

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AĞIR METAL BİYOREMEDİASYONUNDA TERMOFİL *C. APOINUM*
SİYANOBAKTERİSİNİN KULLANIM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

Seda ŞEN

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2022

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

AĞIR METAL BİYOREMEDİASYONUNDA TERMOFİL *C. APONINUM* SİYANOBAKTERİSİNİN KULLANIM POTANSİYELİNİN ARAŞTIRILMASI

Seda ŞEN

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof.Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, termofil *Cyanobacterium aponinum*’un Cu(II), Ni(II) ve Cr(VI) biyoremediasyon kapasitesi farklı besiyerlerinde belirlenmiştir. Bu denemelerden elde edilen verilere göre, en iyi giderim, BG11 besiyerinde, 10.4 mg/L Cu(II) içeren ortamda %63.5; 13.0 mg/L Ni(II) içeren ortamda ise %54 verimle gerçekleşmiştir. Ağır metal biyoremediasyonuna pH etkisi incelendiğinde, siyanobakterinin en yüksek giderimi pH 9’da gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Bu pH’daki ortamlarda biyogiderim, 12.8 mg/L Cu(II) içeren ortamda %71.0; 11.3 mg/L Ni(II) içeren ortamda ise %68 olarak bulunmuştur. Başlangıç metal konsantrasyonlarının (10 mg/L, 15 mg/L ve 20 mg/L) biyoremediasyona etkisinin araştırıldığı deney sonuçlarına göre, en yüksek giderim 9.7 mg/L Cu(II) içeren ortamda %76.6; 9.6 mg/L Ni(II) içeren ortamda ise %57.5 olmuştur.

Artan sıcaklık (25 °C, 35 °C ve 45 °C) ve biyokütle konsantrasyonlarının [%20 (v/v) ve %40 (v/v)] kirleticilerin biyoremediasyonuna etkisi değerlendirildiğinde, siyanobakterinin en yüksek ağır metal giderimi, 45 °C’de, 12.8 mg/L Cu(II) içeren ortamda ve %20 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda %75.8, 13.8 mg/L kirletici içeren ortamda, %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda ise %76.3 olmuştur. Aynı sıcaklıkta, %20 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda, 14.6 mg/L Ni(II) varlığında verim %79.4; biyokütle iki katına çıkarıldığında ise 15.9 mg/L kirletici içeren ortamda %83 verimle biyogiderim sağlanmıştır.

Siyanobakterinin bir gram biyokütlesi başına giderilen maksimum spesifik Cu(II) miktarı (q_m) 45 °C’de, %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonu ve 13.8 mg/L Cu(II) içeren ortamda, 6.1 mg olarak bulunmuştur. Maksimum spesifik Ni(II) giderimi aynı sıcaklıkta, %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda, 15.9 mg/L kirletici içeren ortamda 8.2 mg/g olarak belirlenmiştir.

Bu tez çalışması ile, termofil *C. aponinum*’un alkali pH derecelerinde ve yüksek sıcaklık koşullarında, etkin verimlilikle Cu(II) ve Ni(II) biyoremediasyonu yapabildiği gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre, sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonunun artmasıyla, biyoremediasyon veriminin arttığı görülmüştür. Test edilen siyanobakterinin ağır metal içeren atıksuların biyolojik yolla arıtımında kullanım kapasitesinin olduğu ve etkin bir biyosorbent olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır.

Mart 2022 47 sayfa

Anahtar Kelimeler: Ekstremofil, Siyanobakteri, Biyoremediasyon, Ağır metal, Atıksu

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF USAGE POTENTIAL OF THERMOPHILE *C. APONINUM* CYANOBACTERIA IN HEAVY METAL BIOREMEDIATION

Seda ŞEN

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Supervisor: Prof.Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ

In the thesis study, the Cu(II), Ni(II), and Cr(VI) bioremediation capacity of thermophilic *C. aponinum* was determined in different media. According to the results obtained, it was found that the best removal was achieved in BG11 medium, with 63.5% efficiency in the medium containing 10.4 mg/L Cu(II) and 54% in the medium with 13.0 mg/L Ni(II). When the pH effect on heavy metal bioremediation was examined, it was determined that cyanobacterium achieved the highest removal at pH 9. In media at this pH, biodegradation capacity is 71.0% in the medium with 12.8 mg/L Cu(II); it was found 68% in the medium containing 11.3 mg/L Ni(II). According to the results of the experiments in which the effect of initial metal concentrations (10 mg/L, 15 mg/L, and 20 mg/L) on bioremediation was investigated, the highest removal was 76.6% in the medium containing 9.7 mg/L Cu(II); in the medium with 9.6 mg/L Ni(II) it was 57.5%.

When the effect of increasing temperature (25 °C, 35 °C and 45 °C) and biomass concentrations [20 (v/v) and 40% (v/v)] on the bioremediation of pollutants is evaluated; the highest heavy metal removal of cyanobacterium was 75.8% at 45 °C in the medium containing 12.8 mg/L Cu(II) and 20% (v/v) biomass concentration; it was 76.3% in the medium with 13.8 mg/L pollutant and 40% (v/v) biomass concentration. At the same temperature, at a biomass concentration of 20% (v/v), in the presence of 14.6 mg/L Ni(II), the yield was 79.4%; when the biomass was doubled, bioremoval was achieved 83% efficiency in the medium containing 15.9 mg/L pollutant.

The maximum specific amount of Cu(II) removed per gram biomass of cyanobacterium (q_m) was found as 6.1 mg at 45 °C, in the medium containing 40% (v/v) biomass concentration and 13.8 mg/L Cu(II). The maximum specific Ni(II) removal was determined as 8.2 mg/g at the same temperature, at 40% (v/v) biomass concentration, in the medium with 15.9 mg/L contaminant.

In this thesis, it has been shown that the thermophile *C. aponinum* can bioremediate Cu(II) and Ni(II) with effective efficiency at alkaline pH and high temperature conditions. Due to the data obtained, it was observed that the bioremediation efficiency increased with an the increment in temperature and biomass concentration. It has been concluded that the tested cyanobacterium has the capacity to be used in the biological treatment of heavy metal-containing wastewater and can be used as an effective biosorbent.

March 2022 47 pages

Key Words: Extremophile, Cyanobacteria, Bioremediation, Heavy metal, Wastewater

TEŞEKKÜR

Gerçekleştirmiş olduğum tez çalışmasında ve araştırmalarda, bana her daim öncülük eden, destek ve emeklerini esirgemeyerek yol gösteren, bilimsel gelişim sürecimde vizyon katan ve öğrencisi olduğum için her zaman gurur ve mutluluk duyduğum kıymetli danışman hocam Sayın Prof.Dr. Nur KOÇBERBER KILIÇ'a (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) sonsuz teşekkür ederim. Deney ve araştırmalarımın en başından itibaren büyük katkı ve destek sağlayarak bilgi birikimlerinden her zaman yararlandığım, akademik yolda yürüme şevki kazandıran hocam Sayın Prof.Dr. Gönül DÖNMEZ'e (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) ve hocam Sayın Prof.Dr. Sevgi ERTUĞRUL KARATAY'a (Ankara Üniversitesi, Biyoloji Anabilim Dalı) yardımlardan dolayı teşekkürlerimi sunarım. Deneylerimi gerçekleştirdiğim süreçte bilgi ve tecrübeleriyle her zaman destek olan değerli hocam Arş.Gör.Dr. Ekin DEMİRAY'a teşekkür ederim.

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ndeki değerli laboratuvar arkadaşlarım Esra ERKOÇ, Nazlıhan TEKİN, Hüseyin Kaan KABADAYI, Eda AÇIKEL ve Aybüke KUT'a yardımlarından dolayı teşekkür ederim. Lisans eğitimim boyunca destekleriyle yanımda olan değerli dostlarım Melike GÜMÜŞ GÜVERCİN ve Tuğçe ÖZMAZI'ya, akademik sürecimde manevi desteğini hissettiğim, her zaman yanımda olan değerli dostum Şeyma ÇAVUŞ'a teşekkür ederim.

Hayatımın ve çalışmalarımın her aşamasında yanımda olan, maddi, manevi emeklerini eksik etmeyen, her zaman bana güvenen ve cesaretlendiren, haklarını asla ödeyemeyeceğim sevgili annem Sema ŞEN'e, babam Uğur ŞEN'e ve ağabeyim Tolga ŞEN'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Seda ŞEN
Ankara, Mart 2022

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	2
2.1 Atıksular	2
2.2 Ağır Metaller ve Toksik Etkileri.....	2
2.3 Ağır Metallerin Arıtımı	5
2.4 Ağır Metaller ve Biyolojik Arıtım	6
2.5 Ekstremofiller	9
2.6 Ağır Metal Biyoremediasyonunda Siyanobakterilerin Kullanımı	12
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	16
3.1 Materyal	16
3.1.1 Siyanobakteri ve gelişme koşulları	16
3.1.2 Metal stok solüsyonlarının hazırlanması	17
3.1.3 TRIA ve NaHCO ₃ solüsyonlarının hazırlanması	17
3.2 Yöntem	17
3.2.1 Farklı besiyeri kompozisyonlarının ağır metal biyoremediasyonuna ve siyanobakteri gelişmesine etkisi	17
3.2.2 Başlangıç pH'mın ağır metal biyoremediasyonuna etkisi.....	18
3.2.3 Başlangıç metal konsantrasyonunun metal biyoremediasyonuna etkisi	18
3.2.4 Artan sıcaklığın ve başlangıç biyokütle konsantrasyonlarının ağır metal biyoremediasyonuna etkisi.....	19
3.3 Analiz Yöntemleri	20
3.3.1 Krom (VI) analizi	20

3.3.2 Bakır (II) ve Nikel (II) analizi	20
3.3.3 Sonuçların değerlendirilmesi ve kullanılan kısaltmalar	20
4. ARAŞTIRMA BULGULARI	22
4.1 Farklı Besiyeri Kompozisyonunun Ağır Metal Biyoremediasyonuna ve Siyanobakteriyel Gelişmeye Etkisi	22
4.2 Başlangıç pH'ının Ağır Metal Biyoremediasyonuna Etkisi	23
4.3 Artan Ağır Metal Konsantrasyonlarının Cu(II) ve Ni(II) Biyoremediasyonuna Etkisi.....	24
4.3.1 <i>C. aponinum</i> ile yapılan Cu(II) biyoremediasyonu	25
4.3.2 <i>C. aponinum</i> ile yapılan Ni (II) biyoremediasyonu	25
4.4 Artan Sıcaklığın ve Başlangıç Biyokütle Konsantrasyonlarının Biyoremediasyona Etkisi	26
4.4.1 Artan biyokütle ve sıcaklıkların <i>C. aponinum</i> Cu (II) biyoremediasyonuna etkisi	27
4.4.2 Artan biyokütle ve sıcaklıkların <i>C. aponinum</i> Ni(II) biyoremediasyonuna etkisi	29
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	33
KAYNAKLAR	38
EKLER.....	43
EK 1 BAKIR(II) standardı.....	44
EK 2 NİKEL(II) standardı.....	45
EK 3 KROM(VI) standardı	46
ÖZGEÇMİŞ.....	47

SİMGELER DİZİNİ

Pb	Kurşun
Hg	Civa
As	Arsenik
Zn	Çinko
Cu	Bakır
Ni	Nikel
Cr	Krom
Cd	Kadmiyum
Fe	Demir
Ba	Baryum
CO ₂	Karbon dioksit

