenen öncelik, atık suların kullanım yerine ve amacına göre belirlenen düzeye indirilmesidir. Atık suyu istenilen düzeye indirmek için kullanılan yöntemler kimyasal, fiziksel ve biyolojik olarak üç başlıkta toplanabilir [15].

1.2.1.1. Fiziksel Temel İşlemler

Fiziksel arıtmada fiziksel kuvvetlerin kullanılmasıyla yapılan uygulamalara denir. Fiziksel arıtma işlemleri sedimentasyon, flotasyon, karıştırma, ızgara ve gaz

transferidir. Bu arıtımda kirletilmiş su içerisindeki kaba maddeler temizlenerek biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ) düşük olan sular haline getirilir [16].

1.2.1.2. Kimyasal Temel İşlemler

Kimyasal işlemler, atık sulardan kirletici maddelerin giderilmesini veya dönüştürülmesini sağlayan arıtım sürecidir. Bu arıtım atık sulara kimyasal maddelerin eklenmesi ya da suların kimyasal tepkimelere maruz bırakılmasıyla sağlanmaktadır. Kirletilmiş suların arıtılmasında en yaygın kullanılan kimyasal metodlar adsorpsiyon, koagülasyon, flokülasyon, dezenfeksiyon ve çöktürmedir [13].

1.2.1.3. Biyolojik İşlemler

Bakterilerin kullanıldığı prosesler yoluyla atık sulardan organik maddelerin giderilmesi işlemine biyolojik arıtma işlemi denir. Biyolojik arıtma işlemleri aerobik ve anaerobik işlemler olarak iki başlık altında değerlendirilir. Arıtma süreci esnasında ortamda hava bulunuyorsa bu işleme aerobik biyolojik arıtma işlemi denir. Biyofilm ve aktif çamur yöntemleri bu işleme birer örnektir. Anaerobik biyolojik arıtma işlemi ise arıtma sürecinde arıtma ortamında havanın bulunmadığı işlemlerdir. Sürekli karışimli reaktörler, akışkan yataklı sistemler ve anaerobik filtreler bu arıtma metodunda kullanılabilen bazı uygulamalardır. Yapılan arıtım işlemlerinin ne denli etkili olduğunu görebilmek için bu yöntemler birincil, ikincil ve üçüncül arıtım basamakları olarak sınıflandırılmıştır. Birincil arıtım basamağında fiziksel temel işlemler kullanılmaktadır. İkincil arıtım basamağında kimyasal ve biyolojik temel işlemler birlikte kullanılmaktadır. Tüm yöntemlerin birlikte kullanıldığı ve ileri arıtım olarak kabul edilen arıtım basamağı ise üçüncül arıtım basamağı olarak adlandırılmaktadır [13].

1.3. Ağır Metaller

Yunanca bir kökten gelen metal sözcüğü, aramak, peşinden gitmek anlamına gelmektedir [17]. Metaller en değerli maddeler arasında yer almaktadır. Bu metaller çok uzun yıllar önce bile insanlar tarafından kullanılmaktadır [18].

Yoğunluğu 5 g/cm^3 den büyük olan metaller için ağır metal terimi kullanılmaktadır. Kullanım alanları metal kaplama endüstrisi, boru, boya, silah ve lastik endüstrileridir. Sulu ortamda biyolojik olarak ayrışamaması diğer kirleticilere göre daha önemli olduğunu göstermektedir. Ağır metaller uzun bir yol sonunda besin zincirine kadar girip canlı dokularında birikme göstermektedir. Aynı zamanda insanlar için de toksik etki göstermektedir ve sağlığı olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle çeitli yöntemlerle sulardan biran önce giderim sağlanmalıdır [4].

1.3.1. Ağır Metallerin İnsan Sağlığı Üzerindeki Etkileri

Ağır metaller önemli olduğu kadar tehlikeli maddelerdir. Çevre sorunlarının en başında ağır metal kirlenmesi yer almaktadır. Özellikle endüstriyel atıklardan meydana gelen kirleticilerin su kirliliğinde rolü büyüktür. Bu metaller; insanlar için olduğu kadar hayvan ve bitkiler için de tehlike arz etmektedir. Çeşitli yollarla insan vücuduna giren bu metaller ciddi hastalıklara neden olduğu gibi ölümle bile sonuçlanmaktadır [4].

Çizelge 1.2. Ağır metallerin insan sağlığına etkileri

Ağır Metaller	Olumsuz Etkiler	Sağlık Problemi
Kurşun, Cıva, Krom, Nikel, Fosfor, Demir, Eter, Benzen, Formaldehit, Trikloretilen	Nörolojik Etkiler	IQ2DQ Gerileme, okul aktivitesinde azalma, dikkat toplama güçlüğü, unutkanlık, aşırı huzursuzluk, davranış bozuklukları, işitme azlığı, kurşu nöropatisi, koma, ölüm
Nikel, Alüminyum, Eter, Formaldehit	Solunum sistemi üzerine etkileri	Öksürük, nefes darlığı, morarma, retrosetral ağrısı, taşikardi, ölüm
Cıva, Krom, Fosfor, Demir, Benzen, Anilin, Ksilen	Hematolojik Etkiler	Öksürük, nefes darlığı, morarma, retrosetral ağrısı, taşikardi, ölüm
Kurşun, Sülfonal, Ksilen	Endokrin Etkileri	Vitamin D metabolizmasında bozulma, hücre gelişimi ve maturasyonunda bozulma
Kurşun, Cıva, Krom, Nikel, Fosfor, Anilin, Fenol, Formaldehit, Trikloretilen	Renal Etkiler	Renal tübüler disfonksiyon kronik interstisyel nefropati ürik asit atılımında azalma, bun ve serumkreatinin aminoasiduri, glikozüri, fosfatüri
Kurşun	Reprodiktif Etkiler	Düşük doğum ağırlığı, prematüre doğum spontan abortus, sperm sayısı ve motilesinde azalma
Kurşun	Kan basıncına Etkileri	Sistolik kan basıncında artış
Kurşun, Cıva, Krom, Nikel, Trikloretıl	Karsinojik Etkiler	Farelerde böbrek timörü, İnsanda akciğer kanseri
Nikel, Benzen, Anilin, Fenol, Formaldehit, Silen	Dermatolojik Etkiler	Kaşıntı, kızarıklık, kanama, deride parestezi

1.3.2. Atık Suların Fiziksel Özellikleri

Toplam katı madde: Evsel atık sular, 720 mg/l toplam katı madde içermektedir. Bunun yaklaşık 500 mg/l'si çözünmüş halde bulunurken, diğer kalanı askıda katı durumdadır. Bu çözünmüş ve askıda katı maddeler uçucu ve sabit halde olabilirler.

Koku: Fiziksel özelliklerinden bir diğeri kokudur. Atık su içindeki organik maddelerin bozulması sonucunda gaz oluşmaktadır. Bu gazlar daha sonra kokuya neden olmaktadır. Bunlara örnek verilecek olursa yağlar, petrol, organik çözücüler kokuya neden olmaktadır.

Sıcaklık: Kış aylarında hava sıcaklığıyla kıyaslandığı zaman atık su sıcaklığının daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Yaz aylarında ise bu tam tersidir. Atık su sıcaklığı, yaz aylarında hava sıcaklığından düşüktür.

Renk: Rengi ve kokusu yoktur suyun. Zaten içilebilir yani atık su profilinden çıkmış suyun renksiz olmasını tercih ediyoruz.

Suyun rengi: İçerisinde bulunan kimyasal atıkların, organik ve inorganik bazı eriyiklere göre değişme göstermesidir [19].

1.3.3. Atık Suların Kimyasal Özellikleri

Biyokimyasal oksijen ihtiyacı (BOİ₅): Atık sularda bulunan organik maddeler belli sıcaklıklarda oksitlenme yapabilirler. Bu oksitlenmeyi sağlamak için mikroorganizmalar tarafından ihtiyaç duyulan çözünmüş oksijen miktarına BOİ₅ denir.

Kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ): KOİ bir test parametresidir. Atık sularda bulunan organik madde miktarını tespit etmek için kullanılan teste KOİ testi denir. KOİ değeri atık sularda, BOİ'den daha yüksek seviyededir.

pH: Biyolojik ve kimyasal arıtma yöntemlerini belirlemede atık suyun pH değeri bu yöntemi etkilemektedir. pH değerleri suyun türüne göre farklılık göstermektedir. Örneğin içme suyunda değer 6-8 arasında iken, evsel atık sularında 7 ile 8 arasındadır. Deniz sularında ise bu değer 8 olmaktadır.

Klorür: İnsan idrarı evsel atık sularda bulunan klorürün ana kaynağıdır. Su sertliğinin giderilmesi için kullanılan yumuşatıcılar fazla oranda klorürün atık sulara karışmasına neden olmaktadır.

Alkalinite: Asidik yönden incelediğimizde atık sular genellikle alkali sulardır. Atık sularda bu alkaliniteyi karbonat, bikarbonat ve hidroksit iyonları sağlamaktadır.

Azot: Mikroorganizmalar tarafından yapılan biyolojik arıtım için, mikroorganizmaların beslenmesi gerekmektedir. Bu süreçte azot önemli bir besin kaynağıdır. Evsel atık sularda gerekli miktarda olmasına rağmen yeterli olmadığı durumlarda azot ilavesi yapılabilir.

Fosfor: Mikroorganizmalar için gerekli diğer bir besin kaynağı fosfordur. Fosforca zengin arıtılmış sular alıcı ortama bırakıldığında ötrifikasyona neden olabilir.

Kükürt: Evsel atık sularda sülfat iyonu doğal olarak bulunmaktadır. Sülfatlar oksijensiz ortamlarda sülfat indirgeyen bakteriler tarafından hidrojen sülfüre ve sülfürlere dönüşür.

Ağır metaller ve zehirli bileşikler: Biyolojik arıtım süresince ağır metaller süreci olumsuz etkileyebilir. Kadmiyum, kurşun, bakır, çinko vb. ağır metaller ve oluşturdıkları kimyasal bileşikler mikroorganizmalar için toksik bir etki yaratabilir.

Gazlar: Metan, oksijen, azot ve karbondioksit amonyak atık sularda mevcut olan gazlardır. Mikroorganizmaların oksijen tüketmeleri atık sularda mevcut olan oksijen miktarını azaltmaktadır. Tehlikeli bir gaz olan metan gazı atık sulardaki organik maddelerin havasız ortamda ayrışmasının yan ürünüdür [20].

1.3.4. Atık Suların Biyolojik Özellikleri

Bitkiler, virüsler, algler, bakteriler, hayvanlar, fungi gibi mikroorganizmalar evsel atık sularda belirgin bir şekilde bulunma göstermektedir. Bu mikroorganizmaların çoğu insanlar ve hayvanlar için hastalık yapıcı etkiye sahiptirler. *Enterobacteriaceae* familyasından olan koliform grup bakteriler, hayvanların fiziksel atıklarından ve insan atıklarından dolayı oluşan kirliliktir. Koku ve tat problemine algler neden olmaktadır. Organik maddeler, bakteriler tarafından atık su arıtımında parçalanma gösterir [19].

1.4. Kadmiyum

1.4.1. Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

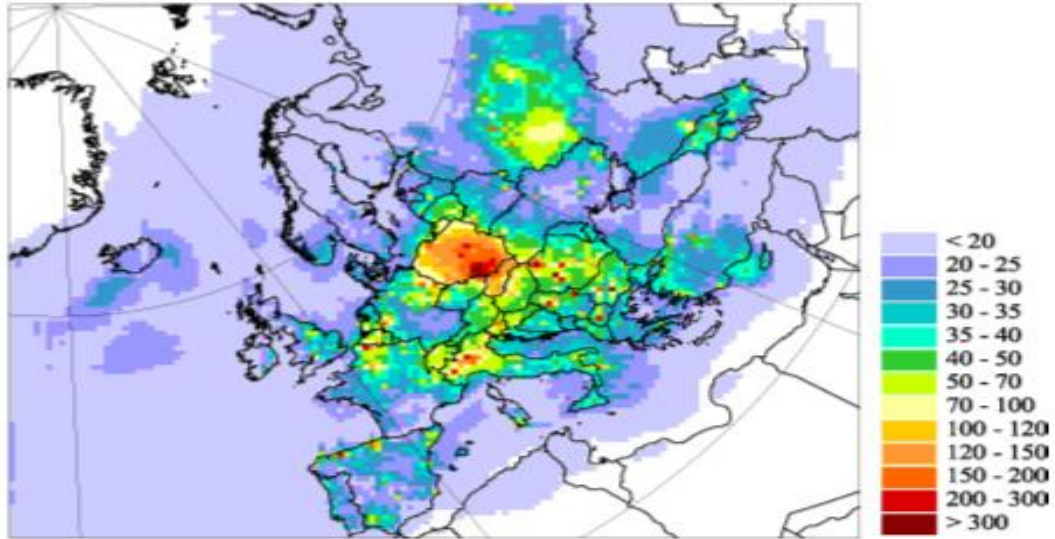
Parlak, mavi beyaz, gümüş dövülebilir bir metaldir. Yüzeyi mavimsi bir belirti gösterir ve metal bir bıçakla kesilebilecek kadar yumuşaktır ancak havada kararma özelliği gösterir. Asitlerde çözünür, ancak alkalilerde çözünmez. Çinko bakımından birçok açıdan benzer fakat daha karmaşık bileşikler oluşturur. Organizmada hemen her sistem için zehirli etkileri olan bir maddedir. Vücutta normal olarak bulunmaz fakat hayat boyu maruziyet sonucu özellikle böbrek ve karaciğerde birikir. Çok küçük miktarı bile insanlar dahil, birçok canlı için zehirlidir [21].

Atom Numarası:	48
Atom Ağırlığı:	112,41 g/mol
Yoğunluğu:	8,65 g/cm ³
Erime Noktası:	321 °C
Kaynama Noktası:	765 °C
Kristal Yapısı:	Hekzagonal

1.4.2. Tabiatta Bulunuşu

Kadmiyum diğer metallere göre suda en yüksek ve kolay çözünme gösteren elementtir. Suda kolay çözüldüğü için bitkiler ve sudaki canlılar tarafından alınıp birikme gösterir [22]. Çözünmesi kolay bir element olduğu için toprak içerisinde hareketliliği de kolay olmaktadır. Bu nedenle bitkiler kendi içlerine rahatça alabilmektedirler. Bitkilerin aldığı bu Cd ya besin zincirine dahil olmakta ya da yağmur sularıyla yıkanan toprak sayesinde tüketim sularına karışmaktadır. Bu alım çevresel açıdan problemler yarattığı gibi insan sağlığı açısından da tehlike arz etmektedir [23]. Öte yandan kadmiyum elementinin etkinsizleşmesi çok uzun süre almaktadır. Yapılan araştırmalar bu sürenin 15 ila 1100 yıl arasında değiştiğini göstermektedir. Bu bulgular göz önüne alındığında kadmiyum kirliliğinin asgari seviyeye çekilmesi her anlamda gereklidir [24].

Kadmiyum elde etmek için başlı başına işlenen bir mineral mevcut değildir, çinko cevherlerinde bulunur. Çinkonun temel cevheri olan sfalerit minerali, katı çözelti halinde kadmiyum sülfür içerir. Bazı çinko blend konsantratları %1 kadar kadmiyum içerseler de kadmiyum miktarı genel olarak, çok az bir oran ile % 0,5 arasında değişir. Dünyanın bazı bölgelerinde daha zengin kadmiyum depositleri bulunmaktadır. Kadmiyum, çinkosülfatın saflaştırılmasında, çamur halindeki çinko cevherinin kızdırılması sırasında buhar halinde elde edilir. En çok bilinen kadmiyum minerali, bir sülfür olan grinokit (CdS) olup, genel olarak bir sarı tabakaya veya sfalerit ile kaplanmış olarak bulunur [21].