Kısaltmalar

EPS	Ekzopolisakkarit
-----	------------------

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Ağır metallerin kaynağı	3
Şekil 2.2 Ağır metal giderim stratejileri.....	6
Şekil 2.3 Mikroorganizmaların biyosorpsiyon ve biyoakümülyasyon için kullanımları	7
Şekil 2.4 Mikrobiyel metal alım mekanizmaları: aktif ve pasif mekanizmalar	8
Şekil 2.5 Termofilik mikroalg ve siyanobakterilerin biyoteknolojik uygulamaları.....	12
Şekil 4.1 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarının <i>C. aponinum</i> Cu(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi.....	25
Şekil 4.2 Başlangıç Ni(II) konsantrasyonlarının <i>C. aponinum</i> Ni(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi.....	26
Şekil 4.3 Artan sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonunun Cu(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi	28
Şekil 4.4 Artan sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonunun Ni(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi	30
Şekil 5.1 <i>C. aponinum</i> Cu(II) ve Ni(II) biyoremediasyonunun 45 °C’de karşılaştırılması	37

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 2.1 Ekstremofil türlerinin sınıflandırılması.....	10
Çizelge 3.1 BG11 besiyeri içeriği	16
Çizelge 4.1 Farklı besiyeri içeriklerinin <i>C. aponinum</i> tarafından yapılan ağır metal biyoremediasyonuna etkisi (Biyokütle konsantrasyonu %20 (v/v); pH: 7; T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 2 gün).....	22
Çizelge 4.2 Metal içermeyen ortamda farklı besiyeri içeriklerinin <i>C. aponinum</i> gelişimine etkisi (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v); T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 2 gün)	23
Çizelge 4.3 pH'ın <i>C. aponinum</i> ağır metal biyomediasyonuna etkisi (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v); T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 2 gün)	24
Çizelge 4.4 <i>C. aponinum</i> maksimum spesifik Cu(II) giderimi (q_m) (pH: 9.0; Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v), %40 (v/v) ; T: 25 °C, 35 °C, 45 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)	31
Çizelge 4.5 <i>C. aponinum</i> maksimum spesifik Ni(II) giderimi (q_m) (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v), %40 (v/v) ; pH: 9.0; T: 25 °C, 35 °C, 45 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)	32

1. GİRİŞ

Tarım, endüstri, kentleşme ve nüfus artışı beraberinde sayısız kirleticinin çevreye yayılmasına neden olur. Çevre kirliliğine ağır metaller, boyar maddeler, deterjanlar, aromatik halkaya sahip toksik bileşikler gibi sayısız kimyasal madde sebep olur. Endüstriyel, medikal ve teknolojik sektörlerde ağır metallerin gelişmiş kullanımı, çevre ve insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Tüm canlı hücre ve organlarında bu ağır metaller birikerek birçok hastalığa yol açar. Böylece ağır metaller, besin zincirine dahil olmakta, tüm canlı sistemleri olumsuz etkilemektedir. Ayrıca ağır metaller topraktaki mikroorganizmaların azalmasına, dolayısıyla toprağın biyotik yeteneğinin yitirilmesine sebep olmaktadır.

Ağır metallerin uzaklaştırılmasında etkin yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu amaçla kullanılan geleneksel fizyokimyasal yöntemler büyük miktarda yatırım ve enerji gerektirir. Ayrıca bu yöntemler, zararlı son ürün oluşumuna neden olarak ikincil kirliliğe neden olmaktadır. Biyoremediasyonu temel alan biyolojik arıtım ise ağır metallerin uzaklaştırılmasında geleneksel yöntemlere göre oldukça avantajlı, etkin ve uygulanabilir bir arıtım yoludur. Ağır metallerin bakteri, fungus, mikroalg, siyanobakteri gibi farklı mikroorganizmalarla biyoremediasyonu yapılabilmektedir.

Çoğu mikroorganizma mezofil koşullar altında gelişebilir ve ekstrem koşullarda hayatta kalamazlar. Bununla birlikte, dünyada çevresel koşulların büyüme için normal sınırların ötesinde olduğu ve bu nedenle aşırı olarak kabul edilebileceği alanlar vardır. Aşırı pH, sıcaklık, basınç ve tuzluluk ile baş edebilen mikroorganizmaların hepsi ekstremofiller olarak kabul edilmiştir. Ekstrem koşullarda yaşayan mikroorganizmalar daha etkin biyoremediasyon yapılması için iyi bir alternatif olarak karşımıza çıkmaktadır.

Bu bağlamda, gerçekleştirilen tez çalışmasında, Cu(II), Ni(II) ve Cr(VI) ağır metallerinin termofil *Cyanobacterium aponinum* tarafından biyoremediasyonu araştırılarak, farklı besiyeri, pH, başlangıç metal konsantrasyonları, sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonlarının siyanobakterinin ağır metal biyoremediasyonuna etkisi belirlenmiştir.

2. KURAMSAL TEMELLER

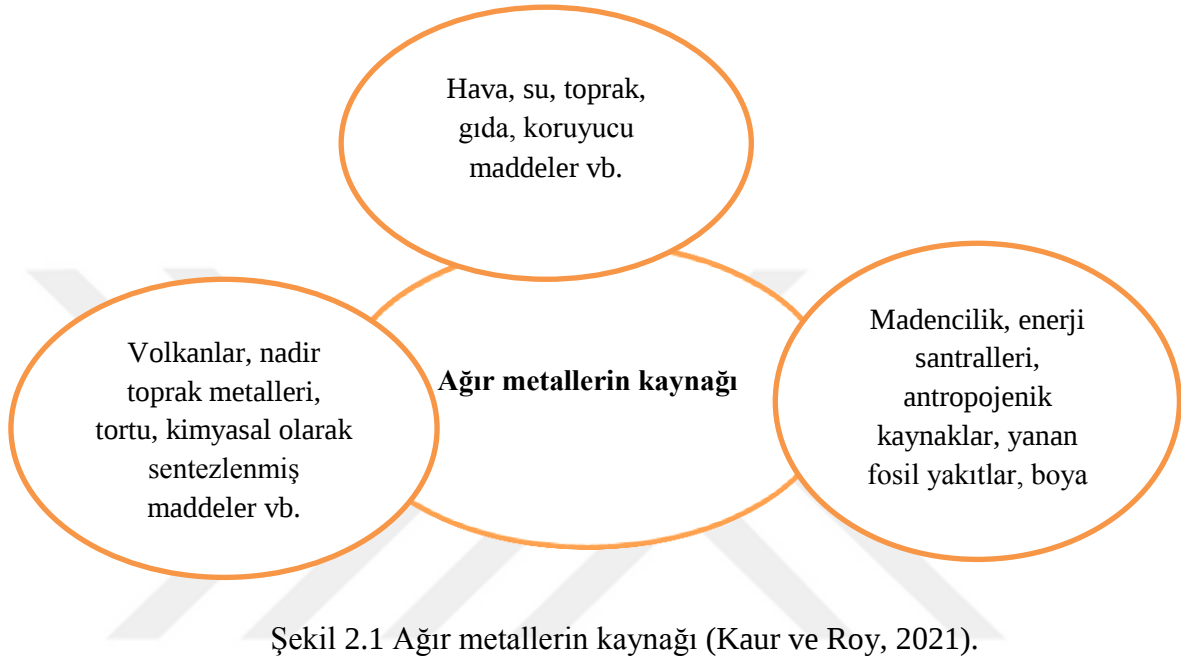
2.1 Atıksular

Atıksular; konut, sanayi, tarım gibi birçok kaynakların kullanımı sonucunda kontamine olmuş, nitelikleri kısmen veya bütünüyle farklılaşmış sular ile maden kuyuları benzeri endüstriyel tesislerden kaynaklanan sulardan, sokak, park gibi yerlere gelen akıntıların yüzey veya yüzey altı yağışlara dönüşmesi sonucunda oluşan sulardır. Evsel, tarımsal ve endüstriyel faaliyetler sonucunda çevreye salınan organik ve inorganik maddeler ile su kaynakları kirlenmektedir. Ayrıca hızlı nüfus artışı ve değişen yaşam standartları nedeniyle kentleşme, tarımsal faaliyetlerin yoğunlaşması ve tatlı su ekosistemlerinin aşırı kullanımı hem küresel hem de bölgesel su kıtlıklarına neden olmaktadır (Wang vd. 2017). Atıksu geri kazanımı, su kaynaklarının daha iyi yönetimi için çok önemlidir; ayrıca bu suların kazanımıyla birlikte bölgesel ve mevsimsel su kıtlığının azaltılmasına yardımcı olunabilir. Endüstriyel faaliyetlerin artması, ağır metaller, boyalar, pestisitler, fenoller, organik bileşikler vb. gibi toksik kirleticilerin miktarının artmasına yol açmıştır. Bu kirleticiler de doğrudan su kirliliğine neden olmaktadır. Atıksulardaki inorganik ve organik maddeler tüm canlı formları için büyük tehdit oluşturmaktadır. Bu kimyasal bileşiklerin yanında bir diğer kirletici olan ağır metaller ise tüm canlıların üzerinde birçok zararlı etkilere sahiptir. Atıksulardaki en kalıcı kirleticilerden biri ağır metallerdir (Akpor vd., 2014).

2.2 Ağır Metaller ve Toksik Etkileri

Sudan daha yüksek bir yoğunluk taşıyan metaller ağır metaller olarak kabul edilir (A.Bano vd., 2018) ve atıksudaki en kalıcı kirleticilerdendir (Akpor vd., 2014). Çevrede oluşum ve birikimleri, hızlı sanayileşme, kentleşme ve insan kaynaklı sebepler gibi doğrudan veya dolaylı insan faaliyetlerinin bir sonucudur. Kaplama, plastik, cam, kauçuk, deri vb. gibi çeşitli endüstrilerden ciddi miktarda ağır metal atıkları gelmektedir (Thitame vd., 2010). Bu kirleticiler, küçük miktarlarda oluşur ve kayaların, havadaki tozun, orman yangınlarının ve bitki örtüsünden süzülme yoluyla su sistemine de girebilir (Fernandez ve Olalla, 2000; Ogoyi vd., 2011). Çeşitli ağır metallerin, gübre

olarak kullanılan hayvan dışkılarından ve tarım aletlerinden de çevreye yayıldığı farkedilmiştir. Şekil 2.1’de ağır metallerin farklı kaynakları gösterilmiştir. Örneğin kümes hayvanları, domuz ve sığır gibi çiftlik hayvanları gübrelerinde önemli miktarda Cd, Cu, Pb, Cr, Ni ve Zn rapor edilmiştir (Luo vd., 2009a,b; Wu vd., 2008).



Şekil 2.1 Ağır metallerin kaynağı (Kaur ve Roy, 2021).

Atıksudaki en yaygın bulunan toksik ağır metaller arsenik, kurşun, cıva, kadmiyum, krom, bakır, nikel, gümüş ve çinkodur. Ağır metaller, tüm canlı formları için büyük tehdit oluşturmaktadır. Bu metaller metabolik yolla parçalanamaz; bunun yerine belirli vücut organlarında birikir ve hastalığa neden olurlar (Jais vd., 2017). Hayvanlar, metal içeren bitki, balık veya içme suyu tüketerek de metal biriktirebilirler. Bu metaller hayvanlar tarafından atılamaz; cilt, saç, kemiklerde ve çoğunlukla organlarda birikirler. Suyun ağır metallerle kontamine olması sonucu bu habitatlarda yaşayan sucul canlılar da metal biriktirirler. Bunun yanında metallerle kirlenmiş sularda ve topraklarda gelişen bitkiler de ise, gaz değişimi, CO₂ fiksasyonu, solunum ve besin Emilimi gibi temel işlevsel fonksiyonlarında sorunlar yaşamaktadır (Kasim, 2005). Madencilik faaliyetleri, hayvansal atıklar, zirai ilaçlar ve endüstriyel atıklar sonucunda, ağır metaller toprağa ulaşarak doğrudan toprak kirliliğine neden olmaktadır. Sonuç olarak ağır metallerle kirlenmiş topraklarda yetiştirilen bitkilerin ve mera alanlarının kontamine olması ve

bunların besin ağına katılmasıyla birlikte tüm canlı formları negatif bir şekilde etkilenmektedir. Ağır metallere kirlenmiş topraklar, yitirilmiş topraklar anlamına gelir. Bakır (Cu), kurşun (Pb), krom (Cr), cıva (Hg), kadmiyum (Cd) ve çinko (Zn) gibi ağır metaller, toprağı kontamine eden temel kirleticilerdir (Çağlarırnak, 2010). Dolayısıyla ağır metaller topraktan direkt olarak canlıların gıda zincirine katılır. Özellikle bakır, kurşun, krom ve nikel hidrosfer dahil çevrenin en önemli kimyasal kirleticileri arasında yer almaktadır.

Oral yolla vücuda giren nikel metalinin az bir kısmı deri, bağırsak ve akciğer gibi organlarda birikirken, çoğu vücut tarafından emilmeden dışkı yoluyla dışarı atılır. Nikel metali nükleik asitler gibi polimerlere sıkıca bağlanır (Çağlarırnak, 2010).

Krom, kayalar, hayvanlar, bitkiler ve toprakta bulunur ve sıvı, katı veya gaz fazında olabilir. Krom bileşikleri toprağı bağlanır ve sudaki tortularda çok kalıcıdır. Krom, paslanmaz çelik gibi metal alaşımlarında kullanılır; metal üzerinde koruyucu kaplamalar (elektrokaplama); manyetik bantlar, boyalar, çimento, kağıt, kauçuk, zemin kaplamaları ve diğer malzemeler için pigmentlerde kullanılır. Krom(VI) bileşikleri toksik ve kanserojendir.

Bakır canlı vücudunda az miktarda bulunduğunda esansiyel bir element iken, fazla miktarda bulunması ciddi tehlikelere yol açar. Ayrıca insanlarda ağır metal toksisitesinin ana kaynağı bakır içeren gıdalardır (Kumar vd., 2021). Yüksek miktarlarda bakır metaline maruz kalmak, karaciğer ve Alzheimer rahatsızlıklarına yol açmakta ve ayrıca sinir bozukluğuna neden olabilmektedir (Uriu-Adams ve Keen, 2005). Bakır sülfat, madencilik endüstrisinde kullanımı yoluyla su kaynağına kolayca sızabilir. Yüksek konsantrasyonlarda bakır sülfat tüketmek organların iflas etmesine hatta ölüme neden olur (Gamakaranage vd., 2011).

Çevrede doğal olarak meydana gelmesinin yanı sıra, arsenik volkanik aktivite, kayaların erozyonu, orman yangınları ve insan aktivitesi yoluyla daha büyük miktarlarda salınabilir. Eser miktarda uzun zamanlı etkisi altında kalmak, cilt tonunun kararmasına,

derinin çeşitli yerlerinde küçük siğiller oluşmasına yol açmaktadır. Fazla miktarlardaki vücuda girişi ölümle sonuçlanır.

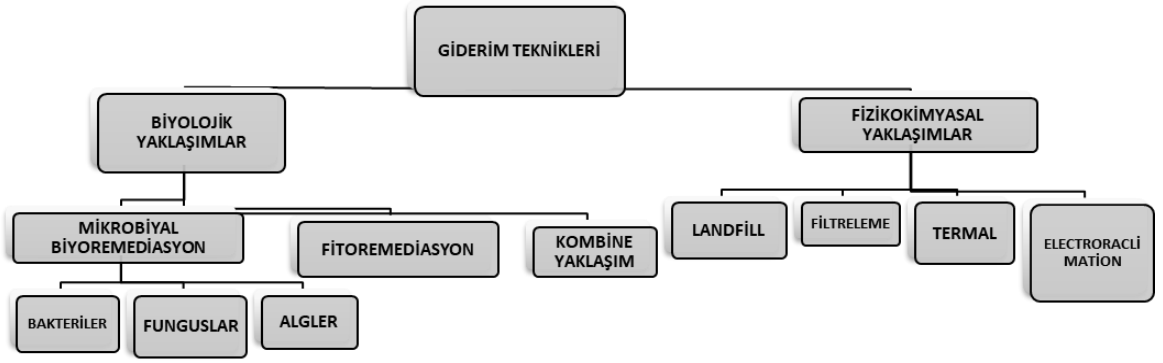
Fosil yakıt yakma, madencilik ve imalat gibi insan faaliyetlerinin bir sonucu olarak, çevremizin her yerinde kurşun ve kurşun bileşikleri bulunabilir. Pil, cephane, lehim ve boru gibi metal ürünler ve X-ışını koruyucu cihazlar üretmek için kullanılır. Yüksek kurşun seviyelerine maruz kalmak beyne ve böbreklere ciddi şekilde zarar verebilir ve sonuçta ölüme neden olabilir. Hamile kadınlarda, kurşuna yüksek düzeyde maruz kalma, düşüklere neden olabilir. Erkeklerde yüksek düzeyde maruz kalma, sperm üretiminden sorumlu organlara zarar verebilir.

Çinko, su kaynağına su borusu yapmak için kullanılan boru bağlantı parçaları veya çinko borular yoluyla girebilir. Musluk suyundaki düşük pH, suya sızan çinko miktarını artırabilir. Yüksek miktarda çinko mide bulantısı, ishal, iç kanama, kusma ve karın kramplarına neden olabilir. Ağır metal tehdidinin artması nedeniyle, bunların ortadan kaldırılması için etkili yöntemler bulmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Kaur ve Roy, 2021).

2.3 Ağır Metallerin Arıtımı

Ağır metallerin uzaklaştırılması için geleneksel yöntemler büyük miktarda yatırım ve enerji gerektirir. Kullanılan kimyasal yollar; çöktürme, yükseltgenme/indirgenme, sedimentasyon, kompleksleştirme, adsorpsiyon, katyon-anyon değişimi gibi çeşitli yolları içerir (Matagi vd., 1998). Bu yöntemlerin çoğu ağır metal kirliliğinin düşük konsantrasyonları için etkisizdir ve aynı zamanda kendisi bir kirletici olan zehirli çamur oluşumuna neden olabilir (Hussein vd., 2004).

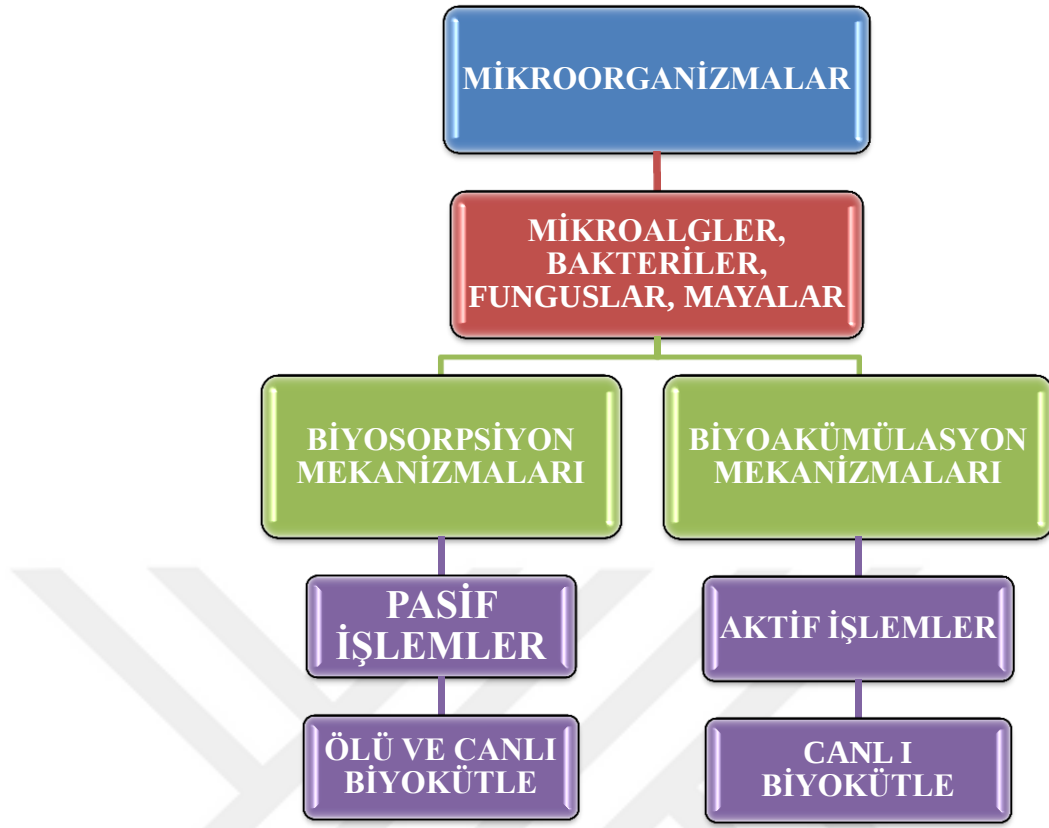
Yapılan çalışmalar, mikroorganizmaların çevreyi kirleten metalleri etkili bir şekilde bertaraf etmede önemli bir görev üstlendiğini göstermiştir (Boyanov vd., 2003; Spain, 2003; Costa, 2001). Ağır metallerin ortamdan uzaklaştırılmasında kullanılan çeşitli yöntemler Şekil 2.2’de özetlenmiştir.