Resim 1.1 Kadmiyum yayını (katı ve sıvı ortam toplam) kg/km^2 / yıl2001 [25].

1.4.3 Kullanım Alanları

Kadmiyum en çok elektrokaplama kullanılır. Nikel kaplamada deokside olarak kullanılmaktadır. Kolay erime gösteren alaşım yapılarında, oyma proseslerde, boya, mürekkep, plastik, temel renklendiricilerde, nikel ve kadmiyum pillerinde vb. yerlerde kullanım göstermektedir. Dişçilikte ise toz halinde amalgam olarak kullanılırlar [26]. Kadmiyumun dörtte biri nikel ve kadmiyum pillerinde kullanılırken, dörtte biri ise kaplamalar ve plastik için stabilizatörler olarak kullanılır. Bazı metallerin üretiminde destekleyici ürün olarak kullanılırlar. Bunlar kurşun, bakır, çinko gibi

metallerdir. Destekleyici özellik olarak seramiklerde, plastiklerde, fotoğrafçılıkta ve daha birçok alayışmda kullanılmaktadır [27].

1.4.4. Etkileri

Kadmiyumun canlılar üzerindeki etkileri göz ardı edilemeyecek kadar fazladır. Çünkü ağır metaller değerdendirildiğinde Cd en tehlikeli ve toksik olanıdır. İnsanlar üzerinde de olumsuz etkileri sebep olan Cd böbrek hastalıklarına, üreme hastalıklarına ve kan değerdlerinde bir takım problemlere sebep olabilmektedir. Ayrıca iskelet yapısını ayakta tutan düzeneğe de zarar veren Cd kemik hastalıklarının sebeplerindendir. Kadmiyuma maruz kalan kişilerde göğüs ve mide ağrısı gibi semptomlar görülmektedir. Bu semptomların giderilmesinde ve Cd'a maruz kalan kişilerin tedavisinde yüksek dozda D vitamini kullanılmaktadır [26, 28].

1.5. Kurşun

Doğada az olmasına karşın yaygın olarak bulunma göstermektedir. Bu element mavi gri metalik özelliktedir. Yumuşak ve kolay işlenebilir ancak ağır bir elementtir. Kullanım alanları daha çok kablo yalıtımda, pas önleyici olarak, lehim, alaşım gibi yerlerde kullanılmaktadır. Su kaynaklarında bulunur. Yeraltı suları veya yerüstü sularında yer almaktadır. Bu sularda ortalama 0,01 mg/L olarak bulunma gösterir. Bu elementin neden olduğu kirlilik maden ya da endüstriyel gibi görünse de en çok tesisat kaynaklıdır. İçtiğimiz sularda 5 µg/L değeri altında bulunur [7].

Kurşuna ilişkin Temel Bilgiler:

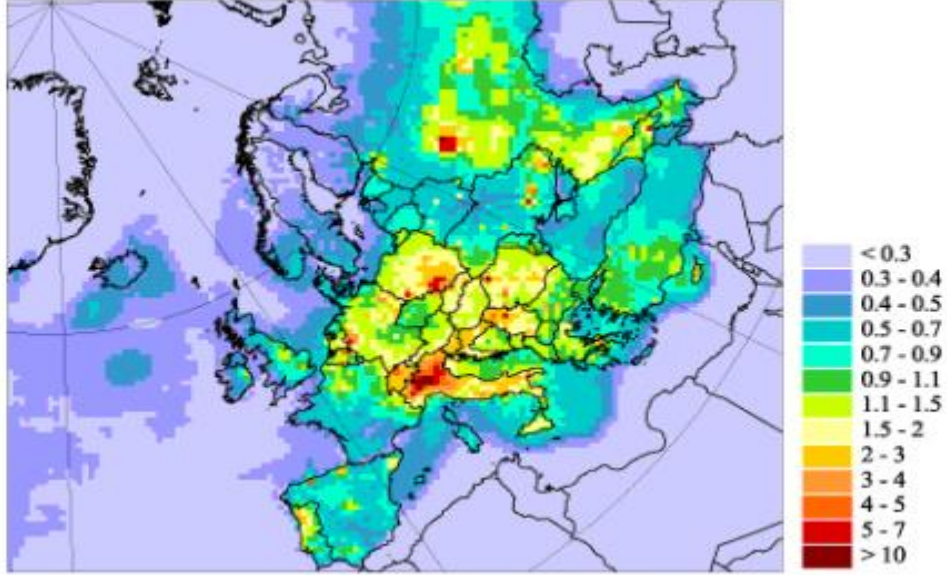
Sembol	Pb
Atom Numarası	82
Atom Ağırlığı	207.2 g/mol
Erime Noktası	327.5 °C
Kaynama Noktası	1740.0 °C
Proton ve Elektron Sayısı	82

Nötron Sayısı	125
Sınıflandırma	Ağır metal
Yoğunluk	11.34 g/cm ³
Renk	Mavimsi

Kurşun, kullanımı arttıkça insanlara ve çevreye en fazla zarar veren ve çevre kirliliğine sebep olan bir metaldir. Kurşun katı çökme özelliği gösterir. Kurşun ekosistemde nadir bileşik oluştursa da, oluşturduğu bileşikler zor çözünür [29]. Tonlarca kurşun, kurşunlu petrolden elde edilen ve kurşun tetra etil atmosfere verilmektedir. Atmosferdeki kurşun ise yağmurlarla tekrar yeryüzüne inerek çevreye yayılmaktadır [30, 31].

Kurşun, maden ocaklarından, sanayi bölgelerinden ve fabrikalardan çevreye yayılabilir. Kurşun işlek otoyollarda, eski evlerde, kurşun arsenatın pestisit olarak kullanıldığı eski meyve bahçelerinde, sanayi bölgelerinde, atıkların bulunduğu alanlarda, çöp fırınlarında ve elektrik santrallerinde ve yakınlarındaki topraklarda mevcuttur. Kurşun toprağa bir kez düşünce, toprak parçalarına sıkıca tutunur ve toprağın üst kısmında kalır. Bundan dolayı geçmişte, benzinde, duvar boyasında ve pestisitlerde kullanılan kurşun, topraktaki kurşun miktarını önemli derecede etkilemiştir. İçme suyunun pH'ı asidik ve su tesisatında da kurşun borular kullanılmış ise içme suyu kurşun içerebilmektedir. Bazı kozmetik ürünler ve saç boyalarında da kurşun bulunabilmektedir [32]. Kapalı ortamdaki hava, ev ortamında bulunan kurşun seviyesinden, kurşunlu duvar boyalarının kullanılmasından ve sigara içilmesinden etkilenir [33]. Kurşunun bulaşmış olduğu yiyecekler, içme ve kullanma suları, atmosfer, kurşunla kaplanmış çanak ve çömlekler, alkol ve tütün kurşuna maruziyetin başlıca kaynaklarını oluşturur. Şehir merkezlerine ve karayollarına yakın yerlerde yetiştirilen sebze-meyvelerde kurşun yoğunluğunun daha yüksek olduğu görülmektedir [34]. Bu ağır metalin etrafa yayılımı midye türü kabuklular tarafından gerçekleşir. Kurşunun besin zinciri üzerinde dağılımı kalsiyuma bağlı kabuklular tarafından gerçekleşir. Balıklar ve tek hücreli canlılar, içerisinde belli miktarda kurşun bulunan suları tolere edebilirler. Fakat kurşun oranı az miktarda olduğunda bu canlılar kurşunu besin yoluyla alırlar, bu da akut zehirlenmelere neden olur [35]. Kurşun, proteinler üzerindeki sulfidril, fosfat ya da karboksil gruplarına bağlanarak enzimleri

nötralize eder. Kurşun aynı zamanda çinko, kalsiyum ve demirle etkileşim halindedir. Bu etkileşim çoklu sistem hasarına neden olarak hücre zarlarını, redoks olaylarını etkiler ve sinirsel ileti ile nükleotit metabolizmasının bozulmasına neden olur [36].



Resim 1.2 Kurşun yayını (katı ve sıvı ortam toplam) kg/ km² / yıl2001 [25].

1.5.1. Kurşun Elementinin İnsan Vücuduna Alınma Biçimleri

Ağır metaller günlük yaşantıda farklı yollarla insan vücuduna alınabilirler. Bir ağır metal olan kurşun elementinin de insan vücuduna farklı yollarla alınma şekilleri vardır.

Sindirim: Kurşun gıdalar yoluyla insan vücuduna alınabilen bir elementtir. Bilinçsiz gıda tüketimi ve besin temizliğinin göz ardı edilmesi sonucu su ve yiyecekler yoluyla vücuda girebilmektedir. Az miktarda alınsa dahi sindirim sistemi yoluyla kana karışabilen bu element özellikle çocuklarda sağlık problemlerine sebep olabilmektedir.

İnhalasyon: Kurşunun en belirgin alınma şekillerinden bir tanesi solunum yoluyla alınmasıdır. Değişen çağda endüstrileşme ile kurşun salınımı da artmıştır. Endüstriyel prosesler sonucu ortaya çıkan dumanlar önemli kurşun kaynaklarıdır. Her ne kadar duylar yoluyla hissedilemese de, bu toksik madde inhalasyon yoluyla insan vücuduna alınmaktadır.

Deriden emilim: Kurşun vücut içerisinde birikim yapabilen toksik bir elementtir. Yalın haldeki elementin deriden emilimi çok sık görülen birşey olmasa da organik bileşiklerinin deriden alınımı yaygındır. Deri emilimi yoluyla vücuda alınan kurşun yumuşak dokularda ve kemiklerde birikim yapabilir. Proteinlere bağlanabilme özelliği olan kurşun özellikle böbreklerde kurşunca zengin hücre içi parçacıklar olusturabilir. Az miktarda ve sürekli alınmayan kurşun vücutta akut etkiler oluşturmaz. Bu etkiler genellikle kişiler tarafından hissedilmez. Ancak sürekli ve yüksek dozda kurşuna maruz kalındığında solunum problemleri, sinir sistemi hastalıkları, zehirlenme gibi ciddi sağlık problemleri oluşabileceği gibi ölüme varan sonuçlar meydana gelebilir [37].

1.5.2. Kurşun Toksisitesi

Kurşun, canlılar için toksik bir elementtir. Vücuttaki hiçbir fizyolojik fonksiyon için gerekli değildir. Kurşun, kontamine olan gıda, hava ve toz aracılığı ile alınır ve vücutta öncelikle kemiklerde olmak üzere birikir. Kurşuna maruziyet kaynağı, fiziksel ve kimyasal özellikleri, parça büyüklüğü, spesifik bileşiğinin çözünürlüğü, kurşundan etkilenen bireyin yaşı, cinsiyeti, beslenme şekli ve genetik özellikleri, kurşunun vücuttaki emilim miktarını etkilemektedir [13].

1.5.3. Kurşun Kirliliği

Çocuklarda gelişim ve psikomotor gerilik, yetişkinlerde işitme kaybı, hematopoetik rahatsızlıklar, merkezi ve periferik sinir sistemi bozuklukları, üriner, gastroitestinal, kardiyovasküler ve endokrin sistemde değişiklikler gibi birçok sağlık problemi ile direkt ilişkilidir [38]. Bunun yanı sıra, karsinogenik ve nörolojik hasarlar, zihinsel ve davranışsal değişiklikler kurşun toksisitesi ile bağlantılıdır. Kurşunun bağışıklık sistemi ve üreme sistemi üzerinde de olumsuz etkileri vardır. Mide, akciğer ve safra kesesi kanserlerinin yanı sıra tüm kanserlerdeki artış ile kurşun maruziyetinin bağlantılı olduğu görülmüştür [13].

1.6. Ağır Metal Stresi

Stres deyince aklımıza her ne kadar insana özgü bir kavram gelse de aslında tüm canlıların yaşayabileceği bir olgudur. Bir canlı ile bulunduğu çevre arasında meydana gelen ve canlının doğal halinden farklı tavırlar sergilemesine neden olan bir etkileşim olarak tanımlanabilir. Canlılar için strese verilen tepkiler aslında stresin üstesinden gelebilmek için oluşturulan hücresel yapılardaki değişimlerdir. Bu değişimler canlıdan canlıya farklılık gösterse de birbirine benzer fiziksel tepkilerdir [39, 40]. Su canlıları ağır metallerle maruz kaldıklarında bu stres tepkilerini vermektedirler. Bu tepkiler hücre bazında ve moleküler düzeyde DNA kırılma sıklığında yükselmeye ve yapısal fonksiyon bozukluklarına sebebiyet vermektedir [41- 43].

Son yıllarda sanayileşme sebebi ile ağır metaller hayatımızda daha fazla yer edinmeye başlamıştır. Endüstriyel kurumlarda kullanılan ve daha sonra doğaya bırakılan ağır metaller, özellikle denizlerimizde kirliliğe sebep olmuş ve bu kirlilik besin zincirine de yansımıştır. Doğal dengeyi bozan bu kirleticilere örnek olarak endüstriyel atıkları, pestisitleri, yapay gübreleri, deterjanları ve inorganik tuzları verebiliriz. Özellikle sular ve besin yoluyla canlı vücuduna alınan ağır metaller canlıların yaşamsal faaliyetlerini etkileyebilmektedir [44]. Normal şartlarda ağır metaller doğada çok fazla bulunmazlar. Ancak doğadaki yoğunlukları arttığında canlılar üzerinde olumsuz özelliklere sebep olabilmekte ve enzimlerin gelişimini etkileyebilmektedirler. Her ne kadar fazlası zararlı olsa da belli yoğunluğu geçmemek şartı ile bazı enzimatik aktiviteler için metaller gereklidir [45].

1.7. Metallerin Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

İçinde ağır metaller biriktiğinde, tatlı ve tuzlu suda yaşayan birçok organizma zarar görür. Kabuklu deniz hayvanlarının biyobirikimi önleyen bir mekanizması yoktur. Bu aslında kabuklu deniz hayvanlarını belli bir bölgede ağır metal birikimi probleminin olabileceğini göstermektedir. Ağır metallerin biyoakümülyasyon probleminin çözülmesi güçtür. Kabul edilemez seviyelerde ağır metallerin varlığını

tespit etmek ve su yollarını ağır metal kirliliğinden korumak için güvenilir yöntemler geliştirmek amacıyla bilim insanlarının hala çok fazla iş yapması gerekmektedir [19].

Endüstrinin gelişmesi ile ağır metal kaynaklı su kirliliği de artmıştır. Endüstriyel işlemler sonucu oluşan ağır metaller ile kirletilmiş suların sucul ortamlara bırakılması çevresel açıdan bir tehdit unsuru haline gelmiştir. Besin zincirine dahil olan ağır metaller, canlıların toksik olarak etkilenmesine sebep olmaktadır. Bunun sebebi metallerin diğer zehirli kirleticilerin aksine ayrışmaması ve dokularda birikim oluşturabilmesidir. Bu metaller başta metabolizma olmak üzere mikroorganizmanın birçok konstrüktif işlevini negatif olarak etkileyebilir. Metallerden olumsuz olarak etkilenen mikroorganizmalar kendilerini bu zehirli atıklara karşı savunabilmek için birtakım mekanizmalar geliştirmişlerdir. Hücre içi alıkoyma, metallerin ekzopolisakkaritlere bağlanması, stoplazmada protein üretimi, pozitif yüklü iyonların hücre membranına bağlanması, buharlaşma, hücre içi redüksiyon bu savunma mekanizmalarına birer örnektir [36].