Şekil 2.2 Ağır metal giderim stratejileri (Ullah vd. 2015)

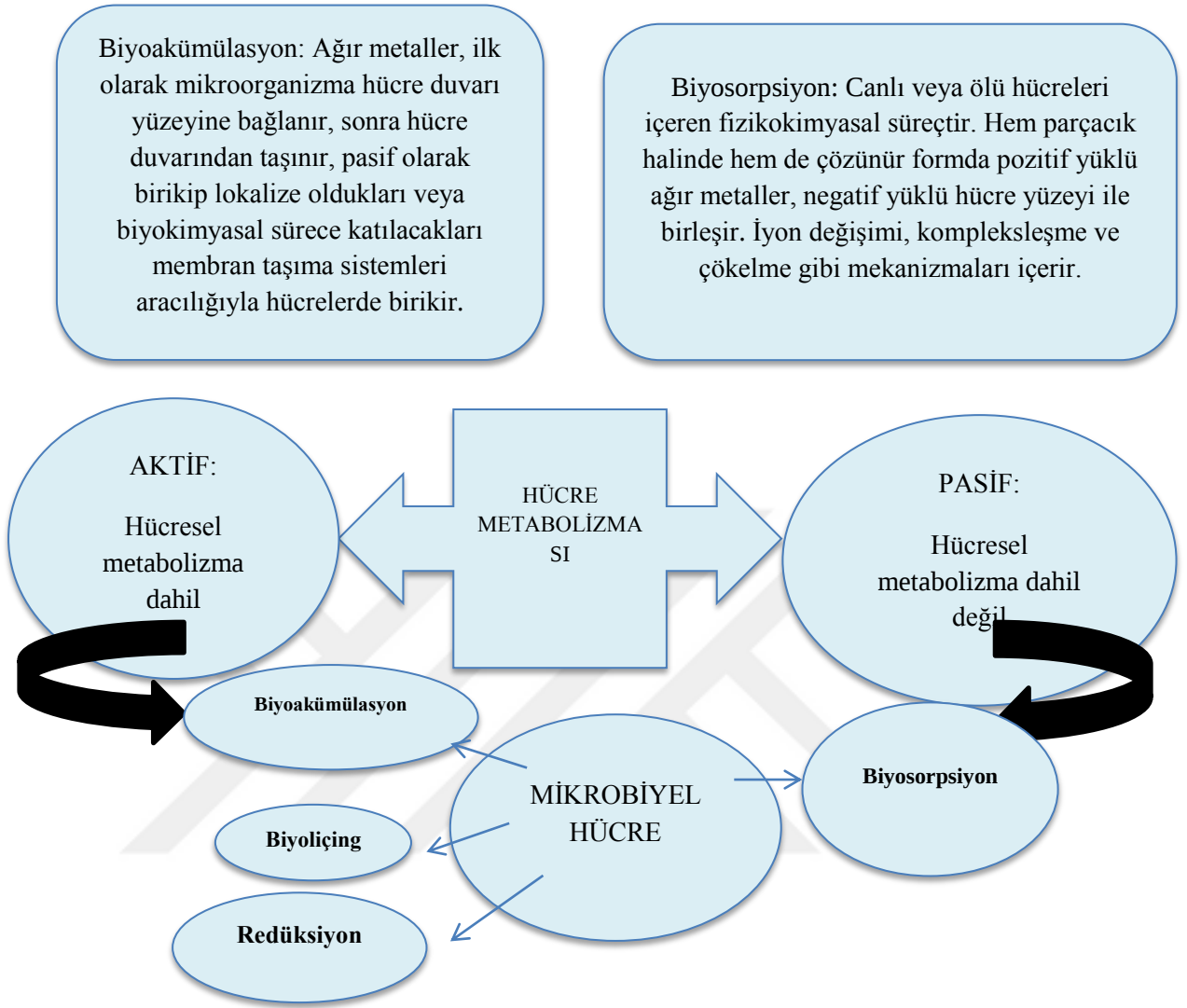
2.4 Ağır Metaller ve Biyolojik Arıtım

Günümüzde, ağır metal gideriminde, kimyasal yollar yerine biyolojik yollar tercih edilmektedir. Biyolojik arıtım, biyoremediasyonu temel alan bir arıtım yoludur. Biyoremediasyonda, mikroorganizmalar zararlı toksik maddeleri daha az veya toksik olmayan bileşiklere dönüştürmek için kullanılmaktadır (Glick, 2010, Brinza vd., 2007, Asha ve Sandeep 2013). Mikroorganizmaların metalleri biyoakümüle etmede rol oynadığı 1980’li yılların başlarında bulunmuştur (Vijayaraghavan ve Yun, 2008). Kirleticilerin ortamdaki uzaklaştırılmasında biyolojik arıtımın üç yararı bulunmaktadır. Birinci olarak, yöntem kirletici içeren yerde *in situ* şekilde gerçekleştirilebilir. Bir diğeri, bu teknikler doğa dostudur ve ikincil atık meydana getirmez ve son olarak, maliyeti düşük, kârlı bir yöntemdir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008). Biyoremediasyon kirli çevreyi yönetmek için son zamanlarda kullanılan en etkili yöntemlerden biridir.



Şekil 2.3 Mikroorganizmaların biyosorpsiyon ve biyoakümülyasyon için kullanımları

Biyoremediasyonda biyoakümülyasyon, biyosorpsiyon, biyotransformasyon ve biyomineralizasyon yapabilen bakteri, fungus, mikroalg ve siyanobakteri gibi mikroorganizmalar kullanılır (Şekil 2.3) (Jacob vd., 2018). Biyosorpsiyonda mikroorganizmalar ölü veya canlı olarak pasif bir şekilde de metal iyonlarını bir iyon değiştirici görevi yaparak metabolizmaya bağlı olmadan adsorbe edebilirler (Şekil 2.4). Biyosorpsiyon terimi, canlı ya da canlılığını yitirmiş biyokütle vasıtasıyla toksik materyallerin ortamdan alımı sonucu uzaklaştırılmasıdır. Biyosorpsiyon, ağır metalin stabilizasyonuna yol açan basit adsorpsiyon ve yüzey çökeltmesini içeren bir süreç (Lu vd., 2012) iken, biyoakümülyasyon mekanizmasında ağır metal hücre zarından sitoplazmaya ve hücre içine geçebilmektedir. Hücre içine girdikten sonra, ağır metaller proteinler ve peptitler tarafından tutulabilirler (Malik, 2004; Mishra ve Malik, 2013).



Şekil 2.4 Mikrobiyel metal alım mekanizmaları: aktif ve pasif mekanizmalar (Gupta ve Diwan, 2017)

Metaller organik kirleticiler gibi parçalanamadığından, bunlar biyotransformasyon yoluyla uzaklaştırılmalı veya kararlı bir forma dönüştürülmelidir (Chandra vd., 2015).

Bahsedilen mekanizmalar dışında, mikroorganizmalar, kendilerini ağır metallerin toksisitesinden korudukları alım, adsorpsiyon, oksidasyon, indirgeme ve metilasyon gibi bazı başka yollar geliştirmişlerdir. Biyoremediasyon; ağır metal iyon türü, mikroorganizmanın spesifik yüzey özellikleri, sıcaklık, pH, başlangıç metal iyon konsantrasyonu, biyokütle konsantrasyonu gibi parametreleri içeren çeşitli faktörlerden

etkilenir. Çözeltideki iki veya daha fazla metal iyonunun kombine etkileri, bağlanma bölgeleri için yarışan metal iyonu türlerinin sayısına ve ayrıca her bir türün metal iyonu konsantrasyonuna bağlıdır.

Ağır metal biyoremediasyonunda birçok farklı mikroorganizma ile çalışmalar yapılmıştır. Bunlar arasında siyanobakterilerin kullanımı oldukça önem taşımaktadır. Çünkü bu tek hücreli prokaryotik canlılar güneş ışığının ulaştığı yerlerde kolayca gelişebilirler. Güneş ışığından enerji üretirler, az besin ihtiyacına gereksinir, azot ve CO₂ fikse ederler. Bununla birlikte, farklı karbon kaynaklarını kullanarak hızlı gelişim gösterirler. Siyanobakteriler, insan sağlığı, endüstri ve biyoyakıt üretimi gibi her alanda kullanım sahası bulmuştur ve son yıllarda artan bir ilgiyle gündemdedir. En önemlisi, ağır metal, pestisid, petrol veya tekstil boyalarıyla kirletilmiş atıksu arıtımında kullanılabildikleri gösterilmiştir (Idi vd., 2014).

Son yıllarda biyoteknolojide ekstremofilik mikroorganizmalara olan ilginin çoğaldığı görülmektedir. Ekstremofil mikroorganizmaların özellikle ağır metallerin biyoremediasyonunda kullanımı ise büyük avantaj sağlamaktadır. Bu tip mikroorganizmalar, ılımlı koşullarda gelişen mikroorganizmaların tolere edemeyeceği ortamlarda gelişip, daha kararlı kalabilmektedirler.

2.5 Ekstremofiller

Çevresel koşulların büyüme için normal sınırların ötesinde olduğu ve bu nedenle aşırı olarak kabul edilebileceği alanlar vardır. Bu nedenle, aşırı pH, sıcaklık, basınç ve tuzluluk ile baş edebilen organizmaların hepsi ekstremofiller olarak kabul edilmiştir. Çizelge 2.1.'de ekstremofillerin sınıflandırılması özetlenmiştir. Bazen bu organizmalar, CO₂ içeren gazlarla başa çıkma, metallerin yüksek konsantrasyonlarında var olma ve bazı birden fazla stresin (polekstremofiller) kombinasyonlarında gelişebilme gibi ek özelliklere de sahip olabilirler. Bazı organizmalar, çok yüksek radyasyon seviyeleri altında büyüme ve radyonüklitleri biriktirme konusunda dikkate değer bir yeteneğe sahiptir (Rivasseau vd., 2013). Bu canlıların ekstrem koşullarda kirleticileri detoksifiye

etmelerinin yanı sıra, ekstrem habitatlara sahip oldukları için kontaminasyon riskleri de düşüktür.

Çizelge 2.1 Ekstremofil türlerinin sınıflandırılması (Gupto vd. 2014)

Ekstremofiller	Gelişme Ortamı
Termofiller	Yüksek sıcaklık Orta sıcaklık (50-60 °C) Termofiller (60-80 °C) Hipertermofiller (>80 °C)
Psikrofiller	Düşük sıcaklık (<15 °C)
Asidofiller	Düşük pH (pH <2-3)
Alkalifiller	Yüksek pH (pH >9)
Halofiller	Yüksek tuz konsantrasyonu (2-5 M NaCl)
Piezofiller	Yüksek basınç (130 Mpa kadar)
Metalofiller	Yüksek metal konsantrasyonu
Radyofiller	Yüksek radyasyon seviyeleri
Toksitolerantlar	Yüksek düzeyde toksik reaktifler/organik çözücüler
Mikroaerofiller	%21'den az oksijen içeren

Termofilik ve hipertermofilik mikroorganizmalar, yapay habitatlar dahil olmak üzere ekstrem ortamlarda yaşar ve yüksek sıcaklıklarda optimum büyüme gösterir (Elleuche vd., 2015). Genellikle, bu mikroorganizmalar diğer zorlu çevre koşulları, olumsuz pH ve yüksek tuz konsantrasyonlarını tolere edebilir (Urbietta vd., 2015).

Bu mikroorganizmalardan termofilik mikroalgler ve siyanobakteriler, güneş ışığı ve CO₂'yi kullanırken zorlu sıcaklık koşullarında büyümek için benzersiz özelliklere sahiptir (Patel vd., 2019). Termofil mikroalg ve siyanobakteriler sahip oldukları avantajlar sayesinde, ağır metalleri atıksulardan uzaklaştırabilecek, biyoremediasyon için umut verici adaylar olarak değerlendirilmektedir (Fazal vd., 2018). Şekil 2.5'de termofil mikroalg ve siyanobakterilerin kullanım alanları verilmiştir.

Ekstremofiller bu zorlu şartlar altında hayatta kalmak için birçok strateji geliştirmişlerdir. Ekstremofilik mikroorganizmaların zorlu çevresel koşullar altında gelişmesine izin veren özellikler arasında, hücre zarının bileşimi en önemlilerinden

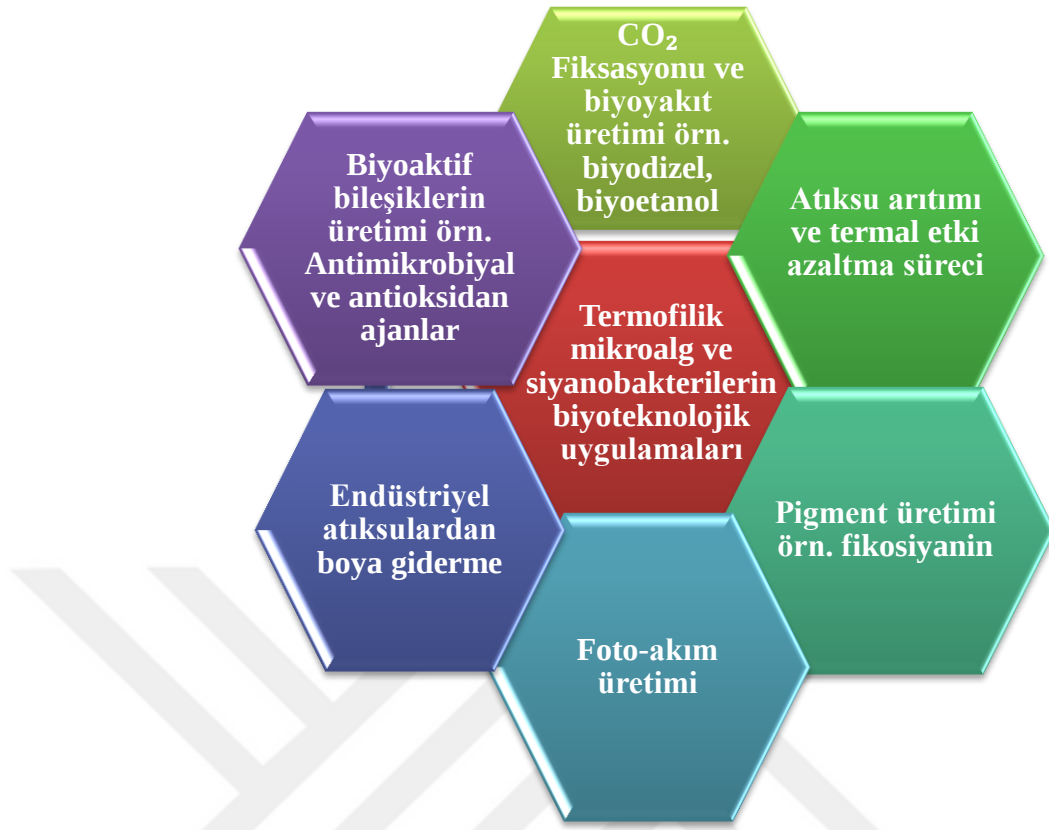
biridir. Membran lipit içeriği, sıcaklık değişimlerine tepki olarak değişir, kimyasal stabilite ve yüksek sıcaklıklarda termofilik mikroorganizmaların büyümesini sağlayan koşullara uyarlanmış bir membran geçirgenliği sağlar (Koga, 2012).

Ekstremofilik mikroorganizmalar, bu özellikleri nedeniyle biyoteknolojik çalışmalarda büyük kullanım kapasitelerine sahiptir. Soğuğa adapte olmuş mikroorganizmalar tarafından üretilen psikrofilik enzimler, deterjan, gıda endüstrisinde ve çeşitli kimyasalların üretiminde yüksek bir katalitik etkinlik sergilemektedir.

Derin deniz organizmaları piezofillerin (barofiller) kaynağıdır ve araştırmalar çoğunlukla basınç ve mikrobiyal büyüme arasındaki ilişkiyi gösteren basınçla düzenlenen operonların tanımlanmasına odaklanmıştır. Fakat son zamanlarda barofillerin, ağır metallere olan toleransının fark edilmesiyle biyoteknolojik uygulamalarda potansiyel kullanımları bu yöne çekilmiştir.

Radyofiller, oksidatif stres ve yüksek miktarda DNA hasarı koşulları altında hayatta kalabilmeleri nedeniyle çok ilgi gören bir ekstremofil sınıfıdır. Günümüzde radyoaktif atıkların gideriminde kullanılmaktadır.

Asidofilik ve metalofilik mikroorganizmalar, metaller, radyonüklitler ve asitliğe karşı savunma mekanizmaları göz önüne alındığında, biyoremediasyon için özellikle çekici ajanlardır. Bu mikroorganizmalar, sert koşullar altında aktif veya stabil kalan ekstremofilik enzimleri (ekstremozimler) (Elleuche vd., 2014) ve biyomolekülleri (Raddadi vd., 2015) sentezlerler. Bu mikroorganizmalardan pigmentler ve termostabil enzimler gibi çok sayıda değerli kimyasal sentezlenmiştir (Martelli vd., 2014; Piechula vd., 2001, Sarada vd., 1999). Sonuç olarak ekstremofil mikroorganizmalar, biyoteknolojide geniş spektrumda direnç mekanizmalarına sahip olmaları nedeniyle büyük rağbet görmektedir.



Şekil 2.5 Termofilik mikroalg ve siyanobakterilerin biyoteknolojik uygulamaları (Patel vd., 2019)

2.6 Ağır Metal Biyoremediasyonunda Siyanobakterilerin Kullanımı

Siyanobakteriler arasında termofiller avantajları nedeniyle biyolojik arıtım süreçlerinde dikkat çekmektedir. Bununla birlikte termofil siyanobakterilere ait biyoremediasyon çalışmalarının çok kısıtlı olduğu görülmüştür. Elde edilen literatür bilgisine göre siyanobakteri ve ağır metal giderim çalışmalarının daha çok mezofil mikroorganizmalarla ilgili olduğu belirlenmiştir. Aşağıda bu çalışmalar özetlenmektedir.

De Philippis vd. (2007) gerçekleştirdikleri çalışmada, ekzopolisakkarit üreten *Cyanospira capsulata* ve *Nostoc PCC7936* siyanobakterilerini Cu(II), Ni(II) ve Zn(II) biyogideriminde kullanılmıştır. İki siyanobakterinin kültürleri ayrıca hem tek metali sistemlerde hem de Cu(II) ile çok metali sistemlerde az miktarda Zn(II) ve Ni(II)'yi

giderdiği gösterilmiştir. *C. capsulata*'nın diğer siyanobakteriye göre daha etkin ağır metal giderimi yaptığı ve en fazla Cu(II) ağır metale karşı tolerans gösterebildiği belirtilmiştir.

Balaji vd. (2014) çeşitli *Spirulina* türlerinin kurşun, krom ve kadmiyum giderimi üzerine bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Kullanılan her üç *Spirulina* türünün deri endüstrisi atıksularında bulunan kurşun, krom ve kadmiyum kirleticilerine karşı yüksek tolerans düzeyine sahip olduğu ve ağır metal stresine karşı koruyucu mekanizmaları nedeniyle güçlü biyoadsorbanlar olarak kabul edilebileceğini, bu mikroorganizmalarla biyolojik arıtımın yapılabileceğini göstermişlerdir.

Madencilik ortamından izole edilen siyanobakteri *Nostoc muscorum* tarafından Cu(II), Pb(II), Zn(II) ve Cd(II) ağır metallerinin gideriminin araştırıldığı bu çalışmada, 5 mg/L ağır metal içeren ortamda Pb(II)'nin %98, Cu(II)'in %87.8, Cd(II)'un %82 ve Zn(II)'nin %67.2 oranında uzaklaştırıldığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, siyanobakterinin ağır metali ortamdan uzaklaştırmak için önce hücre yüzeyinde tuttuğu daha sonra yavaşça hücre içine alma şeklinde bir mekanizmayla direnç oluşturduğu vurgulanmıştır (Hazarika vd., 2014).

Zinicovscaia vd. (2019), Zarrouk besiyerinde yetiştirilen *Spirulina platensis* siyanobakterisini, farklı kimyasal bileşime sahip dört endüstriyel atıksudan metal giderimi için kullanmışlardır. Bu çalışmada en yüksek demir daha sonra sırasıyla çinko, bakır, krom ve nikel ağır metallerini pH 9.5'da yüksek verimle ortamdan uzaklaştırmışlardır.

Microcystis aeruginosa ile yapılan bir çalışmada, Pb(II) ve Cd(II) gibi ağır metallerin biyobirikimi gösterilmiştir. Mikroorganizma, 25 °C'de, pH 7'de, BG11 ortamında geliştirilmiştir. Aynı çalışmada siyanobakteri, 20 mg/L ağır metal içeren ortamda kadmiyumu %87.3, kurşunu %90.1 verimle ortamdan uzaklaştırmıştır (Rzymiski vd., 2013).

Dixit ve Singh (2014), Chu-10 ortamında geliştirdikleri *N. Muscorum* siyanobakterisinin Pb(II) ve Cd(II) giderim kapasitesini araştırmışlardır. Sonuçlar Pb(II) ve Cd(II) gideriminin önemli bir bölümünün, siyanobakteriyel hücre içi biriktirilmesinden (%5 Pb(II) ve %4 Cd(II)) ziyade, metallerin hücre yüzeyine tutunarak (%85 Pb(II) ve %79 Cd(II)) gerçekleştiğini göstermiştir.

Bir başka çalışmada, *Cylindrospermopsis raciborskii* siyanobakterisinin salgıladığı maddelerle kadmiyum(II), çinko(II), bakır(II) ve kurşun(II) giderimi araştırılarak siyanobakterinin salgıladığı moleküllerin en fazla Cu(II) ağır metale afinite gösterdiği bulunmuştur. Araştırmacılar böyle bir siyanobakterinin ağır metal içeren atıksularda kullanılması ile toksik etkinin sınırlanabileceğini belirtmişlerdir (Tonietto vd., 2014).

Nostoc muscorum siyanobakterisinin kurşun(II), bakır(II), kadmiyum(II) ve çinko(II) ağır metallerinin biyoakümülyasyon ve biyosorpsiyon kapasitesinin araştırıldığı çalışmada, %96.3 Pb(II), %96.42 Cu(II), %80.04 Cd(II) ve %71.3 Zn(II) giderimi gerçekleşmiştir. Çalışmada metal giderimi verilerinin analizi sonucu, siyanobakterinin ilk dakikalarda hızlı metal sorpsiyonu gerçekleştirdiği belirtilmiştir (Roy vd., 2015).

Sen vd., (2017) *Limnococcus limneticus* ve *Leptolyngbya subtilis* siyanobakterilerinin konsorsiyum halinde kullanıldığı çalışmada, ortamda bulunan 15 mg/L Cr(VI), pH 9'da, %10 inokulum miktarı ile, 12 günlük inkübasyon süresi sonunda, %50 verimle ortamdan uzaklaştırılmıştır. Gerçekleştirilen FTIR çalışması sonucunda, amin, fosfat ve karbonil gruplarının Cr(VI) bağlanmasında rol oynadığı ortaya konulmuştur.

Heidari vd., (2020) demir madenciliği bölgesinden izole edilen *Oscillatoria* sp. ve *Leptolyngbya* sp. siyanobakterilerini konsorsiyum şeklinde kullanarak, biyoagümantasyon yoluyla farklı ağır metallerin uzaklaştırılmasını sağlamışlardır. Aynı çalışmada, ağır metallerin uzaklaştırılmaları azalan sıra ile Cr > Fe > Ni > As > Pb > Cu şeklinde verilerek en yüksek giderimin %32 olduğu belirtilmiştir.

Synechocystis sp. PCC 6803 siyanobakterisinin EPS üretimi ve bu polimerin arsenik gideriminin araştırıldığı çalışmada, 300 mg/L EPS ile pH 8.5'te %52.8 As(III), pH 4.5'te %49.5 As(V) giderimi gerçekleştirilmiştir (Naveed vd., 2020). Çalışmada arsenik gideriminin EPS'de yüzey kompleksleşmesi/hidrofobik etkileşimler yoluyla, fonksiyonel gruplara bağlı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca EPS üzerinde var olan fonksiyonel grupların direkt olarak pH'dan etkilendiği açıklanmıştır.



3. MATERİYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Siyanobakteri ve gelişme koşulları

Biyogiderim çalışmaları için kullanılacak termofil siyanobakteri *C. aponinum*, Ankara Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü Biyoteknoloji Araştırma Laboratuvarı kültür koleksiyonundan tedarik edilmiştir. *C. aponinum* (Gen-bank no: MN 116003), 250 mL'lik steril erlenlerde, 100 mL BG11 besiyeri (Rippka, 1988) bulunan ortamlarda, 2400 lux beyaz floresan ışık altında, iklim kabininde (BINDER model: KBW 400 (E5.1), S.no:15-13640) 14 gün boyunca geliştirilmiştir. Siyanobakteri katı BG11 besiyerinde saklanmış ve belirli aralıklarla düzenli olarak yenisi elde edilmiştir. Çizelge 3.1'de, BG11 ortamının içeriği gösterilmiştir.

Çizelge 3.1 BG11 besiyeri içeriği

NaNO ₃	1.5 g
K ₂ HPO ₄	0.04 g
MgSO ₄ x 7H ₂ O	0.075 g
CaCl ₂ x 2H ₂ O	0.036 g
Sitrik asit	0.006 g
Ferrik amonyum sitrat	0.006 g
EDTA (disodium salt)	0.001 g
Na ₂ CO ₃	0.02 g
Agar	10.0 g
A ₅ solüsyonu	1.0 ml
Distile su	1.0 L
A ₅ solüsyonu içeriği	
H ₃ BO ₃	2.86 g
MnCl ₂ x 4H ₂ O	1.8 g
ZnSO ₄ x 7H ₂ O	0.222 g
NaMoO ₄ x 2H ₂ O	0.39 g
Cu SO ₄ x 5H ₂ O	0.079 g
Co(NO ₃) ₂ x 6H ₂ O	49.4 mg

3.1.2 Metal stok solüsyonlarının hazırlanması

Deneylerde kullanılacak olan ağır metal stok solüsyonları, her bir kimyasaldan 1 g/L olacak şekilde ayrı ayrı hazırlanmıştır. Krom(VI) çözeltisi için $K_2Cr_2O_7$, Cu(II) çözeltisi için $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ kimyasalı, Ni(II) çözeltisi için $NiSO_4 \cdot 6H_2O$ (Merck) kimyasalları kullanmıştır. Hazırlanan stok solüsyonlardan gerekli seyreltmeler yapılarak besiyerlerine eklenmiştir.

3.1.3 TRIA ve $NaHCO_3$ solüsyonlarının hazırlanması

Triakontanol (TRIA) çözeltisi (%96, w/v; Aldrich), kimyasalın 1 L kloroform içerisinde 0.5 g çözündürülmesiyle hazırlanmıştır. Sodyum bikarbonat çözeltisi ise, distile suda 17.2 g/L $NaHCO_3$ 'ün (Merck) çözülmesiyle hazırlanmıştır (Taştan vd., 2012a; Taştan vd., 2012b).

3.2 Yöntem

C. aponinum ile Ağır Metal Biyoremediasyon Çalışmaları

Çalışmada kullanılan mikroorganizmanın en iyi ağır metal biyoremediasyonu yaptığı ortamın belirlenmesi için farklı besiyeri kompozisyonları, pH, başlangıç metal konsantrasyonu, artan sıcaklık ve başlangıç biyokütle konsantrasyonunun biyogiderime etkisi araştırılmıştır. Biyogiderim çalışmaları, 100 mL BG11 besiyeri içeren 250 mL'lik erlenlerde, 2400 lux beyaz floresan ışık altında, iklim kabininde, 10 gün süresince gerçekleştirilmiştir.

3.2.1 Farklı besiyeri kompozisyonlarının ağır metal biyoremediasyonuna ve siyanobakteri gelişmesine etkisi

Farklı besiyeri içeriklerinin, Ni(II), Cu(II) ve Cr(VI) giderimine etkisinin belirlenmesi amacıyla dört farklı besiyeri kullanılmıştır. BG11 besiyerlerine büyüme hormonu olan Triakontanol (TRIA) ve $NaHCO_3$ katkı maddesi olarak eklenmiştir. Çalışmada

kullanılan farklı besiyerleri şu şekildedir: 1) BG11; 2) BG11 + 1 mg/L TRIA; 3) BG11 + 34 mg/L NaHCO₃; 4) BG11 + 1 mg/L TRIA + 34 mg/L NaHCO₃.

Hazırlanan dört farklı besiyerine ağır metallerden ayrı ayrı olacak şekilde (yaklaşık 10 mg/L) eklenmiştir. İnkübasyon süresi sonunda ortamda kalan ağır metal konsantrasyonu belirlenmiştir. Denemelerin bu aşamasında, siyanobakterinin en yüksek kapasite ile hangi ortamda hangi ağır metali uzaklaştırdığı belirlenmiş ve çalışmalara seçilen ortamla ve ağır metalle devam edilmiştir.

Çalışmada kullanılan 4 farklı ortam metalsiz olarak da hazırlanmış ve siyanobakteri gelişimi bu ortamlarda belirlenmiştir.

3.2.2 Başlangıç pH'nın ağır metal biyoremediasyonuna etkisi

Farklı pH değerlerinin ağır metal biyogiderimine etkisinin belirlenmesi için yaklaşık 10 mg/L Cu(II) ve Ni(II) içeren besiyerlerinin pH'ları 6, 7, 8 ve 9 olarak, 1M NaOH ve 1M HCL çözeltileri kullanılarak ayarlanmıştır.

Bakır(II) içeren ortamlarda, pH'ı 6, 7, 8 ve 9 olarak ayarlanan besiyerlerinde başlangıç metal konsantrasyonları, sırasıyla, 10.8 mg/L, 10.1 mg/L, 9.8 mg/L, 12.8 mg/L şeklindedir.

Nikel(II) içeren ortamlarda, başlangıç metal konsantrasyonları pH 6, 7, 8 ve 9'ta sırasıyla 10.0 mg/L, 11.1 mg/L, 12.6 mg/L ve 11.3 mg/L'dir. Hazırlanan besiyerleri içine aktive edilmiş kültürlerden %20 (v/v) ekim yapılmış ve inkübasyon süresi sonunda (2 gün) ağır metal gideriminin en yüksek olduğu pH belirlenmiştir.

3.2.3 Başlangıç metal konsantrasyonunun metal biyoremediasyonuna etkisi

Bakır(II) ve Ni(II) metallerinin artan konsantrasyonlarının biyogiderime etkisini belirlemek amacıyla, optimum pH değerine ayarlanmış, başlangıç metal

konsantrasyonları yaklaşık 10 mg/L, 15 mg/L ve 20 mg/L olan BG11 besiyerleri kullanılmıştır.

C. aponinum ile yapılan çalışmalarda, Cu(II) içeren ortamlarda (pH 9), metal konsantrasyonları 9.7 mg/L, 14.2 mg/L ve 22 mg/L olarak ayarlanmıştır.

Nikel(II) ile yapılan denemelerde (pH 9), kirletici konsantrasyonları 9.6 mg/L, 15.2 mg/L ve 22.1 mg/L olarak ayarlanmıştır. Optimum giderimin yapıldığı pH değerinde aktifleştirilen siyanobakteriden %20 (v/v) ekim yapılmış ve 10 günlük inkübasyon süresinin sonunda metal giderimi belirlenmiştir.

3.2.4 Artan sıcaklığın ve başlangıç biyokütle konsantrasyonlarının ağır metal biyoremediasyonuna etkisi

Artan sıcaklıkların ve başlangıç biyokütle konsantrasyonlarının Cu(II) ve Ni(II) biyogiderimine etkisini belirlemek amacıyla, biyokütle konsantrasyonu %20 (v/v) ve %40 (v/v) olarak, sıcaklıklar ise 25 °C, 35 °C ve 45 °C şeklinde arttırılmıştır. İçinde 100 mL sıvı BG11 olan besiyerlerine, Cu(II) veya Ni(II) ağır metallerinden ayrı ayrı olacak şekilde yaklaşık 15 mg/L eklenmiştir. Her bir metal için ayrı deney düzenlenmiştir.

C. aponinum ile yapılan deneylerde, %20 (v/v) ve %40 (v/v) biyokütle içeren ortamlarda (pH 9) Cu(II) konsantrasyonları sırasıyla, 25 °C’de 15 mg/L ve 13.1 mg/L; 35 °C’de 14.6 mg/L ve 12.4 mg/L; 45 °C’de 12.8 mg/L ve 13.8 mg/L olarak ayarlanmıştır.

Nikel(II) ve %20 (v/v) ve %40 (v/v) biyokütle içeren ortamlarda, metal konsantrasyonları sıra ile 25 °C’de 14.8 mg/L ve 16.2 mg/L; 35 °C’de 15.2 mg/L ve 18.6 mg/L; 45 °C’de 14.6 mg/L ve 15.9 mg/L’dir. İnkübasyon süresi (10 gün) sonunda ortamda kalan metal miktarı belirlenmiştir.

3.3 Analiz Yöntemleri

3.3.1 Krom (VI) analizi

Krom(VI) analiz yöntemi, krom metalinin difenilkarbazid ($C_{13}H_{14}N_4O$) bulunan ortamda sülfürik asit (H_2SO_4) ile tepkimeye girmesi sonucu gerçekleştirilmiştir. Difenilkarbazid çözeltisi 0.25 g difenilkarbazidin, %95'lik, 100 ml etil alkol içinde çözdürülmesiyle elde edilmiştir. Sülfürik asitten (H_2SO_4) 3.3 ml, 1 ml difenilkarbazid çözeltisinden ve 1 ml örneğin eklenmesiyle oluşturulan solüsyon, saf suyla 100 ml'ye tamamlanarak hazırlanmıştır. Ölçümler, spektrofotometre cihazının 540 nm dalga boyuna ayarlanmasıyla yapılmıştır (Snell ve Snell, 1959).

3.3.2 Bakır (II) ve Nikel (II) analizi

Cu(II) ve Ni(II) metallerinin analiz yönteminde, sodyum dietilditiyokarbamatın amonyak (NH_3) bileşiği ile ortamda oluşturduğu renkli karışımdan faydalanılmıştır. Bakır(II) metalinin 460 nm'de, Ni(II) metalinin ise 340 nanometre dalga boyunda ölçülmesiyle spektrofotometrik metod kullanılmıştır. Tepkimede yer alan sodyum dietilditiyokarbamat çözeltisi, hassas terazide kimyasalın 0.1 g tartılarak 10 ml saf su içerisinde çözdürülerek elde edilmiştir (Snell and Snell, 1959).

3.3.3 Sonuçların değerlendirilmesi ve kullanılan kısaltmalar

Kullanılan siyanobakterinin ağır metal giderim yüzdeleri (%B) aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (1).

$$\% \text{ Biyogiderim} = \left(\frac{C_o - C_f}{C_o} \right) \times 100$$

C_0 : Başlangıç ağır metal konsantrasyonu (mg/L)

C_f : Ortamda kalan ağır metal konsatrasyonu (mg/L)

C_{gid} : Siyanobakterinin ortamdaki uzaklaştırdığı ağır metal konsantrasyonu (mg/L)

Siyanobakterinin gram hücre başına ortamdaki uzaklaştırdığı ağır metal miktarı aşağıda verilen formül ile hesaplanmıştır (2).

$$qm = \frac{Co - Cf}{Xm}$$

q_m : Siyanobakteriyel kütlede gram başına giderim sağlanan ağır metal miktarı (mg/g)

X_m : Siyanobakterinin kuru ağırlığı (g/L)

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

Çalışmada termofil *C. aponinum* siyanobakterisinin Cu(II), Ni(II) ve Cr(VI) biyoremediasyon kapasitesi farklı ortamlarda araştırılmıştır. *C. aponinum*'un ağır metal biyoremediasyonunu en iyi yaptığı optimum koşulları belirlemek amacıyla farklı pH'ların artan metal, sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonlarının biyoremediasyona etkisi belirlenmiştir.