1.7.1. Mikroorganizmaların Metallere Karşı Direnç Mekanizmaları

Atık sulardaki metallerin giderilmesinde kullanılan yöntemler biyotik ve abiyotik yöntemler olarak iki gruba ayrılmaktadır. Elektrokimyasal teknolojiler, çökeltme, iyon değişimi, adsorpsiyon gibi metotlar abiyotik yöntemlere örnek olarak gösterilebilir. Ancak abiyotik yöntemler bazı dezavantajlara sahip oldukları için çok kullanılan yöntemler değildir. Maliyetlerinin fazla olması, atık yoğunluğuna bağlı metotlar olmaları ve çevre dostu olmamaları bu yöntemlerin kullanımını kısıtlı hale getirmiştir [5]. Sucul ekosistemlerden metal giderimi için abiyotik yöntemlerin kullanılması tercih edilen bir yöntem değildir. Bunun en önemli sebebi ise, bu yöntemlerde enerji ihtiyacının fazla olması dolayısıyla maliyetin artmasıdır. Bu açıdan incelendiğinde son zamanlarda yapılan çalışmalarda atık su arıtımında biyolojik metotlar üzerinde yoğunlaşıldığı görülmektedir. Biyolojik bir yöntem olan biyosorpsiyona verilen önemin artması da bu dezavantajları taşıyor olmasından kaynaklanmaktadır. Biyosorpsiyon, metabolizmalar aracılığı ile ağır metallerin atık sulardan alınması yöntemidir. Bakteriler, mayalar ve algler bu süreçte en sık kullanılan

biyosorbentlerdir [46]. Biyolojik yöntemlerin avantajları da saymakla bitmemektedir. Etkili ve çevre dostu olmaları bu yöntemlerin en önemli avantajıdır. Ayrıca biyolojik yöntemler in situ yani yerinde uygulamaya olanak vermektedir [5]. Bu avantajların dışında yüksek verim elde edilmesi, maliyetlerinin yüksek olmaması, ek besin gerektirmemesi, metali geri kazanma olanağı vermesi ve biyosorbentlerin yenilenebilir olması biyolojik yöntemlerin diğer avantajlarıdır [47].

1.7.2. Biyobirikim (Biyoakümülyasyon)

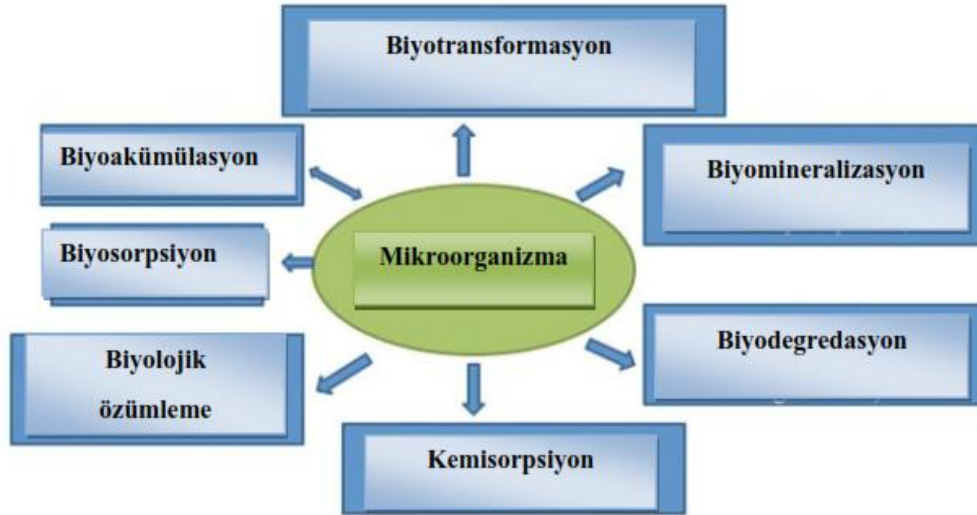
Yerkabuğunun kabuğunu oluşturan bazı elementlerdir ve doğal olarak daha basit maddelere bölünemeyen maddelerdir. Bu elementlerin birkaçı, düşük konsantrasyonda mevcut olsa dahi zehirlidir. Bunlar ağır metaller olarak bilinir [48]. Biyoakümülyasyon esasen canlı organizmalarda ağır metaller veya böcek ilaçları gibi kirletici maddelerin birikimidir. Sudaki organizmalar genellikle biyobirike maruz kalır. Çünkü sudaki kirleticileri vücutlarından salgıladıklarından daha hızlı emerler. İnsanlar ayrıca kirli su organizmalarını tüketmekten, hava ya da sudaki kirletici maddelere maruz kalmaktan biyolojik olarak birikmeye maruz kalırlar. Ağır metaller biyolojik olarak bozunmaz, bu da vücudumuzda uzun süre dayanabilmesi demektir. Besin zincirindeki biyoakümülyasyon, en küçük mikroorganizmalarla başlar ve insanlarla sona erer.

Ağır metaller mikroorganizmaların yüzeyine bağlanabilir ve bazen hücrelere girebilir. Hücreye girdikten sonra, ağır metaller gıdaları sindirmek ve mikroorganizmalara maruz kalmak için mikroorganizma tarafından salınan kimyasallarla reaksiyona girebilir. Ağır metaller her canlı organizmanın vücutlarında biyolojik olarak birikir [49].

1.7.3. Biyosorpsiyon

Metal arıtma yeteneğine sahip olan canlılara biyosorbent denir. Canlı hücreler aracılığı ile aktif olarak meydana gelen metal giderimine biyobirikim, genellikle ölü hücre yüzeyine pasif olarak tutunma yolu ile meydana gelen giderime ise

biyosorpsiyon ya da adsorpsiyon adı verilmektedir [50]. Biyosorpsiyon; içinde çeşitli bileşenlerin yer aldığı sularda, daha ziyade de atık sulardaki organik ve inorganik kirleticilerin veya metal iyonlarının biyolojik kökenli varlıkların ya da mikroorganizmaların yüzeylerine tutunması işlemidir [51]. Biyosorpsiyon, biyolojik malzeme ile eklendiği ortamdaki metallerin ya da benzer maddelerin uzaklaştırılması işlemidir. Hemen hemen tüm biyolojik malzemeler biyosorpsiyon yapabilme özelliğine sahiptir [52]. Biyosorpsiyon, Shumate ve Stranberg'in 1985'te belirttiği gibi "metal / radyonüklid türler ile mikrobiyal hücrelerin arasında oluşabilecek dolaylı bir fiziko kimyasal etkileşim" olarak da tanımlanabilir [53]. Zaten genel olarak biyosorpsiyon terimi iyonları, asıl olarak da ağır metal ve radyo nükleidleri alıkoyma işleminde biyokütlenin özelliklerini belirtmek için kullanılmaktadır [54]. Mikrobiyal biyokütle uygulamalarından olan biyosorpsiyon, atık sulardan metal arıtımı için yararlı bir alettir, aktif karbon ile iyon alışverişi veya adsorpsiyon işlemlerinin kullanıldığı konvansiyonel pek çok uygulama için de iyi bir seçenektir [55]. Yöntem biyolojik malzemenin bağlama kapasitesi ile doğrudan ilişkilidir. Bakteriler, algler, mantarlar ve mayaların metal sorbe etmek yetileri çok yüksek olup, bu mikroorganizmaların potansiyel metal biyosorbentleri olduğu kanıtlanmıştır [56].



Şekil 1.1 Mikroorganizmaların metallerle ilişkilerine göre biyoremediasyon teknikleri [36]

1.7.3.1. Biyosorpsiyon Mekanizmaları

Mikroorganizmaların karmaşık bir yapıya sahip olması biyosorpsiyon mekanizmalarının farklılık göstermesine neden olmuştur. Biyosorpsiyon mekanizmalarını iki ana başlık altında toplayabiliriz [36].

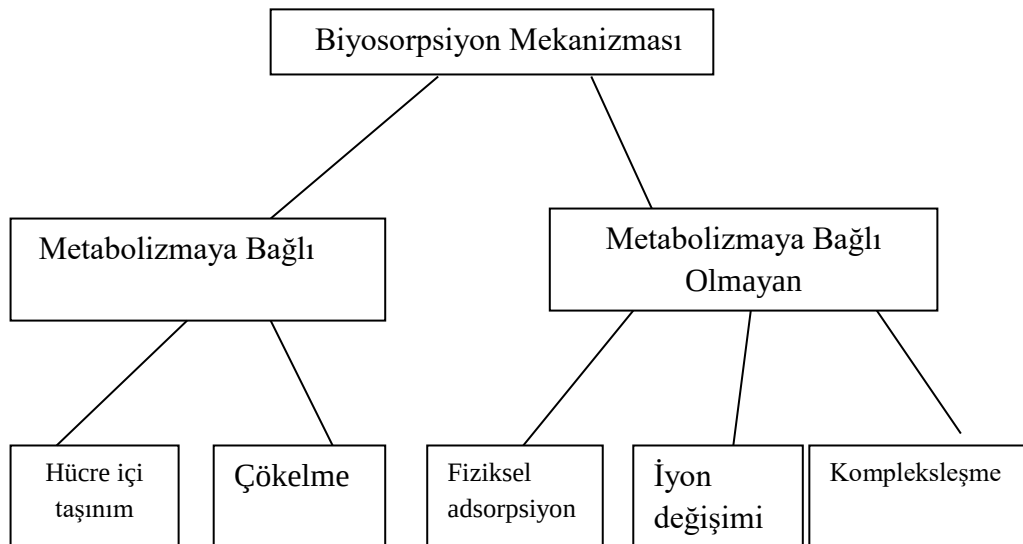
Hücre metabolizmasına dayalı biyosorpsiyon;

- metabolizmaya bağlı olan
- metabolizmaya bağlı olmayan

Metalin uzaklaştırıldığı bölgeye dayalı biyosorpsiyon;

- ekstrasellüler akümülayon / presipitasyon
- hücre yüzeyi sorpsiyonu
- intrasellüler (hücre içi) akümülayon

a)



Şekil 1.2 a) Hücre Metabolizmasına göre sınıflandırılmış

b)



Şekil 1.2 b) Metal alımının gerçekleştiği bölgelere göre sınıflandırılmış

Hücre yüzeyinde bulunan işlevsel gruplar ile metal arasında etkileşim meydana gelir. Meydana gelen bu fizikokimyasal etkileşim sırasında gerçekleşen iyon değişimi, kompleks oluşumu ve fiziksel adsorpsiyon olayına hücre yüzeyinde sorpsiyon denir. Bu olay metabolizmadan bağımsız olarak gerçekleşir. Mikrobiyal biyokütlenin hücre duvarında birçok işlevsel metal bağlama grubu bulunmaktadır. Sülfat, karboksilik, fosfat, amino ve hidroksil grupları işlevsel metal bağlama gruplarıdır [57,58].

Metal bağlama prosesinde iki basamak mevcuttur. İlk basamak hücre duvarındaki sitokiyometrik etkileşim, ikinci basamak ise yükselen metal miktarının inorganik birikimidir. Metaller ile temasta bulunan ilk bileşen bakterinin hücre duvarıdır. Hücre duvarının işlevsel kimyasal grupları biyosorpsiyon için önemli bir yer tutmaktadır. Bunun sebebi metal sorpsiyonun ve ölü veya inaktif hücre tiplerinin ekstra sellüler olmasıdır. Bu işlevsel gruplar amin, hidroksil, fosfonat ve karboksil gruplarıdır [5]. Siyanobakteri ve bakterilerin hücre duvarları peptidoglikan katman ve peptit zincirlerinden oluşmuştur. Peptidoglikan katmanının içeriğinde NAG ve NAM asit bulunmaktadır. Gram negatif bakterilerin hücre duvarlarının dış zarı protein, lipopolisakkarit ve fosfolipid katmandan meydana gelmiştir. Gram pozitif bakterilere göre daha incedir ve güçlü çapraz bağları yoktur [36]. Yapılan Cd^{2+} biyosorpsiyon

çalışmalarında Gram pozitif ve negatif bakteriler karşılaştırmalı olarak incelenmiş ve Gram pozitif bakteri hücre duvarlarının Cd^{2+} 'u bağlama alanının daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bu iki grubun metal bağlama kapasitelerinin farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Bu yapıların dışında Gram pozitif bakterilerde metal bağlamada teikoik ve teikronik asit de önemli bir yere sahiptir. *E. coli*'ye baktığımızda ise bakterinin dış zarında bulunan fosforil gruplar olası metal bağlama bölgeleri arasında bulunmaktadır [59,3].

Streptomyces pilosus bakterisi incelendiğinde karboksil gruplarının bakır metalini bağlamayla görevli olduğu ayrıca amin gruplarının metal gideriminde önemli rol oynadığı görülmüştür. Bu bakterinin aynı zamanda hidrojen bağladığı, katyonil metal iyonlarını şelatladığı, anyonik metalleri boyaları adsorblayabildiği de görülmüştür. Metallerin bağlandığı diğer bir yapı da EPS dir. EPS üzerine yapılan araştırmalarda bu maddenin seçici olarak metal iyonlarını bağladığı ve yüksek oranda metal biriktirme potansiyeline sahip olduğu görülmüştür. Sahip oldukları anyonik yapı sayesinde bu polimer maddeler metal katyonlarını bağlayabilmekte ve hücre çevresindeki agregatları belli durumlarda oluşturdukları kapsül ile gevşetebilmektedirler [46].

Mikrofungus ve mayalar da biyosorbent olarak kullanılan önemli mikroorganizmalardır. Özellikle mikrofungal biyomaslar, ileri düzeyde metal bağlayabilen hücre duvarlarına sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde biyosorpsiyon için avantaj sağlayan mikroorganizmalar haline gelmişlerdir. Biyosorpsiyon mekanizmalarının anlaşılabilmesi için araştırmacılar tarafından birçok metot geliştirilmiştir. X-ışını enerji dağıtıcı analiz çalışmaları ve elektron mikroskopları kullanılarak mikrobiyal biyomasta bulunan metallerin yerleşimi bulunmaya çalışılmaktadır. Ayrıca FTIR analizi kullanılarak da biyosorpsiyon mekanizması ile ilgili bilgi edinilebilmektedir [60].

1.7.3.2. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Metalin giderilmesinde biyosorpsiyon hareketini etkileyen faktörler üzerinde durulmuştur. Bunlar; sıcaklık, pH, iyonik kuvvet, biyosorbent tozu, biyosorbent

boyutu, çalkalama hızı gibi faktörlerdir [36]. Biyosorpsiyonda solüsyon pH'ı önemli bir yer almaktadır. Bu solüsyonun pH'ı yüksek olduğunda, metal bileşiklerinin çözünebilirliği çökelme sonrasında azalır. Bu durum süreci daha da komplike hale getirmektedir. Örneğin bakteriyel biyokütle ile metal iyonlarının biyosorpsiyon prosesinde pH'ın 3 ile 6 arasında olması gerekmektedir [5]. pH metal alımını etkilemektedir. Bu etkileşimin sebebi protonlar ile metal katyonlarının arasındaki rekabettir. pH'ın düşük olduğu yerlerde H^+ iyon yoğunluğu daha fazla olur. Bu yüzden hücre yüzeyine metal katyonundan çok H^+ iyonu tutunacaktır. Kimyasal olarak oluşan bu etkileşimler sonucunda farklı pH'larda metal iyonları için farklı tutma kapasiteleri olabilmektedir ve bakteriyel yüzey kimyası da çözeltinin kimyasından etkilenmektedir. Ayrıca çözeltide bulunan metal iyonları pH derecesi yükseldikçe hidrolize uğramaktadır [36]. Sıcaklık metal giderimini etkileyen diğer bir etkidir. 20 ile 35 °C arasındaki sıcaklık değerleri biyosorpsiyonu daha düşük oranlarda etkilemektedir. Yüksek sıcaklık değerleri biyosorpsiyonu arttıran bir etkidir. Bunun sebebi sıcaklığın yüzey aktivitesini ve sıvının kinetik enerjisini arttırmasıdır. Ancak biyosorbentler bu yüksek sıcaklıklardan olumsuz etkilenebilmektedirler. Pasif ve fiziksel adsorpsiyon ağır metallerin mikroorganizmalara güçsüz bağlarla bağlanmasına sebep olmaktadır [5].