4.1 Farklı Besiyeri Kompozisyonunun Ağır Metal Biyoremediasyonuna ve Siyanobakteriyel Gelişmeye Etkisi

Çizelge 4.1'de özetlenen verilere göre en yüksek ağır metal biyogiderimi BG11 besiyerinde yapılmıştır. BG11 besiyerinde 10.4 mg/L Cu(II) varlığında, *C. aponinum* %63.5 verimle giderim yapmıştır. Aynı tip besiyeri 13 mg/L Ni(II) içerdiğinde, siyanobakteri %54 oranında biyoremediasyon yapmıştır. Krom(VI) konsantrasyonunun 8.8 mg/L olduğu BG11 besiyerinde ise %23.5 ağır metal giderimi yapılmıştır. Denenen diğer besiyerlerinde daha yüksek verimle ağır metal giderimi yapılamamıştır. Giderim yüzdelерinin BG11 besiyerlerindeki benzer veya daha düşük olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.1 Farklı besiyeri içeriklerinin *C. aponinum* tarafından yapılan ağır metal biyoremediasyonuna etkisi (Biyokütle konsantrasyonu %20 (v/v); pH:7; T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 2 gün)

Besiyeri	BG11		BG11+TRIA		BG11+NaHCO ₃		BG11+TRIA+NaHCO ₃	
% Biyogiderim Ağır metal	C ₀ (mg/L)	%B	C ₀ (mg/L)	%B	C ₀ (mg/L)	%B	C ₀ (mg/L)	%B
Cu(II)	10.4	63.5±3.5	10.5	57.5 ±5.5	8.7	51.0 ±1.0	9.4	57.5±3.5
Ni(II)	13.0	54.0±3.0	10.6	53.5±1.5	9.4	34.5±2.5	13.0	43.5±7.5
Cr(VI)	8.8	23.5±7.5	8.6	21.5±7.5	9.5	17.0±5.0	8.5	18.5±4.5

Çalışmada, metal içermeyen 4 farklı besiyerine aşıl原因 *C. aponinum* [(%20 v/v)] siyanobakterisinin gelişimi çizelge 4.2’de özetlenmiştir. İki günlük inkübasyon süresinin sonunda en yüksek gelişme BG11 ortamında gerçekleşmiştir.

Çizelge 4.2 Metal içermeyen ortamda farklı besiyeri içeriklerinin *C. aponinum* gelişimine etkisi (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v); T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 2 gün)

Besiyeri	Gelişme (OD ₆₀₀)
BG11	1.3±0.06
BG11+TRIA	1.1±0.06
BG11+NaHCO ₃	1.0±0.05
BG11+TRIA+NaHCO ₃	0.9±0.05

Bu denemelerin sonucunda, *C. aponinum* en yüksek miktarda biyokütleyi BG11 besiyerinde üretmiş ve en yüksek kapasite ile Cu(II) ve Ni(II) ağır metallerini yine bu ortamda uzaklaştırmıştır. Bu nedenle çalışmaya en yüksek kapasite ile biyoremediasyonu yapılan metallerle [(Cu(II) ve Ni(II))] ve BG11 besiyerinde devam edilmiştir.

4.2 Başlangıç pH’ının Ağır Metal Biyoremediasyonuna Etkisi

Denemelerin bu aşamasında, pH’ın Cu(II) ve Ni(II) ağır metallerinin biyoremediasyonuna etkisini belirlemek amacıyla pH 6-9 aralığında değişen yaklaşık 10 mg/L metal içeren BG11 besiyerleri, 250 mL’lik erlenlerde 100 mL olacak şekilde hazırlanmıştır. İnkübasyon süresi sonunda ortamda kalan metal miktarı belirlenmiştir. Alınan sonuçlar Çizelge 4.3’te özetlenmiştir.

Çizelge 4.3 pH'ın *C. aponinum* ağır metal biyomediasyonuna etkisi (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v); T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 2 gün)

pH	Cu(II)		Ni(II)	
	C ₀ (mg/L)	% B	C ₀ (mg/L)	% B
6	10.8	47.0 ± 1.0	10.0	49.0 ± 3.0
7	10.1	57.0	11.1	55.0 ± 5.0
8	9.8	66.0 ± 1.0	12.6	61.0 ± 2.0
9	12.8	71.0	11.3	68.0 ± 2.0

Bakır(II) ağır metalini içeren ortamda, pH 6'da *C. aponinum*'un giderim kapasitesi %47.0 olarak bulunmuştur. Bununla birlikte aynı metali içeren besiyerinde pH 7'de %57.0, pH 8'de ise %66.0 verimle biyoremediasyon yapıldığı gözlemlenmiştir. Siyanobakteri, en yüksek Cu(II) giderimini % 71.0 ile pH 9'da gerçekleştirmiştir.

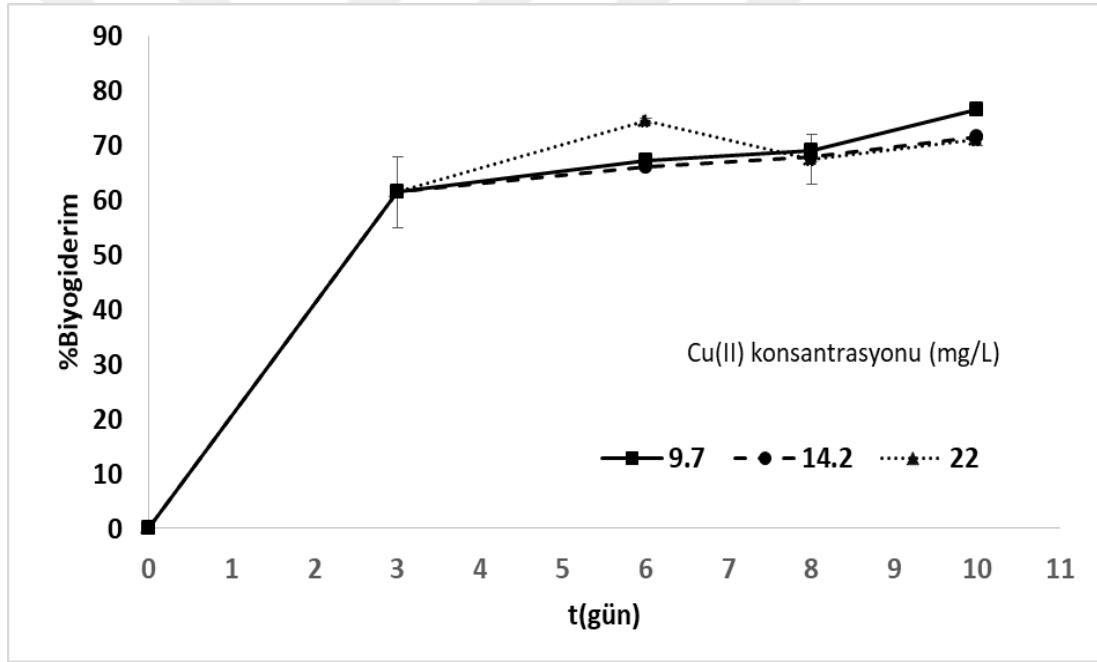
Nikel(II) metalini içeren BG11 besiyerinde, *C. aponinum*'un biyoremediasyon kapasitesi pH 6'da %49.0 iken pH 7'de %55.0 olarak bulunmuştur. Aynı metali içeren ortamda pH 8'de %61.0 verimle giderim gerçekleşmiştir. *C. aponinum*'un, Ni(II) içeren ortamda en yüksek giderim kapasitesi pH 9'da %68.0 olarak bulunmuştur. Deneylerin bu aşamasında siyanobakteri en yüksek biyoremediasyon kapasitesini pH 9.0'da gösterdiği için denemelere bu pH'ta devam edilmiştir.

4.3 Artan Ağır Metal Konsantrasyonlarının Cu(II) ve Ni(II) Biyoremediasyonuna Etkisi

Artan ağır metal konsantrasyonlarının *C. aponinum* tarafından yapılan biyogiderime etkisinin belirlenmesi amacıyla, Cu(II) ve Ni(II) kirleticileri artan konsantrasyonlarda, belirlenen optimum pH değerine ayarlanmış BG 11 besiyerlerine eklenmiştir.

4.3.1 *C. aponinum* ile yapılan Cu(II) biyoremediasyonu

Yapılan denemeler, 9.7 mg/L, 14.2 mg/L, ve 22 mg/L Cu(II) içeren BG11 besiyerlerinde (pH 9) gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.1’de özetlenen verilere göre, *C. aponinum*, 9.7 mg/L kirletici içeren ortamda inkübasyon süresinin ilk 3 gününde %61.6 verimle giderim yaparken on günün sonunda biyoremediasyon kapasitesi %76.6’ya yükselmiştir. Bakır(II) konsantrasyonu 14.2 mg/L olan BG11 besiyerinde giderim ilk 3 günün sonunda %61.5 iken, inkübasyon süresinin sonunda %71.5 biyogiderim bulunmuştur. Ortamda 22 mg/L Cu(II) olduğunda ise inkübasyon süresinin sonunda ise %71 olarak bulunmuştur.



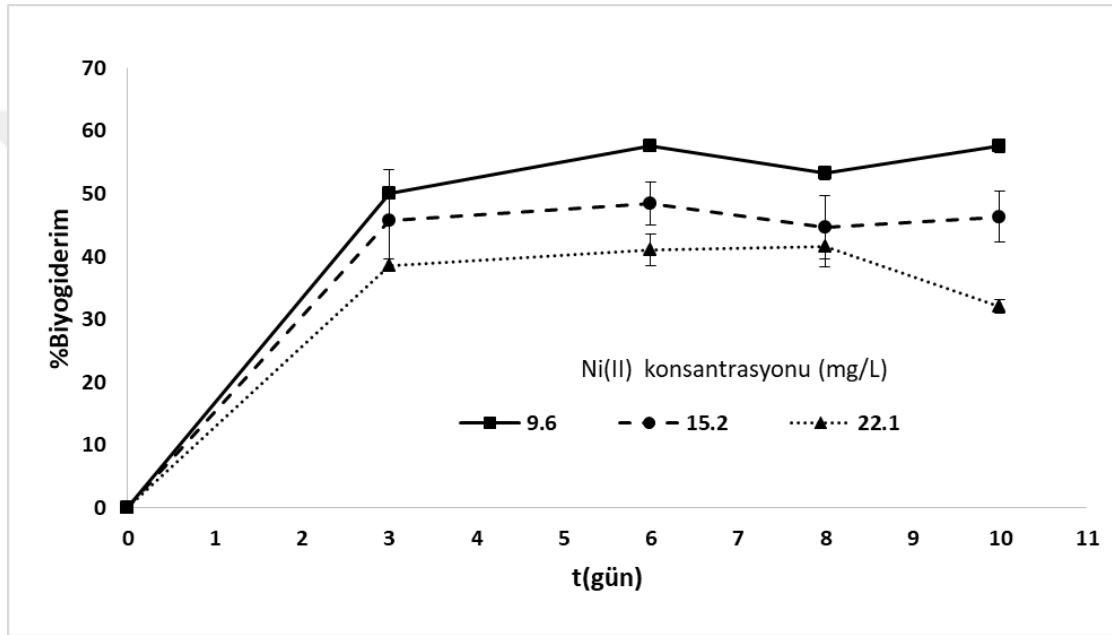
Şekil 4.1 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarının *C. aponinum* Cu(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi

(Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v) ; T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)

4.3.2 *C. aponinum* ile yapılan Ni (II) biyoremediasyonu

Başlangıç Ni(II) konsantrasyonlarının biyogiderime etkisini belirlemek için *C. aponinum* ile yapılan denemeler, 9.6 mg/L, 15.2 mg/L ve 22.1 mg/L Ni(II) bulunan, pH

9'a ayarlanmış BG11 besiyerinde gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.2'de özetlenen verilere göre, *C. aponinum*, 9.6 mg/L Ni(II) içeren ortamda, inkübasyonun ilk üç gününde %50, onuncu günün sonunda ise %57.5 biyogiderim kapasitesine ulaşmıştır. Nikel(II) konsantrasyonu 15.2 mg/L olan ortamda ise üç günlük inkübasyon süresi sonunda %45.6, onuncu günün sonunda %46.3 giderim bulunmuştur. Ortamdaki Ni(II) konsantrasyonu 22.1 mg/L olduğunda inkübasyon süresinin son gününde biyogiderim verimi %32 olmuştur.