Biyosorpsiyonu etkileyen etkenlerden bir diğeri de iyonik güçtür. Metal iyonları ile kompleks oluşturan bazı inorganik iyonlar biyosorpsiyon sürecine etki etmektedir. Biyosorbent dozu ne kadar düşük olursa, biyosorpsiyon ürünü o kadar yüksek çıkmaktadır. Biyosorpsiyonda kullanılacak kütle yoğunluğu ne kadar fazla olursa biyosorbentin yüzey alanı da o kadar artacaktır. Bu da arıtılacak solütün miktarının ve bağlanma bölgelerinin sayısının artması demektir. Ancak biyosorbentin dozu, birim ağırlık başına sorbe edilen solüt miktarını azaltmaktadır [36].

Parçacık boyutunun küçük olması biyosorpsiyon yapma kabiliyetini arttırmaktadır ve dengeye ulaşma süresi de kısalmaktadır. Biyosorpsiyon verimi, yüksek solüt konsantrasyonunda artarken, düşük konsantrasyonda fraksiyonel sorpsiyon oluşmaktadır. Tüm bu sebeplerden dolayı ilk olarak belirlenmesi gereken şey biyosorbentin azami doygunluk potansiyelidir [5].

1.7.3.3. Biyosorpsiyon Amacı ile Kullanılan Mikroorganizmalar

Aralarında krom, kobalt, nikel, bakır, çinko, kadmiyum, kurşun, altın ve toryum'un da bulunduğu birçok metalin mikroorganizmalar ile biosorpsiyonuna yönelik çok sayıda araştırma yapılmıştır. Bu araştırmalarda alg ve bakteri türleri ile maya, küf ve makrofungus formunda çeşitli mantar türleri yoğun olarak çalışılmıştır. Bu çalışmalarda, söz konusu mikroorganizmaların, canlı ve ölü formlarının kullanımı ile atık sularda bulunan çeşitli metallerin giderimi çalışılmış ve biyosorpsiyon koşulları belirlenmiştir. Ancak çeşitli literatürlerde metallere yüksek tolerans gösterdikleri vurgulanan aktinomiset türleri ile gerçekleştirilen biyosorpsiyon çalışmalarının nispeten az sayıda olduğu görülmektedir [61].

1.8. *Escherichiae coli*

Genel olarak *E. coli* veya koli basili şeklinde ifade edilen *Escherichiae coli* memeli canlıların kalın bağırsağında yaşamını sürdüren bakterilerden biridir. Atık sulardaki varlığı kirliliğin dışkı tarafından gerçekleştiği kabul edilmektedir. Keşfi Theodor Escherich tarafından bebek dışkısında yapıldığından “Kalın bağırsaktan” gelen anlamını ifade eden *E. coli* ismi verilmiştir. Hakkında bakteri yapılarının anlaşılması amacıyla bolca çalışma yapıldığından genel olarak en fazla bilgi sahibi olunan bakteri çeşidi olarak bilinir [62]. Gram negatif, sporla çoğalmayan ve seçmeli anaerob özelliklerde çomak formuna sahip olan bakteri türüdür. Düşük sıcaklık aralığında yaşamsal faaliyetlere sahip olan *E. coli*'nin 7-45 °C aralığında üreme yeteneğine sahip olduğu bilinmektedir. Yüksek sıcaklığa karşı direnç gösteremeyen *E. coli* düşük sıcaklık değerlerinde ve donmuş olarak muhafaza edildiğinde canlılığını devam ettirebilmektedir. Yaşamsal faaliyetine nötr'e yakın pH değerinde sahip olan bu bakteri uygun şartlar sağlandığında asidik olan 4,4 pH değerinde de çoğalabilmektedir. Bulunduğu ortama göre vücut sıcaklığını koruyabilen hayvanlar ile insanların sindirim kanalında yer alan zararsız bir bakteri olarak kabul edilmektedir. Birçok *E. coli* çeşidi sığıntı şeklinde bağırsaklarda yaşamlarını devam ettirmekte ve dışkıda 10^6 – 10^9 Kob/g düzeylerinde bulunabilmektedir. Enterobacteriaceae özelliklere

sahip bakteri türleriyle beraber zararlı mikroorganizmalara karşı bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde etkili olmaktadır [63]. *E. coli* bağırsak mikrobiyotasında $10^6 - 10^9$ Kob/g düzeyinde yer alan sindirim sistemindeki birçok özelliğine ilaveten vitamin sentezleyebilmekte özellikle de B ile K vitaminin üretimini gerçekleştirmektedir ve bu yönüyle de zararsız kabul edilmektedir. 1982 yılından sonra yapılan çalışmalarda *E. coli*'nin enfeksiyona sebep olan türlerinin tespit edilmiş olması, bu türlerinin su, gıda vb. besin ürünleriyle birlikte alınması halinde zehirlenmeye, böbrek ve beyinde hasara hatta ölümle sonuçlanan sorunlara neden olduğu gözlemlenmiştir [64]. İnsan vücudundan dışkı yoluyla geçen *E. coli* sayısı gün içerisinde çok yüksek değerler arasında değişiklik göstermektedir. Dışkıda bulunan bakteriler genelde anaerobik yapıdaki bakteri türleridir. Hayvanlarda hastalık oluşturmayan *E. coli* türleri insana bulaştığında hastalık oluşturabilmektedir. Hastalık meydana getiren en ünlü *E. coli* türü O157:H7 adıyla kodlanmış bir alt türdür. Bu tür kanlı ishal oluşturabilmekte ve hatta ölüme neden olabilmektedir. *E. coli* normal bağırsak sitemi içerisinde yer alan sığınmacı bakteriler familyasına ait bakteriler arasında gösterilmektedir. Çomak şeklinde gram-negatif olduğundan spor oluşturmayan pastörize ve kaynatma işlemleri sonucunda yaşamını devam ettiremeyen bu bakterinin yaşamsal faaliyetlerini sürdüreceği en iyi ortam memeli hayvanların sindirim kanalı ve vücut sıcaklığıdır [65].

1.8.1. Su Saflaştırılması ve Evsel Atık Su Arıtımında Önemi

Gelişen su teknolojilerinin ilk başından itibaren su arıtımı alanlarında *E. coli* varlığı su kirliliğinin belirteci olarak kullanılmıştır. Suda meydana gelen kirlilik miktarı dışkıya bağlı olarak koliform endeksi dikkate alınarak tespit edilir. *E. coli* bakterisinin kirliliğin belirteci olarak kullanılmasının nedeni anaerob özelliğinden ötürü kolay çoğalabilmesidir. Ayrıca sindirim atıklarındaki *E. coli* miktarı hastalık yapıcı bakterilerin sayısından da oldukça fazladır. Su kirliliğini belirlemek amacıyla yapılan ölçümlerde *E. coli* ile benzerlik gösteren organizmalar için “koliform” kelimesi kullanılmaktadır. Buna rağmen sindirim kanalında yaşamsal faaliyete sahip olmayan bazı saprotrof bakteriler içinde koliform tanımı yapılmaktadır. Sindirim atıkları ile oluşmayan kirlilik ortamlarında da *E. coli* bakterisinin varlığı görülmüştür.

Dünyanın bir çok ülkesinde içilebilir su ile ilgili standartlarda temizlik “koliformsayısı”na bağlı olarak ifade edilmektedir [66].

1.8.2. Bakterinin Hastalıkta Rolü

Bağırsaktaki yaşam ortamının normal bir üyesi olarak kabul edilen *E. coli* ile sığınmacı organizmalar arasında sıkıntısız bir ilişki olduğundan normal şartlarda bakteri hastalık oluşturmaz. Ancak bulunduğu yeri değiştirdiği anda bu başka bir organda olabilir (sıvı dışkı ile idrar kesesine geçmek gibi) ya da başka bir sığınmacı organizmanın yer aldığı sindirim atık kanalı olabilir, bu durumda hastalığa sebep olan etkenler arasında yer alabilir. *E. coli*'ye ait olan başka nesiller yer aldıkları hayvan bünyelerinde zararsız oldukları halde insan vücuduna geçiş yaptıklarında hastalığa neden olabilirler. Sebep oldukları hastalıklar arasında; idrar kanalı enfeksiyonları, menenjit, peritonit, sepsis, gram-negatif pnömoni, ishale sonuçlanan hastalıklar vb. sayılabilir. İnsan dışında *E. coli*'nin başka canlı türlerinde de hastalığa neden olduğu tespit edilmiştir. Bu türlerin hastalığa sebep oldukları dokular ile hastalık basamakları aşağıdaki “patotip” gruplar şeklinde sınıflandırması yapılmıştır.

İshale neden olan *E. coli* türleri aşağıdaki şekilde gruplandırılmıştır:

Enterotoksijen *E. coli* (ETEC) tipleri, enterotoksin üreterek hastalığa neden olurlar. Farklı toksinler vardır, bazıları bağırsak dokusuna zarar veren sitotoksik toksinlerdir, bazıları bağırsak dokusunun su ve elektrolit salgılamasına neden olan sitotonik toksinlerdir.

Enteroinvazif *E. coli* (EIEC) tipleri, doku hücrelerinin içine girip üreme gösterirler. Bu durum sonucunda iltihaplanma meydana getirerek doku hasarının artmasına neden olurlar.

Enteropatojenik *E. coli* (EPEC) tipleri, dokuya sıkı sıkıya bağlandıktan sonra bir iltihaplanma meydana getirirler. Toksin üreterek değil, hücre içi sinyal mekanizmasına etki ettikleri için ishale neden oldukları düşünülmektedir.

Enterohemorajik *E. coli* (EHEC), bu grupta olanlar Enteropatojenik özellik göstermeleri dışında Şiga toksinleri salgılamasını gerçekleştirirler. Bu gruptaki en ünlü *E. coli* türü O157:H7'nin yol açtığı sağlık sorunu kalın bağırsak iltihaplanmasına neden

olduğu bilinmektedir. Meydana gelen sağlık sıkıntısı sonrasında ishal'in yapısı az sulu, bol kanlı ve mukusumsu yapıdadır.

EnteroAggregatif *E. coli* (EAEC), bağırsak epitel dokusuna bağlanarak tuğla şeklinde dizilime sahip olan bakteriler şeklinde görünür. Bu gruba üye bakterilerin salgıladığı sıvılar mukozaya zarar vererek uzun süreli ishal meydana getirirler.

DiffuselyAdherent *E. coli* (DAEC), bu tür genel olarak bir yaşından küçük çocuklarda ishale neden olurlar. Özelleşmiş fimbrialar (saçakları) sayesinde seyrek olarak epitele tutunarak hücre içi sinyalizasyon basamağının aktif olmasını sağlarlar. Bu tür hakkında az şey bilinmektedir [21].

İdrar yolu enfeksiyonu Uropatojenik *E. coli* (UPEC), idrar yolunda oluşan sağlık sıkıntılarının % 90'ının nedeni kabul edilirler. Bu *E. coli* türleri idrar yolu epitel dokusuna bağlanabilen fimbriumlara (saçaklara) sahiptir. Bu enfeksiyonun kadınlarda sıkça görülmesi idrar kanallarının erkeklerinkinden daha kısa olması nedeniyledir. Dışkı yoluyla bulaşan bakteri genellikle cinsel ilişki sonucunda idrar kanalına girerek, üretrayı tırmanıp mesaneye ulaşırlar. Bu yolla oluşan mesane enfeksiyonuna sistit denir, tedavi edilmediği takdirde böbrek yangısına (piyelonefrit) dönüşebilir [62].

1.8.3. Virülans Faktörleri

E. coli nesilleri arasında oldukça çeşitlilik bulunmaktadır, modern yöntemlerle yapılan çalışmalar sonucunda Shigella ve Salmonella familyasına ait türlerin *E. coli*'nin alt türü olduğu anlaşılmıştır [8]. Farklı özelliklere sahip olan *E. coli* alt türleri de vardır. Bu türlerin farklılığının nedeni küçük mutasyonlar olabileceği gibi bir veya birden fazla genin fazlalığı ya da eksikliği de olabilir. Farklılaşmaya neden olan bu genler bakteriyofaj, transpozon ya da plazmidlerde yer alırlar ve farklı bakteri türlerinden *E. coli*'ye iletilmiş olabilir. Nesillerin farklılaşmasına neden olan genler arasında toksinler ve tutunma çeşitlilikleri gibi hastalık nedenleri vardır. O157:H7 neslinin sahip olduğu Şiga toksin geni *E. coli*'ye Shigella'dan transfer olmuştur. *E. coli*'nin hastalık oluşturmaya neden olan özelliklerden bazıları ifade edilmiştir. Bu özelliklerin tamamının hepsi bir arada bulunmaz ama farklı *E. coli* nesilleri bu çeşitliliğe sahip olabilir [67].

Pilus ve fibrium olarak adlandırılan yapılar bakterilerin belirli yüzeylere tutunmasına neden olan saç benzeri yapılardır. Zararsız özellikteki *E. coli* türlerinde de pilluslar olmakla birlikte ETEC olarak ifade edilen nesillerde bulunan özelleşmiş yapıdaki piluslar ince bağırsak epitel dokularına tutunmalarını sağlarlar. Pilus varlığı toplu olarak bir arada bulunma nedeni olarak söylenebilir. Farklı yapıdaki piluslar ise idrar kanalı hücrelerine idrar kesesi hücrelerine tutunmayı gerçekleştirir ve idrar kanalında iltihaplanmaya neden olurlar. İshale neden olan ST eksotoksiniepitel dokuların su emilimini engeller, LT eksotoksini de dokuların su ve elektrolit üretmelerini sağlarlar. Şiga toksini salgılanmasına neden olan EHEC tipi bakterilerde ise ST ve LT eksotoksinleri mevcut değildir. Bu salgılar bağırsak dokusunun ölümüne neden olmaktadır. Bu etkiler bağırsağın su emilim yeteneğinin yok olmasına ve kanlı dışkılamaya sebep olur. Kapsül doku bakteri için koruyucu tabaka özelliği göstererek vücuttaki savunma mekanizmalarının bakteriyi tanımasına, ortadan kaldırmasına engel olur. Hemoliz olayı sonucunda meydana gelen demir bakteri için besin kaynağıdır, bu demir kaynağı kanamalı ishal ve enfeksiyonlar sonucunda oluşur ve sideroforlar açığa çıkan demirin toplanmasını gerçekleştirirler. Korunma amacıyla hücre zarında yer alan K1 antijeninin varlığı iltihaplanma olayının önlenmesinde etkilidir. Ayrıca gıda ürünlerinin yıkanması ve kaynatma işlemi de *E.coli* dezenfeksiyonu üzerinde etkilidir [62].

Hastalıklı koli enfeksiyonlarında hastalığın tespiti için yapılacak incelemelerde kullanılan maddeler farklılık gösterebilir. İshalli hastalıklarda genellikle dışkı incelemesi yapılırken, diğer hastalıklarda kan, idrar, balgam, safra, irin ve beyin omurilik sıvısı gibi maddeler de hastalığın tespitinde kullanılabilir. Ayırt etme yöntemi olarak kültür metotları veya farklı şekerleri fermente metotları kullanılabilir. Enterotoksinlerin araştırılmasında DNA'lar arasındaki benzerlikler incelenmektedir. Bu inceleme ile koagülünasyon, ELISA ve *E. coli* DNA'larının tespiti amaçlanmaktadır. Bu bakterinin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde sefalosporinler, tetrasiklinler, aminoglikozidler, ampisilin ve kloramfenikol kullanılmaktadır [68].

1.8.4. Suşlar

"Suş" kelimesi bir bakterinin alt türlerini belirten bir kavramdır. Bakteri ile suşları arasında genetik farklılıklar bulunur. Genel olarak moleküler seviyede algılanabilen bu farklılıklar bakterinin işlevlerini etkileyebilir. Bu etki bazı türleri patojen hale getirebilir. Her canlı türünde yaşayan *E. coli* türü farklıdır. Bu yüzden incelemelerde sudaki dışkı kirliliğinin kaynağını bulmak çok zor değildir. Uğradıkları mutasyon sonucu sürekli yeni *E. coli* türleri ortaya çıkmaktadır. Bu türlerin bazıları zararsız olsa da bazıları içinde bulundukları konak canlılarda hasara sebep olabilir. Örneğin, yeni oluşmuş bir *E. coli* suşu sağlıklı yetişkinlerde hafif bir ishale sebep olsa da, çocuklarda başka hastalıklarla birleşerek daha önemli hastalıklara dönüşebilir hatta ölümlere sebep olabilir. Yüzeyinde bulunan antijenler sayesinde *E. coli* suşlarını tanımlayabilmek mümkündür. Bakterilerin yüzeyinde bulunan antijenler "O", flagella da denilen kamçılarda bulunan antijenler ise "H" ile belirtilir. Bu yolla belirlenen tiplere serotip denir. Serotiplere göre sınıflandırma hem tıbbi mikrobiyoloji hem de halk sağlığı açısından kolay bir yöntemdir. Çünkü belli serotipler genetik olarak bağdaşık olmasa da aynı hastalık etkilerine sahiptir. O157:H7 *E. coli* serotiplerinden en yaygın ve ölümcül olanıdır [67].

E. coli bakteri suşları çeşitlilik açısından geniş bir yelpazeye sahiptir. Bu suşların büyük bir kısmı başka bakterilerden alınan genlerle oluşan suşlar olsa da farklı ortamlarda bulundukları için birtakım küçük mutasyonlara uğrayarak farklılaşmış türler de mevcuttur. Hastalığa sebep olan *E. coli* türlerinin, hastalık genlerini "yatay transfer" yoluyla edinen farklı suşlar olduğu görülmüştür. Edinilen genler genomda bulunan ve "genetik ada" denilen bölgelerde kümelenmektedir. Hatta bazı bakterilerin *E. coli* türünden evrimleşmiş bakteriler olduğu varsayılmaktadır. Bazı bakteriler büyümesini hücre kutuplarından sağlarken *E. coli* bakterisi orta kısmından yeni hücre duvarı oluşturarak büyür [46].

E. coli yaygın kullanılan bir bakteridir. Üzerinde çok fazla çalışıldığı ve yapı olarak kolay, anlaşılır bir yapıya sahip olduğu için ideal bir araştırma malzemesidir [46]. *E. coli* üzerine yapılmış Nobel Ödüllü birçok çalışma bulunmaktadır. Operon, bakteriyel konjügasyon, genetik rekombinasyon gibi kavramlar ilk olarak *E. coli* 'de

keşfedilmiştir. Ayrıca bu bakteri üzerinde yapılan çalışmalar sayesinde metabolizma ile ilgili birçok konu ve moleküler biyolojinin önemli mekanizmaları anlaşılmıştır. *E. coli* bakterisinin K12 suşu laboratuvar çalışmalarında en sık kullanılan türdür. Bu suş hastalığa sebep olan faktörler taşımaz. Hatta yıllar içerisinde bu suş laboratuvar ortamına uyum sağlamış, zayıflamış ve diğer türlerle rekabet edemez hale gelmiştir. DNA veya protein üretimi amacıyla araştırmacılar tarafından yoğun şekilde kullanılan *E. coli* bakterisi modern biyoloji mühendisliğinde önemli bir yere sahiptir [66].



2. YAPILAN ÇALIŞMALAR

Joshi ve ark. [69] tarafından, Hindistan'ın kuzey doğusundaki sıcak su akıntısının extrem habitatından izole edilen, *Pseudomonas sp.* W6 suşunun kurşun biyosorpsiyon kapasitesi araştırılmıştır. Buna göre bu suşun hem sıvı hem de katı besiyerinde 1,0 mM kurşuna direnç gösterdiğini, buna ilaveten ICP - MS analizlerine göre de % 65 ve % 61,2 oranında kurşun giderimi yaptığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak bu extrem koşulları seven suşun kurşunla kontamine olmuş atık sulardan kurşun biyoremediasyonunda etkili olabileceği görüşüne varmışlardır.

Kazsycyki ve ark. [70] tarafından, dokuz farklı maya türü ile Cr (VI) ve Cr (III) giderim çalışmaları yapılmıştır. Biyokütle oranı 0,03 mg/ml ile 1 mg/ml arasında değiştirilerek ağır metalin bu biyokütle ile giderim girişiminde bulunulmuştur. Hücreler önce 2 dk, daha sonra da 3 saat boyunca 4mM Cr (III) ile ve 0,8 mM Cr (VI) ile muamele edilmiştir. Buna göre Cr (III) uzaklaştırılması 2 dk içinde hızla gerçekleşmiş ve üç saat sonunda sabit kalmıştır. Krom (VI) giderimi ise Cr (III)'e göre daha yavaş gerçekleşerek ancak üç saatin sonunda yüksek bir değere ulaşmıştır.

Alhaji ve ark. [71] endüstriyel kanalizasyondan izole edilen *Pseudomonas aeruginosa* suşlarının 8 ağır metale (kobalt klorür, kadmiyum klorür, bakır sülfat, civa klorür, nikel klorür, potasyum dikromat, kurşun klorür ve çinko sülfat) tolerans seviyesi ve biyoremediasyon potansiyelleri değerlendirilmiştir. Tüm suşlarda mM dozuna kadar maksimum büyüme gözlenirken 20, 30, 40 ve 50 mM dozlarında büyüme durmuştur. Sonuç olarak bu suşların 10 mM'lik konsantrasyona kadar ağır metal tuzlarının varlığına dayanabileceği ifade edilmiştir.

Chakraborty ve Das [72] tarafından bir deniz bakterisi olan *Pseudomonas aeruginosa* JP-11 suşunun biyofilm oluşturma kapasitesi araştırılmıştır. Bu suş deniz sedimentinden izole edilmiş, aerobik koşullarda 1000 ppm kadmiyuma direnç göstermiş ve minimum inhibisyon konsantrasyonu 1250 ppm olarak tespit edilmiştir. Biyomas ve hücreler tarafından salgılanan hücre dışı polimerik maddeler sırasıyla % 58 ve % 29,54 oranında kadmiyum giderimi yapmıştır. Ayrıca bu suşun kadmiyum

direnç geni (czcABC) ifadesi de tanımlanmış, Cd stresinde tolerans seviyesinin arttığı ancak optimum pH ve tuzluluğun Cd gideriminde önemli faktörler olduğu ileri sürülmüştür.

Munner ve. ark. [73]. tarafından, EP-Cd1 genin *P. aeruginosa* tanımlanması ve Cd a direnç kapasitesi araştırılmıştır. Bu suşun hem sıvı hem de katı besiyerinde Cd a yüksek direnç pH 6 ve 35 °C sıcaklıkta optimum büyüme gösterdiği tespit edilmiştir. Ayrıca izole edilen bu suşta Cd adsorbsiyon ve taşınım geni olan czcA'nın varlığı tanımlanmıştır. Buna göre sıvı besiyerinden % 80 oranında, endüstriyel atık sularda ise %95 oranında Cd giderdiği belirlenmiştir. Sonuç olarak EP-Cd1 geninin biyoremediasyonda etkin bir şekilde kullanılabileceği önerisi yapılmıştır.

Tang ve ark. [74] tarafından ağır metallerin kirlilik kontrolü için genetik olarak tasarlanmış bakteriler incelenmiştir. *P. aeruginosa*'nın yüzeyinde kromozomal ekspresyonu gösteren bir kadmiyum spesifik bağlayıcı protein olan CadR kullanılmıştır. Genetiği değiştirilmiş *P. aeruginosa*, mükemmel bir genetik stabilite sergileyen, 100 LM Cd içeren LB suyunun 30. neslinde hala geliştiği görülmüştür. Bir arada bulunan iki değerlik iyonunun düşük konsantrasyonunun Cd (II) 'nin adsorpsiyon kapasitesi üzerinde önemli bir etkisi olmadığını belirtilmiştir. *P. aeruginosa*'nın çevre ıslahında uygulanması için bir yön sağlayabilecek kapasitede olduğu gözlemlenmiştir.

Dikmen [75] tarafından, klinoptilolit atık sulardan ağır metal uzaklaştırma kapasitesi incelenmiştir. Bu incelemede klinoptilolit iyon değiştirici özelliği kullanılmıştır. Çalışmada sodyum iyonu kullanılarak klinoptilolit tek iyon formuna dönüştürülmesi sağlanmıştır. 1.0-2.0 mm boyutundaki klinoptilolit aktive edilerek ve aktive edilmeden kullanılmıştır. Bu yöntemle kurşun giderme verileri saptanmıştır. Sodyum ile aktive edilmiş klinoptilolit ile daha fazla arıtma verimi edilmiştir.

Artan ve Keskinan [76] tarafından yapılan çalışmada, su mercimeği bitkisi kullanılmıştır. Bitkinin ağır metal uzaklaştırma kapasitesi üzerine 100 mL'lik ve 500 mL'lik olarak oluşturulan farklı hacimlerdeki sistemde kesikli olarak deneyler yapılmıştır. Deney sonucuna göre 5,0 ve 10,0 mg/L kadmiyum konsantrasyonlarında 100 mL'lik kesikli reaktörlerde % 96 giderim sağlanırken, 500 mL'lik kesikli reaktörlerde % 90 oranlı giderim sağlanmıştır.

Cantu ve ark. [77] tarafından, farelerin metallothionein geninin *E. coli* de ekspresyonu, Pb (II) ve Cd (II) iyonları için bakteri biyosorbanlarının metal biyosorpsiyon etkinliğini arttırma stratejisi olarak incelenmiştir. pMt-Thio'nun, özellikle Pb'nin biyosorpsiyonu için, toplam biyosorpsiyon kapasitesinde önemli bir artışa yol açtığını belirtilmiştir. pMt-Thio'nun, Cd (II) ve Pb (II) iyonlarıyla kirlenmiş atık suların arıtılması için potansiyel bir malzeme olduğu kabul edilmiştir.

Kapoor ve ark. [78] tarafından, sulardan *Aspergillus niger* türünün kurşun, kadmiyum, bakır ve nikel iyonlarını giderme potansiyeli değerlendirilmiştir. *A. niger* biyokütlesi farklı sürelerle ve farklı ön işlemlere tabi tutularak metal giderme kapasiteleri gözlemlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre, *A. niger*'in ölü kütlesinin canlı biyokütlesine göre daha fazla kurşun, kadmiyum ve bakır uzaklaştırma kapasitesinin olduğu ve atık sulardan metal biyosorpsiyonunda *A. niger*'in kullanılabileceği ileri sürülmüştür.

Huang ve ark. [79] tarafından, *E. coli* ve *B. subtilis* sulardan metal uzaklaştırılması için etkili bakteriler olduğu belirtilmiştir. Ayrıca pH, sıcaklık, dengeleme süresi ve ön işlem reaktiflerinin bazı ağır metallerin sulu çözeltilerden bu bakteriler ile ayrılması üzerindeki etkisi araştırılmıştır. *E. coli* ve *B. subtilis*, 60 saat boyunca ekilip en uygun yetiştirme süresi belirlenmiştir. *E. coli* ve *B. subtilis* ile optimum pH 5,5; sıcaklık 30 °C ve 1 saatlik dengeleme süresinde % 54 - % 60 oranında krom giderimi sağlanmıştır. Endüstriyel atık boşaltımlarından metal uzaklaştırılması için, önceden işlenmiş *E. coli* biyokütlesi Cd'nin % 68 ini ve % 58 ini Cr den çıkarabilirken, *B. subtilis*'in ön muamele edilen biyokütleleri Cd nin % 62 sini ve Cr nin % 57sini çözeltilerden çıkarılmıştır.

Quiton ve ark.. [80] tarafından Gram-negatif *E.coli* ve Gram-pozitif *Staphylococcus epidermidis*'in kaolin destekli bakteriyel biyofilmleri kullanılarak, sulu çözeltiden uzaklaştırılması değerlendirilmiştir. Krom ve çinko'nun sulu çözeltiden uzaklaştırılmasında kaolin üzerinde desteklenen *E. coli* ve *Staphylococcus epidermidis* biyofilmlerinin kapasiteleri araştırılmıştır. Gram-negatif *E. coli*'nin adsorptif kapasitesinin, Cr (VI) ve Zn (II) nin sulu çözeltiden uzaklaştırılmasında Gram-pozitif *S.epidermidis*den daha yüksek olduğu görülmüştür.

Quintelas ve ark. [81] tarafından, Kaolin üzerinde Cr (VI), Cd (II), Fe (III) ve Ni (II) 'nin sulu çözeltilerden ayrılması için bir *Esfilichia coli* biyofilminin seyreltilmiş sulu çözeltilerin tedavisi için parti deneylerinde araştırılması yapılmıştır. Biyosorpsiyon performansı, alım açısından şu sırayı takip etmiş Fe (III)> Cd (II)> Ni (II)> Cr (VI). Redlich-Peterson modeliyle krom ve nikel için en uygun, kadmiyum için ise en uygun Sips modeliyle elde edilmiştir. Kaolin örnekleri tamamen kimyasal analizlerle karakterize edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, metal iyonlarının atık sulardan çıkarılması için umut verici olduğu belirtilmiştir.

Mohan ve ark. [82] tarafından, Cd ve Zn *E. coli* kullanımı ile biosorpsiyon tarafından uzaklaştırılması değerlendirilmiştir. Biyosorpsiyon teknikleri ile *E. coli* organizması evsel atık sulardan izole edilmiştir. Elektro kaplama endüstrisinden kadmiyum ve çinko içeren atık su toplanmıştır. Biyosorbent olarak *E. coli* kullanılarak adsorpsiyon çalışmaları, değişen konsantrasyon, temas süresi ve dozajla yapılmıştır. Optimum temas süresi ve dozu belirlenmiştir. Kadmiyum giderimi % 82, çinko giderimi ise % 80 oranında gerçekleşmiştir. *E. coli*'nin kadmiyum ve çinkonun elektro kaplama endüstrisinden çıkan atık sudan uzaklaştırılmasında etkili olduğu sonucuna varılmıştır.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada; farklı doz, süre ve pH derecelerinde kurşun ve kadmiyum uygulaması sonucu sulu çözeltilerden *E. coli* ile metal giderimi yapılmıştır.

3.1. Araştırmalarda Kullanılan Bakteri ve Saklanma Koşulları

Çalışmada *E. coli* ATCC 25922 suşu Adıyaman Üniversitesi Biyoloji Bölümü Moleküler Biyoloji ve Genetik anabilim dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hesna YİĞİT'ten temin edilmiştir. Türein pasajlamaları her 20 günde bir taze nütrient agar besi yerine yapıp ertesi gün parafilm ile sarılarak, çalışmalar başlayana kadar +4 °C buzdolabında muhafaza edilmiştir. Deneyler boyunca bu stoklar kullanılarak çalışmalar devam etmiştir.

3.2. Araştırmalarda Kullanılan Besiyerleri

Deneyisel çalışmalarda katı besiyeri olarak 22,5 g/L nütrient agar, sıvı besiyeri olarak da 8 gr/L nütrient broth kullanılmıştır.

Besiyerleri ve metallerin sulu çözeltileri otoklavda 120 °C'de 20 dk steril edildikten sonra kullanılmıştır.

3.3. Araştırmalarda Kullanılan Metaller

Bu çalışmada; Kadmiyum sülfat (CdSO_4), Kurşun (II) klorür (PbCl_2) kullanılmıştır. Literatür araştırmalarına bakıldığında, suda çözünme oranının yüksek olmasından dolayı genelde metallerin nitritli bileşiklerinin tercih edildiği görülmüştür. Ancak sülfatlı ve klorlu metal bileşikleri de sularda yüksek oranda bulunmakta ve suda daha az çözünmektedir. Bu nedenle sulardan kadmiyumun SO_4 bileşiği, kurşunun da Cl_2 bileşiğinin biyolojik giderimi tercih edilmiştir. Literatürde bu bileşiklerin giderimine yönelik kısıtlı bilgi bulunmaktadır. Bu nedenle seçilen bileşiklerin niteliği bakımından bu çalışma orjinallik taşımaktadır. *E. coli* uygun besiyeri ortamında tuz

formundaki metallere maruz bırakılmıştır. Bu kullanılan metallerin isimleri ve molekül ağırlıkları (MA), tuz formlarının kimyasal formülü ve molekül ağırlıkları (MA) Çizelge3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1. Metal isimleri ve MA’sı, tuz formlarının kimyasal formülü ve MA’sı

Metal isimleri	Metal MA’sı (g/mol)	Tuz formunun kimyasalformülü	Tuz formunun MA’sı (g/mol)	Marka
Kadmiyum sülfat	112,41	CdSO ₄	208,47	Sigma- Aldrich
Kurşun (II) klorür	207,21	PbCl ₂	278,11	Sigma- Aldrich

Her iki metal için de 5000 ppm derişimlerinde ana stoklar hazırlanmıştır. Bu çözeltilerin hazırlanmasında tuz formlarının kimyasal formülleri göz önüne alınarak hesaplamalar yapılmıştır. Aynı zamanda gerekli miktarlar hassas terazi yardımıyla tartılmış saf su içerisinde çözülmüştür. Çalışma süresince farklı derişimlerde kullanılan ara stoklar (50 ppm, 100 ppm, 500 ppm, 1000 ppm, 2000 ppm) bu ana stok çözeltilerden steril koşullarda stoktan eklenmiştir.

3.4. Kültür Koşulları

Sulu çözeltilerden metal giderim çalışmalarımızda, ticari olarak temin edilen nutrient brothun steril olan sıvı besiyeri 30 ml olacak şekilde steril erlenlere dökülmüştür. Ticari olarak temin edilen NutrientAgar 22,5 g’ı 1000 ml distile suda çözülerek otoklavlandıktan sonra steril petri kaplarına dökülmüştür. Kültürlere, kadmiyum sülfat ve kurşun (II) klorür metalleri yukarıda belirtilen dozlarda ilave edilip araştırma yapılmıştır. Çalışma 3 tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır. Kültür üretimi 180 rpm 37 °C de çalkalamalı inkübasyonda sürdürülmüştür.

3.5. Metal Giderim Tayini

3.5.1. Minimum İnhibisyon Konsantrasyon (MIC) Tayin Metodu

Kurşun metale olan dirençlerini belirlemek için *E. coli* suşu 50-100-500-1000-2000 ppm kurşun içeren besi yerlerinde 37 °C de 96 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. Suşun kadmiyum metale olan dirençlerini tespit etmek için ise 50-100-500-1000-2000ppm kadmiyum içeren besi yeri ortamlarında 37 °C’de 96 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 0., 2., 4., 8., 12., 24., 48., 72., ve 96. saatlerinde suşa ait besi yerlerinden numuneler alınarak 600 nm’de Mikroplaka okuyucu ile (Thermo Flash 2000) örneklerin biyokütle yoğunlukları ölçülmüştür. Aynı zamanda Nutrient Agar kullanılarak iki tekrarlı olacak şekilde canlı hücre sayımı yapılmış ve biyokütle yoğunlukları desteklenmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak minimum inhibisyon konsantrasyon (MIC) değeri hesaplanmıştır.

3.5.2. Besiyerinde Kalan Metal Miktarı

Besiyeri ortamında kalan metal miktarının tespiti için 24. saatin sonunda, PbCl₂ ve CdSO₄ için ayrı hazırlanan inkübasyondaki kültür ortamlarından örnekler alınmıştır. Vortekslenerek homojenizasyonu sağlanan örneklerden steril pipet yardımıyla 1 ml alınmış; steril bir tüpe aktarılarak 10000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilmiş, üstte kalan sıvı biyokütleden arındırılmak amacı ile 0,45 mikrometre por çapına sahip filtreden süzülerek filtrattaki Pb ve Cd miktarı 1/100 oranında dilüsyon sonrasında Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinde (AAS) tespit edilmiştir.

3.5.3. Hücre Yüzeyinde Emilim-Tutunma

Hücre dışı birikimi belirlemek için; santrifüj işlemi sonrasında çökelen hücrelerin üzerine 1 ml 10 mM EDTA (Merck) çözeltisi eklenerek 2500 rpm devirde 3 dakika vortekslenmiş; hücre yüzeyine tutunan metallerin desorbsiyonu sağlanmıştır.

Numuneler 10000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilmiş, üstte kalan sıvı 0,45 µm por çapına sahip filtreden süzülerek filtrattaki Pb ve Cd miktarı 1/100 oranında dilüsyon sonrasında AAS cihazında ölçülmüştür.

3.5.4. Hücre İçinde Birikim

Hücre içine alınan metal birikiminin belirlenmesinde ise bir önceki aşamada santrifüj sonrasında dibe çöken hücrelerin üzerine 1 ml 1M HNO₃ ilave edilerek 2500 rpm devirde 3 dakika vortekslenmiş; 10000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edilmiş, üstte kalan sıvı 0,45 µm por çapına sahip filtreden süzülerek filtrattaki Pb ve Cd miktarı 1/100 oranında dilüsyon sonrasında AAS cihazında ölçülmüştür.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Sıvı besiyerinde farklı Cd dozları (50, 100, 500, 1000, 2000 ppm) ve uygulama sürelerine (0, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, ve 96. saat) bağlı olarak elde edilen OD₆₀₀ absorbans değerleri Çizelge 4.1'de, katı besiyerinde üreyen canlı hücre sayıları Çizelge 4.2'de, doz ve süreye bağlı mikrobiyal büyüme eğrisi ise Şekil 4.1'de gösterilmiştir. Buna göre, 24. saatte kontrol grubuna göre hücrelerin %90'ının ölümüne karşılık gelen doz minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) olarak, hücrelerin %99'unun ölümüne karşılık gelen doz ise minimal bakterisidal doz (MBS) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.1). MIC değeri Cd için 50 ppm olarak belirlenmiştir. Cd uygulama dozları da bu MIC değerinin üç alt dozu (25, 12,5, 6,25 ppm) olacak şekilde hesaplanmıştır.

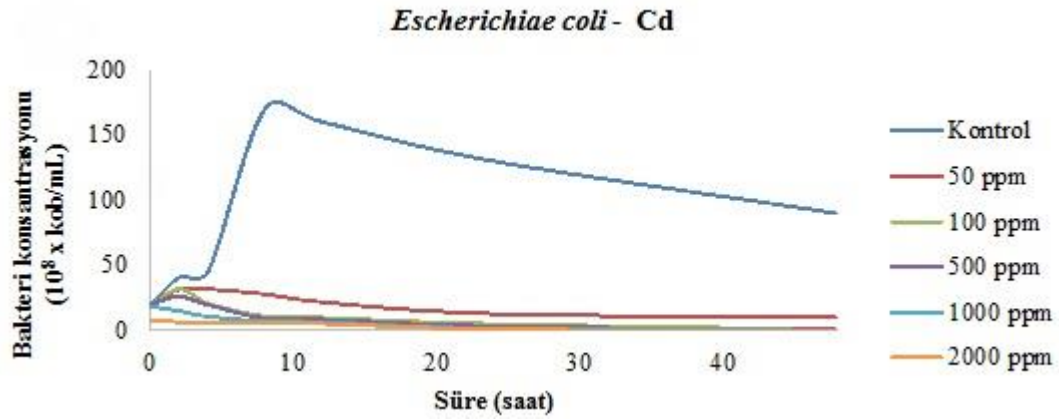
Çizelge 4.1 Farklı dozlarda Cd uygulamasına bağlı olarak elde edilen OD₆₀₀ absorbans değerleri

Zaman	Kontrol	50ppm	100ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm
0	0,577	0,542	0,564	0,550	0,486	0,118
2	0,901	0,705	0,700	0,574	0,367	0,114
4	1,014	0,711	0,432	0,374	0,257	0,113
8	1,149	0,676	0,396	0,253	0,235	0,110
12	1,313	0,569	0,356	0,214	0,212	0,111
24	1,491	0,154	0,138	0,125	0,109	0,018

Çizelge 4.2 Farklı dozlarda Cd uygulamasına bağlı olarak elde edilen canlı hücre sayıları

Gruplar/Zaman (saat)	0	2	4	8	12	24	Birim
Kontrol	20.4	41.2	45.2	170	160	130	10 ⁸ x kob/mL
50 ppm	19.4	32	32	28	22	13	10 ⁸ x kob/mL
100 ppm	20	32	21	11	10	5.2	10 ⁸ x kob/mL
500 ppm	20.6	26.1	20	9.4	8.6	3.5	10 ⁸ x kob/mL
1000 ppm	18.6	15.2	11	7.2	6.6	1.6	10 ⁸ x kob/mL
2000 ppm	8.6	6.6	6.3	6.8	5.5	1.3	10 ⁸ x kob/mL

* kob/mL; 1mL besi yerindeki koloni oluşturma birimi



Şekil 4.1 Cd uygulama dozu ve süresine göre MIC değeri ve mikrobiyal büyüme eğrisi

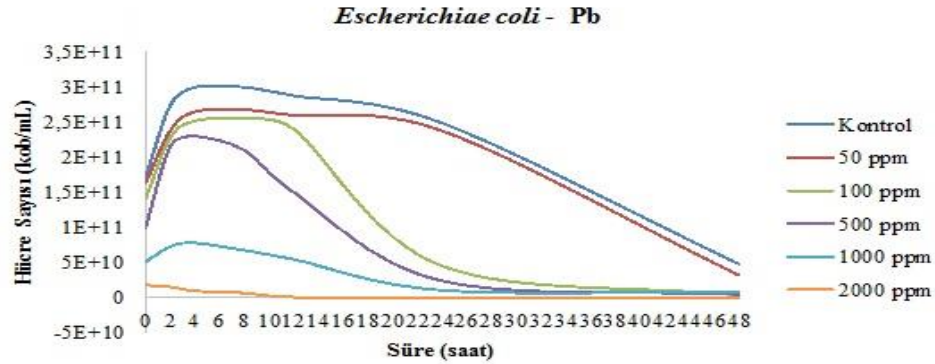
Sıvı besiyerinde farklı dozlarda (50, 100, 500, 1000, 2000 ppm) Pb uygulaması sonucu elde edilen OD₆₀₀ absorbans değerleri (Çizelge 4.3), katı besiyerinde üreyen canlı hücre sayıları (Çizelge 4.4) ve mikrobiyal büyüme eğrisi (Şekil 4.2) aşağıda gösterilmiştir. Buna göre 24. saatte kontrol grubuna göre hücrelerin %90' ının ölümüne karşılık gelen doz minimal inhibitör konsantrasyon (MIC) olarak, hücrelerin %99' unun ölümüne karşılık gelen doz ise minimal bakterisidal doz (MBS) olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.2). MIC değeri Pb için 500 ppm olarak belirlenmiştir. Pb uygulama dozları da bu MIC değerinin üç alt dozu (250, 125, 62,5 ppm) olacak şekilde hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3 Farklı dozlarda Pb uygulamasına bağlı olarak elde edilen OD₆₀₀ absorbans değerleri

Zaman	Kontrol	50ppm	100ppm	500ppm	1000ppm	2000ppm
0	0,760	0,736	0,730	0,638	0,415	0,214
2	1,204	1,092	0,968	0,754	0,560	0,218
4	1,514	1,350	1,213	0,886	0,615	0,200
8	1,653	1,376	1,272	0,835	0,597	0,180
12	1,670	1,346	1,228	0,553	0,397	0,173
24	1,550	1,228	0,582	0,165	0,145	0,021
48	0,809	0,365	0,294	0,155	0,195	0,022

Çizelge 4.4 Farklı dozlarda Pb uygulamasına bağlı olarak elde edilen canlı hücre sayıları

Gruplar/Zaman	0	2	4	8	12	24	48	
Kontrol	1710	2740	3000	3000	2880	2490	480	10 ⁸ x kob/mL
50ppm	1630	2380	2650	2680	2600	2380	320	10 ⁸ x kob/mL
100ppm	1410	2280	2520	2550	2400	450	36	10 ⁸ x kob/mL
500ppm	1000	2150	2300	2100	1500	238	45	10 ⁸ x kob/mL
1000ppm	510	727	779	673	545	105	81	10 ⁸ x kob/mL
2000ppm	175	153	95	65	5,5	0	0	kob/mL



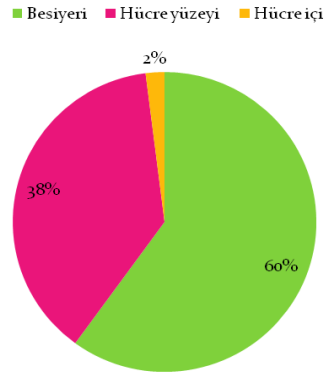
Şekil 4.2 Pb uygulama dozu ve süresine göre MIC değeri ve mikrobiyal büyüme eğrişi

Metallerin 24 saatlik uygulanması sonucu besi yerinde, bakteri hücre yüzeyinde ve hücre içinde biriken miktarları atomik absorpsiyon spektroskopisi ile belirlenmiştir. AAS'de üç tekrarlı olarak okunan kalıntı değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri aşağıdaki çizelgelerde gösterilmiştir. 62,5 ppm uygulaması sonucu kontrol grubunda 58,37 ppm, besi yerinde 32,59 ppm, hücre yüzeyinde 21,86 ppm ve hücre içinde ise 1,14 ppm kurşun biriktiği görülmüştür.

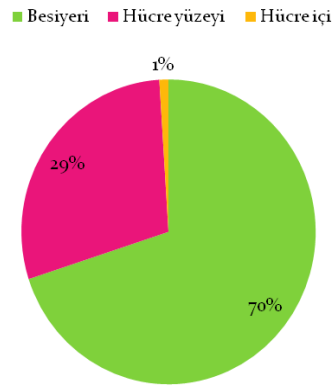
Buna göre, 62,5 ppm dozunda uygulanan Pb'nin 58,37 ppm kadarı içinde canlı hücre olmayıp sadece besiyeri bulunan kontrol grubunda kalmıştır. Besiyeri, bakteri hücre yüzeyi ve hücre içi Pb konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, en fazla konsantrasyonun besi yerinde ($32,59 \pm 2,44$ ppm) daha sonra hücre yüzeyinde ($21,86 \pm 0,53$) en az da hücre içinde ($1,14 \pm 0,03$) olduğu tespit edilmiştir. 125 ve 250 ppm'lik uygulamalarda da sıralama yine aynı şekildedir.

Çizelge 4.5 Besiyeri, hücre yüzeyi ve hücre içindeki kurşunun AAS kalıntı değerleri (Ortalama $\pm$ Standart Sapma)

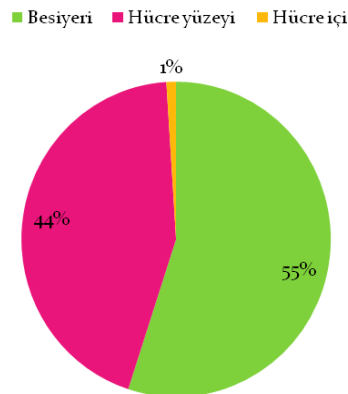
	62,5ppm	125ppm	250 ppm
Kontrol	58,37 $\pm$ 1,85	102,5 $\pm$ 3,09	221,68 $\pm$ 4,41
Besiyeri	32,59 $\pm$ 2,44	77,59 $\pm$ 2,21	113,7 $\pm$ 5,18
Hücreyüzeyi	21,86 $\pm$ 0,53	33,47 $\pm$ 0,84	99,37 $\pm$ 4,72
Hücreiçi	1,14 $\pm$ 0,03	1,28 $\pm$ 0,13	1,57 $\pm$ 0,05

62.5 ppm Pb

Şekil 4.3. 62,5 ppm dozunda kurşunun AAS kalıntı değerleri

125 ppm Pb

Şekil 4.4. 125 ppm dozunda kurşunun AAS kalıntı değerleri

250 ppm Pb

Şekil 4.5. 250 ppm dozunda kurşunun AAS kalıntı değerleri

Kurşun metali için 62,5 ppm dozunda hücre yüzeyinde %38, hücre içerisinde %2, toplamda da %40 biyogiderim sağlanmıştır.

125 ppm dozunda hücre yüzeyinde %29, hücre içerisinde %1, toplamda da %30 biyogiderim sağlanmıştır.

250 ppm dozunda hücre yüzeyinde %44, hücre içerisinde %1, toplamda da %45 biyogiderim sağlanmıştır.

Kadmiyum kalıntı konsantrasyonları değerlendirildiğinde, yine aynı şekilde Cd miktarları en fazla besi yerinde, sonra bakteri hücre yüzeyinde, en az da hücre içinde bulunmuştur.

62,5 ppm uygulaması sonucu kontrol grubunda 4,28 ppm, besi yerinde 3,12 ppm, hücre duvarında 0,85 ppm ve hücre içinde ise 0,14 ppm kadmiyum içinde birikme görülmüştür.

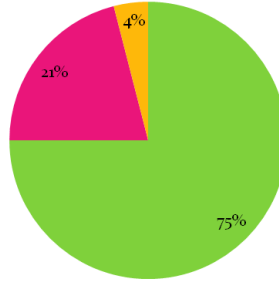
Buna göre, 62,5 ppm dozunda uygulanan Cd'nin 4,28 ppm kadarı içinde canlı hücre olmayıp sadece besiyeri bulunan kontrol grubunda kalmıştır. Besiyeri, bakteri hücre yüzeyi ve hücre içi Cd konsantrasyonları kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, en fazla konsantrasyonun besi yerinde ($3,12 \pm 0,06$ ppm) daha sonra hücre duvarında ($0,85 \pm 0,06$) en az da hücre içinde ($0,14 \pm 0,004$) olduğu tespit edilmiştir. 12,5 ve 25 ppm'lik uygulamalarda da sıralama yine aynı şekildedir.

Çizelge 4.6 Besiyeri, hücre yüzeyi ve hücre içindeki kadmiyumun AAS kalıntı değerleri (Ortalama $\pm$ Standart Sapma)

	6,25ppm	12,5ppm	25ppm
Kontrol	4,28 $\pm$ 0,25	9,71 $\pm$ 0,09	19,53 $\pm$ 0,95
Besiyeri	3,12 $\pm$ 0,06	7,56 $\pm$ 0,08	15,76 $\pm$ 0,56
Hücreduvarı	0,85 $\pm$ 0,06	1,42 $\pm$ 0,06	2,00 $\pm$ 0,08
Hücreiçi	0,14 $\pm$ 0,004	0,62 $\pm$ 0,005	1,23 $\pm$ 0,075

6.25 ppm Cd

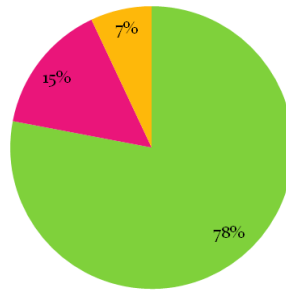
■ Besiyeri ■ Hücre yüzeyi ■ Hücre içi



Şekil 4.6. 6,25 ppm dozunda kadmiyumun AAS kalıntı değerleri

12.5 ppm Cd

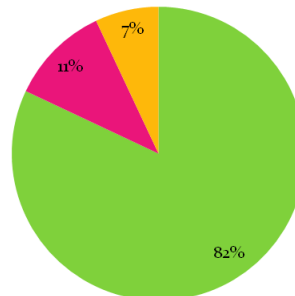
■ Besiyeri ■ Hücre yüzeyi ■ Hücre içi



Şekil 4.7. 12,5 ppm dozunda kadmiyumun AAS kalıntı değerleri

25 ppm Cd

■ Besiyeri ■ Hücre yüzeyi ■ Hücre içi



Şekil 4.8. 25 ppm dozunda kadmiyumun AAS kalıntı değerleri

Kadmiyum metali için 6,25 ppm dozunda hücre yüzeyinde %21, hücre içerisinde %4, toplamda da %25 biyogiderim sağlanmıştır.

12,5 ppm dozunda hücre yüzeyinde %15, hücre içerisinde %7, toplamda da %22 biyogiderim sağlanmıştır.

25 ppm dozunda hücre yüzeyinde %11, hücre içerisinde %7, toplamda da %18 biyogiderim sağlanmıştır.

Metal biyogiderimi araştırmalarında hücre içinde biriken metal konsantrasyonunun yanı sıra, hücre duvarına adsorplanan metal konsantrasyonunun bilinmesi debiyosorpsiyon çalışmaları için önemlidir. Bu çalışmayla, *E. coli* yabancıl suşunun sulu çözeltilerden Pb ve Cd metallerine karşı MIC değerleri ile bu metalleri hücre yüzeyinde ve hücre içinde biriktirme kapasitesi belirlenmiş olup, bundan sonraki biyoremediasyon/ biyosorpsiyon/ biyoakümülyasyon çalışmalarına bir ön fikir kazandırılmıştır. Çalışmanın genel yapısı *E. coli* bakterisinin sulu çözeltilerde Pb ve Cd bağlama kapasitesinin tespiti ve bu bakteri yardımı ile atık sulardan metal giderimi amaçlanmaktadır. Bu çalışmada kullanılan metallerin hücre içine alınımı, hücre yüzeyine tutunumu ve besiyerinde kalan miktarları karşılaştırılmıştır. Buna göre kullanılan Kurşun (II) metalinin % 2,77 si hücre içinde bulunurken Kadmiyum % 3,19 hücre içinde birikme görülmüştür. Pala (2006) tarafından, Klinoptilolit çalışması üzerine iki deney yapılmıştır. İlk deneyde sırayla 11 dk, 13,5 dk, 17 dk, 20,5 dk, 23 dk'larda en yüksek kurşun giderme verimi % 100'e çıkmıştır. Bu noktadan sonra verim yavaş yavaş azalmaya başlamış ve 49,5 dk'dan sonra %77 ile en küçük kurşun giderme verimine ulaşmıştır. İkinci deneyde 34 dk sonunda %78 maksimum kurşun giderme verimine ulaşılmıştır. Zamanla azalarak verim 47 dk'dan sonra % 42'ye düşmüştür. Yine bu sonuçlara dayanılarak yapılan hesaplamalardan kullanılan klinoptilolit mineralinin kurşun tutma kapasitesi birincisinde 0,066 mg/g, ikincisinde 0,114 mg/g olarak bulunmuştur. Klinoptilolit mineralinin kurşun tutma kapasitesi kesikli akış koşullarından 0,038 mg/g klinoptilolit daha fazladır [85]. Kılıç (2008), *B. thuringiensis* için Cr (VI) biyobirikim, 301,9 ppm Cr (VI) içeren nutrient broth besiyeri kullanılmıştır. Bu bakteri ile yapılan deneylerde, yaklaşık olarak 300 ppm Cr (VI) konsantrasyonundaki besiyerinde, inkübasyon süresinin beşinci gününde en yüksek gelişimi göstermiştir (OD540: 2.02). Mikroorganizma yüksek konsantrasyonda ağır

metal içeren ortamda gelişmesine rağmen, metali ortamdan uzaklaştırmamıştır. Yedi günlük inkübasyon süresi sonunda, besiyerindeki Cr (VI) konsantrasyonu 289,6 ppm olarak bulunmuştur [83]. Kılıç (2008) *B. cereus* için Cr (VI) biyobirikim kapasitesinin belirlenmesi için 301,9 ppm Cr (VI) içeren nutrient broth besiyeri kullanılmıştır. *B. cereus* ile yapılan çalışmada, bakteri yaklaşık 300 ppm Cr (VI) konsantrasyonuna sahip ortamı tolere edebiliği görülmüştür. En yüksek mikrobiyel gelişme bakteri tarafından inkübasyon sürecinin beşinci gününde gösterilmiştir (OD540: 1.1). Buna rağmen mikroorganizma, besiyerindeki Cr (VI) ağır metalini ortamdan uzaklaştırmamıştır. Bu nedenle besiyerinde bakteri aşılmasından sonra geriye kalan Cr (VI) konsantrasyonu inkübasyon süresi sonuna kadar yaklaşık olarak sabit kalmıştır. Yedi günlük inkübasyon süresinin sonunda besiyerindeki Cr (VI) konsantrasyonu ise 299,1 ppm olarak bulunmuştur [83]. Bueno ve ark. (2008), bu çalışmada kullanılan metallerin hücre içine alınımı, hücre yüzeyine tutunumu ve besiyerinde kalan miktarları karşılaştırılmıştır. Buna göre kullanılan Kurşun (II) metalinin % 56 sı hücre yüzeyine tutunurken Nikel (II) metalinin % 47 si hücre yüzeyine tutunmuştur. Bu sonuçlar doğrultusunda *Pseudomonas spp.*' in hücre yüzeyinde bulunan proteinlerin Kurşun (II) metale afinitesinin Nikel (II)' e oranla daha yüksek olduğu ya da Kurşun (II)' un daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi hücrede bulunan elementlerle yer değiştirdiği düşünülmektedir. Çalışmada hücre içine alınan Kurşun (II) miktarı da Nikel (II) miktarından fazladır. Buna göre hücre içine alınımın hücre yüzeyine tutunma ile paralellik gösterdiği sonucuna varılmaktadır [84]. Evgen (2012), *P. mendocina* PASS3- P18, başlangıç krom konsantrasyonu 30 ppm iken kromu indirgeme zamanı 48 saat iken bu süre, 50 ppm de 72 saat olarak kaydedilmiştir. Krom miktarındaki artışa bağlı olarak indirgeme zamanı da artmıştır. Bakterinin kromlu ve kromsuz ortamdaki hücre gelişimine bakıldığında 72. saatte kromsuz ortamda hücre yoğunluğu OD600=4.20 iken kromlu ortamda OD600=2,67'dir. Burada krom konsantrasyonundaki artışa bağlı olarak indirgeme süresinin uzaması kromun hücreler üzerine toksik etkisinden kaynaklanmaktadır. Aynı sonuç *P. mendocina* DS0601-FX-P22 bakterisi için de geçerlidir. Konsantrasyon artışına bağlı olarak kromun indirgeme süresinde de bir artış olmuştur. Bakterinin

gelişme göstermesi kromun toksik etkisinin elimine edilmesiyle meydana gelmiştir. Bir diğer değişle krom sıfırlandıktan sonra bakteri gelişmeye başlamıştır [86].



KAYNAKLAR

- [1] O. Uzunoğlu, (1999) “Gediz Nehrinden Alınan Su ve Sediment Örneklerinde Bazı AğırMetal Konsantrasyonlarının Belirlenmesi”, Celal Bayar Üniversitesi Fen BilimleriEnstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, sf. 12-73.
- [2] M.T. Bebek, Ulubat Gölü ve Gölü Besleyen Su Kaynaklarında Ağır Metal Kirliliğinin Araştırılması, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, sf. 16-65, Haziran, 2001.
- [3] N. Sağlam, Cihangir, N."Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorbsiyonu Çalışmaları",*Hacettepe Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*, vol:11, pp. 157-161, 1995.
- [4] A. Demiroğlu, "Basil türü bazı mikroorganizmalar üzerine ağır metallerin biyosorpsiyonu", Yüksek lisans tezi, Dicle Üniversitesi, 2010.
- [5] K. Vijayaraghavan, Y.S. Yun, “Bacterialbiosorbentsandbiosorption”, *BiotechnologyAdvances*, vol. 26, pp. 266-291, 2008.
- [6] S. Ceylan, Şanlı, Y. "Çevre ve Besin Kirlenmesi", *Gıda Bil. Teknol.Derg.*, vol.3, pp.76-92, 1980.
- [7] "Su Yönetimi", Tarım.gov.tr, http://suyonetimi.ormansu.gov.tr/Libraries/su/TU%C4%9EBA_CANAN_3.sflb.ashx. [Erişim tarihi: 10 - Şubat- 2019].
- [8] "Metallerin Çevresel Etkileri", *Metalurji.org*, https://www.metalurji.org.tr/dergi/dergi136/d136_4753.pdf. [Erişim tarihi: 20-Ocak- 2019].
- [9] M.Ş. Dündar, H. Altundağ, S. Kaygaldurak, V. Şar ve A. Acar, "Çeşitli endüstriyel atık sularda ağır metal düzeylerinin belirlenmesi", *SAÜ. Fen Bilimleri Dergisi*, vol.16, no. 1, pp. 6-12, 2012.
- [10] Y. Bulut, "Çeşitli bitkisel atıklar üzerinde ağır metaladsorpsiyon kinetiği ve dengesinin incelenmesi", Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi, 2003.
- [11] M. Doğan, M. Saylak, “Su Kimyası”, *Erciyes Üniversitesi Yayınları* No:120, s. 132-150, 2000.
- [12] C. Metcalfe, B.G. Koenig, D.T. Bennie, M. Servos, T.A. Ternes, R. Hirsch, “Occurrence of Neutral and Acidic Drugs in the Effluents of Canadian Sewage Treatment Plants”, *Environment Toxicologic Chemical*, 22: s. 2872- 2889, 2003.
- [13] B. Keloğlu, "Atık sulardan izole edilen pseudomonas spp.'lar ile kurşun ve nikel ağır metallerinin giderimi", Yüksek lisans tezi, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, 2017.
- [14] T. Gönüllü, Endüstriyel Kirlenme Kontrolü, İstanbul, Birsen,2004.
- [15] C. Metcalfe ve Eddy, Mc Graw-Hill nc., Treatment, Disposal and Reuse, WatewaterEngineering, 3rd. Edition, 1991.
- [16] "Fiziksel arıtma", Web Deu,<http://web.deu.edu.tr/atiksu/ana58/fizik.pdf>. [Erişim tarihi: 23- Kasım-2018].
- [17] Z. Tez, Bilimde ve Sanayide Kimya Tarihi, Ankara, Nobel,2000
- [18] T.Gündüz, Çevre Sorunları, Ankara, Gazi, 1998
- [19] "Atık sular", Meb.gov.tr, http://megep.meb.gov.tr/mte_program_modul/moduller_pdf/At%C4%B1k%20Sular.pdf. [Erişim tarihi: 23 - Ağustos - 2018].

- [20] "Atık su arıtma", Studylibtr.com, <https://studylibtr.com/doc/5491188/atık-su-arıtma-tesisi> [Erişim tarihi: 15- Mart -2019].
- [21] E. Filiz, "Doğal kaynaklardan elde edilen adsorbanlarla sulardan ağır metal giderimi, Yüksek lisans tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, 2007.
- [22] T. Seven, B.Can, B.N. Darende ve S. Ocak, "Hava ve toprakta ağır metal kirliliği", Ulusal Çevre Bilimleri Araştırma Dergisi, vol. 1, no. 2, pp. 91-103, 2018.
- [23] N. Köleli, Ç. Kantar, "Fosfat kayası, fosforik asit ve fosforlu gübrelerdeki toksik ağır metal (cd, pb, ni, as) konsantrasyonu, Ekoloji Dergisi, vol.14, pp.55, 2005.
- [24] "Kadmiyumun çevre ve insan sağlığı üzerine etkileri", Batem.gov.tr, <http://batem.gov.tr/yayinlar/derim/2007/32-39.pdf>. [Erişim tarihi: 13 - Aralık-2018].
- [25] Ö. Kahvecioğlu, G. Kartal, A. Güven, S. Timur, "Metallerin Çevresel Etkileri -I", Metalurji Dergisi, vol.121, pp. 47-53, 2001.
- [26] D. C. Adriano, Trace Elements in Terrestrial Environments Biogeochemistry, Bioavailability, and Risks of Metals, New York, Verlag, 2001.
- [27] "Ağır Metal Kirliliği", Suvecevre.com, http://www.suvecevre.com/yayin/552/agir-metal-kirliligi_16329.html#.XAKGbdSzBIU. [Erişim tarihi: 17 - Ekim - 2018].
- [28] F. R. Siegel, Environmental Geochemistry of Potential Toxic Metals, New York, Verlag, 2002.
- [29] H. Brim, S. C. McFarlan, J. K. Fredrickson, K. W. Minton, M. Zhai, L. P. Wackett, M. J. Daly, Engineering *Deinococcus radiodurans* for metal remediation in radioactive mixed waste environments, Nat. Biotechnol. 18, 85–90, 2000.
- [30] N. Vural, Toksikoloji, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, pp. 315-325, Ankara, 1984.
- [31] S. Piomelli, "Lead poisoning" Nelson Textbook of Pediatrics, Philadelphia, Saunders Company. 2156-2160., 2000.
- [32] ATSDR. Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Toxicological Profile for Lead. Atlanta, Georgia, USA: ATSDR, 2007.
- [33] WHO. *Environmental Health Criteria* 165- Inorganic Lead. Geneva. 1995.
- [34] R. A. Goyer, TW. CLARKSON, Toxic Effects of Metals. In: Klaassen CD, editor. Casarett & Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons. 6th Edition. New York: The McGraw-Hill Companies. pp. 827–34., 2001.
- [35] J. Duffus, H. Worth, "Fundamental toxicology for chemists", Cambridge: Royal Society of Chemistry, 1996.
- [36] E. Özbey, "*Deinococcus radiodurans* ve rekombinantlarının uv-c, ağır metal dirençliliği ve biyosorpsiyon yeteneği", Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi, 2014.
- [37] Y. Dünder ve R. Aslan, "Yaşamı kuşatan ağır metal kurşunun etkileri", The Medical Journal of Kocatepe, vol. 6, no. 2, pp. 1-5, 2005.
- [38] H.L. Needleman, , "The persistent threat of lead: medical and sociological issues", *Curr Probl Pediatr*. 18: 697-744., 1998.
- [39] A. E. Dönmez, M. Kalay, F. Özkan, C. E. Koyuncu, "FMC ve malahat yeşili sağıltım dozlarının *Oreochromis niloticus*'un bazı kan parametrelerinde

- meydana getirdiği değişimler", Ege Üniversitesi, Su Ürünleri Dergisi, vol:23, pp. 61-64, 2006.
- [40] C. B. Schreck, Conteras-Sanchez W., Fitzpatrick, M.S. , Effects of stres on fish reproduction, gamete quality and progeny. Aquaculture, 197: 3-24, 2007.
- [41] R. Giordano, Arata., P., Rinaldi, S., Ciaralli., L., Giani, M., Rubbiani, M., Costantini, S., "Mercury, cadmium and lead levels in marine organisms (*Mytilus galloprovincialis*) collected along the Italian coasts", Annali Dell Istituto Superiore Di Sanita, 25: 511-516, 1989.
- [42] H. M. Levesque, Moon, T.W., Campbell, P.C.G., Hontela, A., "Seasonal variation in carbohydrate and lipid metabolism of Yellow perch (*Perca flevescens*) chronically exposed to metals in the field" Aquatic Toxicology, 60: 257-267, 2002.
- [43] M. Kalay, S. Karataş, "Kadmiyumun *Tilapia nilotica*'da kas, beyin ve kemik (omurga kemiği) dokularındaki birikimi", Turkish Journal of Zoology. 23: 985-991, 1999.
- [44] F.E. Kayhan, M.N. Muşlu ve N.D. Koç, "Bazı ağır metallerin sucul organizmalar üzerinde yarattığı stres ve biyolojik yanıtlar", Journal of FisheriesSciences.com, vol. 3, no. 2, pp. 153-162, 2009.
- [45] N. Balkıs, O. Algan, "Marmara Denizi yüzey sedimentlerinde metallerin birikimi ve denetleyen mekanizmalar. Deniz Kirliliği, TÜDAV Yayınları, İstanbul, 2005.
- [46] E. Bozanta ve G. Ökmen, "Biyosorpsiyon ve mikroorganizmalar", Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, vol. 4, no.2, pp. 69-77, 2011
- [47] D. Kratochvil, Volesky B. Advances in the biosorption of heavy metals. TIBTECH. 16:291–300, 1998.
- [48] "Bioaccumulation Of Heavy Metal", Encyclopedia.com, <https://www.encyclopedia.com/environment/encyclopedias-almanacs-transcripts-and-maps/bioaccumulation-heavy-metals>. [Erişim tarihi: 21- Ocak - 2019].
- [49] "Heavy Metals and Bioaccumulation", Medium.com, <https://medium.com/@SimpleWater/heavy-metals-and-bioaccumulation-what-you-need-to-know-5a1d9fa3047f>. [Erişim tarihi: 18- Ağustos - 2018].
- [50] N. Rangsayatorn, Upatham, E. S., Kruatrachue, M., Pokethitiyook, P., Lanza, G.R., "Phytoremediation potential of *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis*: biosorption and toxicity studies of cadmium", *Environ. Pollut.*, 119: 45-53, 2002.
- [51] J. L. Zhou and R. J. Kiff, "The uptake of copper from aqueous solution by immobilized fungal biomass." Journal of Chemical Technology & Biotechnology (3): 317-330., 1991.
- [52] J. Tobin, C. White, et al., "Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology." Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 13(2): 126-130., 1994.
- [53] S. Shumate and S. G. II, "Accumulation of metals by microbial cells." *Comprehensive biotechnology* 4: 235-253., 1985.
- [54] T. Bahadır, "Endustriyel Atık sulardan Biyosorpsiyonla Kursun Gideriminin İncelenmesi, *Fen Bilimleri Enstitüsü*", Yüksek Lisans, Çevre Mühendisliği Anabilim Dalı, On Dokuz Mayıs Üniversitesi, Samsun, 2005.
- [55] F. Veglio and F. Beolchini, "Removal of metals by biosorption: a review." *Hydrometallurgy* 44(3): 301-316., 1997

- [56] N. Kuyucak and B. Volesky, "Biosorbents for recovery of metals from industrialsolutions." *Biotechnology letters* , 10(2): 137-142., 1988.
- [57] R. J. Stevenson, Bothwell M. L., Lowe R. L. "Algal Ecology, Freshwater benthic ecosystems" *Academic Press*, 753s, California, 1996.
- [58] W. X. Zhang, Majidi, V. "Monitoring the cellular response of *Stichococcus baccillaris* to exposure of several different metals using *in vivo* P-31 NMR and other spectroscopic techniques" *Environ. Sci. Technol.* 28, 1577-1581, 1994.
- [59] R. Gourdon, Bhende S., Rus E., and Sofer S. S. *Biotech Lett.* 12(11),8, 1990.
- [60] R. Gupta, Ahuja P., Khan S., Saxena R. K., and Mohapatra H., "Microbial biosorbents: Meeting challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions. *Current Science.* 78,8:967-73, 2000.
- [61] A. B. Karaduman, "Metal tolerant aktinomiset izolatlarının eldesi, karakterizasyonu ve ağır metal giderimi", Yüksek lisans tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, 2008.
- [62] "*Escherichia coli*", Ipfs.io, https://ipfs.io/ipfs/QmR1gzPYUwxEUWHbeRggZzfYy5Fxs8Qc7hXUUnJQwxrZq/wiki/Escherichia_coli.html. [Erişim tarihi: 30 - Kasım - 2018].
- [63] "Infections of *Escherichia coli*", Researchgate.net, https://www.researchgate.net/publication/300126699_Infections_of_Escherichia_coli. [Erişim tarihi: 03-Eylül - 2018].
- [64] "Koliform ve *Escherichia coli*", Dünyagıda.com, <http://www.dunyagida.com.tr/haber/koliform-ve-escherichia-coli-214zellikleri-tipleri-son-gelistmeler/2470>. [Erişim tarihi: 21 - Aralık - 2018].
- [65] "*Escherichia coli*", Wikizero.biz, <http://www.wikizero.biz/index.php?q=aHR0cHM6Ly90ci53aWtpcGVkaWEub3JnL3dpa2kvRXNjaGVyaWNoaWFfY29saV9PMTU3Okkg3>. [Erişim tarihi: 03 - Ekim- 2018].
- [66] "*Escherichia coli*", Howlingpixel.com, https://howlingpixel.com/i-tr/Escherichia_coli [Erişim tarihi: 14 - Şubat - 2019].
- [67] "Biyolojiye Gerçekçi Yaklaşım", Biyologlar.com, <http://www.biyologlar.com/e-colinin-butun-suslari-hastalik-yapar-mi>. [Erişim tarihi: 21 - Ocak - 2019].
- [68] M. Kuba, "İçme suyu pompalarında *Escherichia coli*'nin oluşturduğu biyofilm yapısının incelenmesi ve oluşmasının önlenmesi", Yüksek lisans tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi, 2012.
- [69] S.R. Joshi ve D. Kalita, "Study on bioremediation of Lead by exopolysaccharide producing metallophilic bacterium isolated from extreme habitat", *Biotechnology Reports*, vol. 16, pp. 48-57, 2017.
- [70] P. Kaszycki, Fedorovych, D., Ksheminska, H., Babyak, L., Wjcik, D., and Koloczek, H. "Chromium accumulation by living yeast at various environmental conditions" *Microbiological Research*, vol. 159, pp. 11-17, 2004.
- [71] I. Alhaji, A.A. Haroun, K.K. Kamaluddeen, Y. Magaji ve E.E. Oaikhen, "Evaluation of Heavy Metal Tolerance Level (MIC) and Bioremediation Potential of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated from Makera-Kakuri Industrial Drain in Kaduna, Nigeria", *European Journal of Experimental Biology*, vol.7, pp. 5-28, 2017.

- [72] J. Chakraborty ve S. Das, "Characterization and cadmium-resistant gene expression of biofilm-forming marine bacterium *Pseudomonas aeruginosa* JP-11", Environmental Science and Pollution Research, vol. 21(24), 2014.
- [73] B. Muneer, M.J. Iqbal, F.R. Shakoori ve A.R. Shakoori, "Isolation, Identification and Cadmium Processing of *Pseudomonas aeruginosa* (EP-Cd1) Isolated from Soil Contaminated with Electroplating Industrial Wastewater", Pakistan Journal of Zoology, vol. 48(5), pp. 1495-1501, 2016.
- [74] X. Tang, G. Zeng, C. Fan, M. Zhou, L. Tang, J. Zhu, J. Wan, D. Huang, M. Chen, P. Xu, C. Zhang, Y. Lu ve W. Xiong, "Chromosomal expression of CadR on *Pseudomonas aeruginosa* for the removal of Cd(II) from aqueous solutions", Science of the Total Environment, vol. 636, pp. 1355-1361, 2018.
- [75] A.U. Dikmen, "Atık sulardan ağır metallerin giderilmesinde doğal zeolitlerin kullanılması: klinoptilolitin çinko, kurşun ve kadmiyum için iyon değişim kapasitesi", Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi, 2008.
- [76] R.O. Artan ve O. Keskinan, "Kadmiyum içeren atık suların ileri arıtımında su mercimeği (*lemna minor*) bitkisinin kullanılması", Ç.Ü Fen Bilimleri Enstitüsü, Cilt. 19(2), 2008.
- [77] V. A. Cantu, L. H. M. Ramos ve I. B. Renteria, "Biosorption of lead (II) and cadmium (II) using *Escherichia coli* genetically engineered with mice metallothionein I", Water Science & Technology, vol. 63(8), pp. 1607-1613, 2011.
- [78] A. Kapoora, T. Viraraghavana ve D.R. Cullimoreb, "Removal of heavy metals using the fungus *Aspergillus niger*", Bioresource Technology, vol. 70, pp. 95-104, 1999.
- [79] M. Huang, J. Pan ve L. Zheng, "Removal of heavy metals from aqueous solutions using bacteria", Journal of Shanghai University (English Edition), vol. 5, pp. 253-259, 2001.
- [80] K. G. Quiton, B.Doma, C. M. Futralan ve M. Wan, "Removal of chromium(VI) and zinc(II) from aqueous solution using kaolin-supported bacterial biofilms of Gram-negative *E. coli* and Gram-positive *Staphylococcus epidermidis*", Sustainable Environment Research, vol. 28, pp. 206-213, 2018.
- [81] C. Quintelas, Z. Rocha, B. Silva, B. Fonseca, H. Figueiredo ve T. Tavares, "Removal of Cd(II), Cr(VI), Fe(III) and Ni(II) from aqueous solutions by an *E. coli* biofilm supported on kaolin", Chemical Engineering Journal, vol. 149, pp. 319-324, 2009.
- [82] M. Mohan, M.M. Kumar ve S. Mahendran, "Cd and Zn removal by biosorption using e-coli", Global Journal of Engineering Science and Researches, vol. 3(11), 2016.
- [83] N. K. Kılıç, "Proteomik Yaklaşımla Atık su Kaynaklı Mikroorganizmalarda Cr(VI) Direnç Yollarının Araştırılması", Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, 2008.
- [84] B. Y. M. Bueno, Torem, M. L., Molina, F., de Mesquita, L. M. S., "Biosorption of lead(II), chromium(III) and copper(II) by *R. opacus*: Equilibrium and kinetic studies", Miner. Eng., 21: 65-75, 2008.
- [85] A. Pala, "Doğal Zeolitlerin Atık suda Kurşun Gideriminde Kullanılması", Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, 2006.

- [86] E. Evgen, “Pseudomonas Cinsi Bakterilerde Hekzavalent Krom İndirgeme Üzerine Ağır Metallerin Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, 2012.



KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Elif PALTA
Doğum Yeri : Darende / MALATYA
Doğum Tarihi : 29.10.1985
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : elifsdk.bjk@gmail.com

Eğitim Durumu

Derece	Alan	Üniversite	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Çevre Mühendisliği	Adıyaman Üniversitesi	
Lisans	Su Ürünleri Mühendisliği	Mustafa Kemal Üniversitesi	2012
Lise	Eşit Ağırlık	Darende Lisesi	2002