Şekil 4.2 Başlangıç Ni(II) konsantrasyonlarının *C. aponinum* Ni(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi

(Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v) ; T: 25 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)

4.4 Artan Sıcaklığın ve Başlangıç Biyokütle Konsantrasyonlarının Biyoremediasyona Etkisi

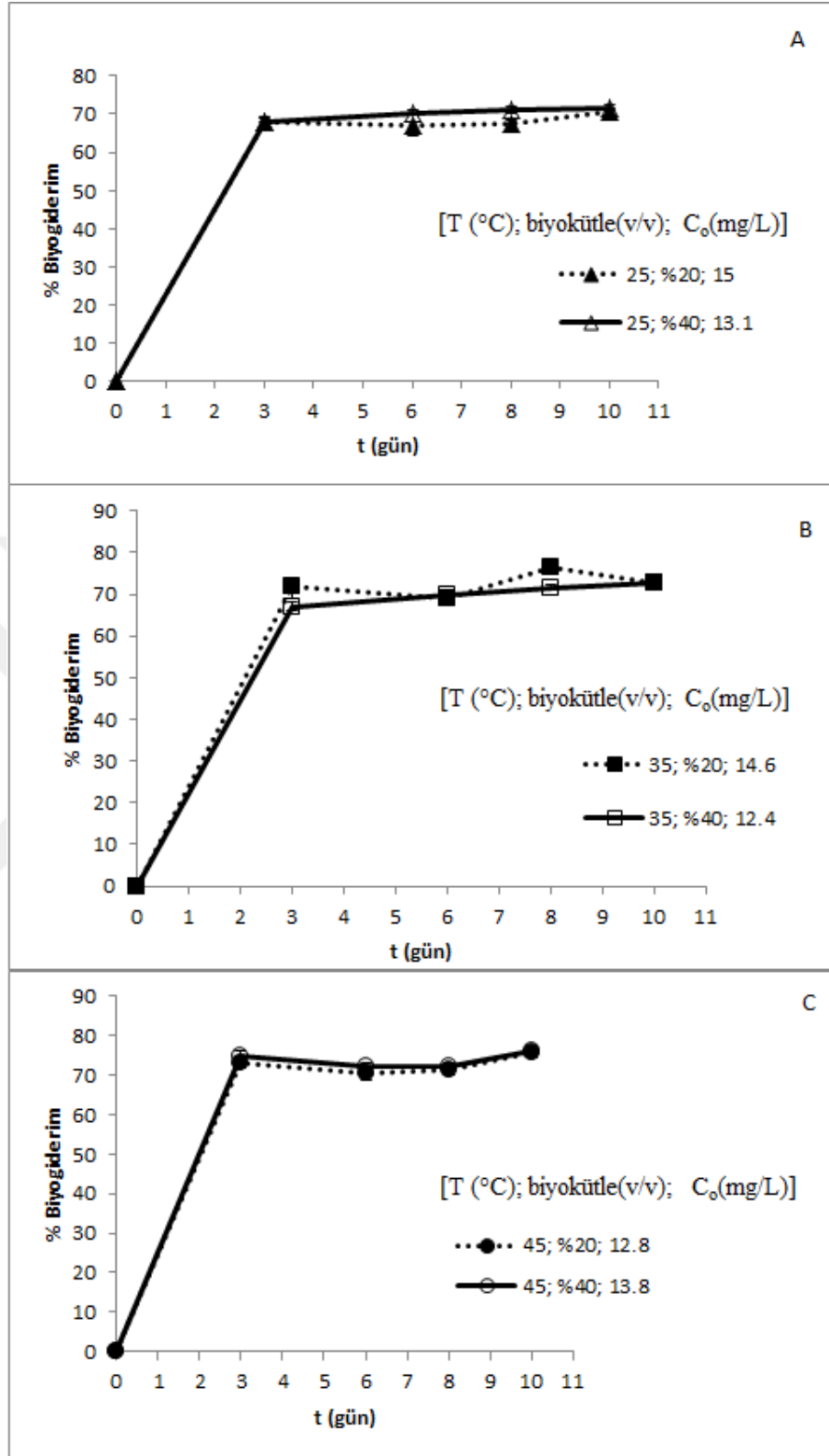
Artan sıcaklığın ve biyokütle konsantrasyonunun Cu(II) ve Ni(II) biyogiderimine etkisini belirlemek için *C. aponinum* ile farklı üç sıcaklık değerinde (25 °C, 35 °C, 45 °C), iki farklı biyokütle konsantrasyonunda [%20 (v/v) ve %40 (v/v)] ve yaklaşık 15 mg/L metal içeren ortamlarda deneyler yapılmıştır.

4.4.1 Artan biyokütle ve sıcaklıkların *C. aponinum* Cu (II) biyoremediasyonuna etkisi

Şekil 4.3a'da özetlenen verilere göre, ortam sıcaklığının 25 °C, besiyerinin %20 (v/v) biyokütle ve 15 mg/L Cu(II) içerdiği koşullarda, ağır metal, inkübasyon süresinin onuncu gününde %70.5 verimle ortamdan uzaklaştırılmıştır. Biyokütlenin %40 (v/v) olduğu, 13.1 mg/L Cu(II) bulunan aynı sıcaklıktaki ortamda inkübasyon süresinin sonunda %71.5 verimle biyogiderim gerçekleşmiştir.

Ortam sıcaklığı 35 °C'ye yükseltildiğinde, 14.6 mg/L Cu(II) ve %20 (v/v) biyokütle içeren BG11 besiyerinde, biyogiderim kapasitesi, inkübasyonun son gününde %72.6 verimle gerçekleşmiştir. Besiyerinde %40 (v/v) biyokütle olduğunda, 12.4 mg/L Cu(II) içeren aynı sıcaklıktaki ortamda biyogiderim inkübasyonun son gününde %72.9 bulunmuştur (Şekil 4.3b).

Ortam sıcaklığı 45 °C olduğunda, %20 (v/v) biyokütle içeren BG11 besiyerinde, 12.8 mg/L ağır metal konsantrasyonunda, inkübasyon süresinin son gününde verim %75.8 iken, 13.8 mg/L Cu(II) içeren %40 (v/v) biyokütle içeren aynı sıcaklıktaki besiyerinde %76.3 biyogiderim kapasitesine ulaşılmıştır (Şekil 4.3c).



Şekil 4.3 Artan sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonunun Cu(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi

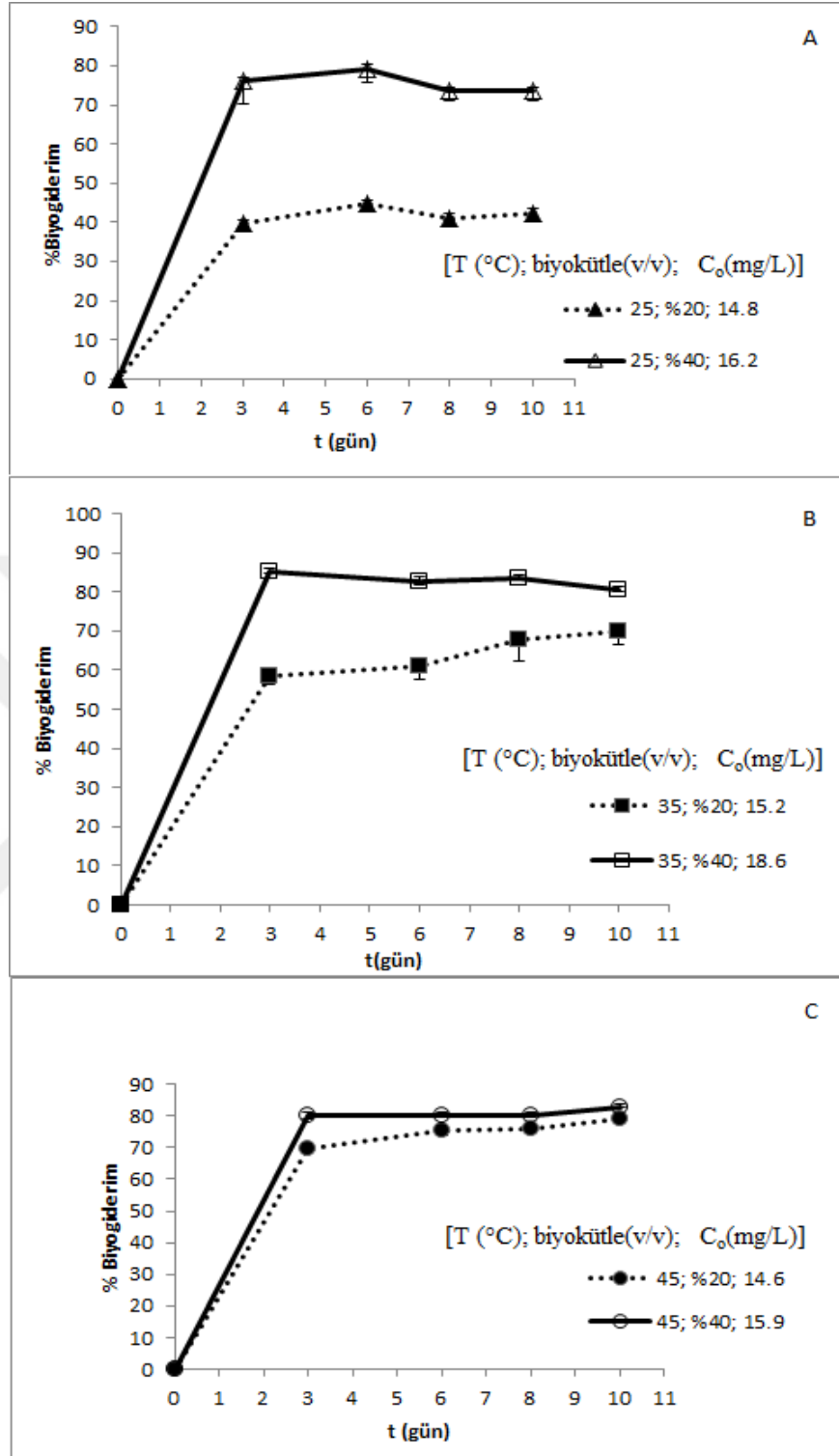
(a) T: 25 °C ; (b) T: 35 °C; (c) T: 45 °C (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v); %40 (v/v); Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)

4.4.2 Artan biyokütle ve sıcaklıkların C. aponinum Ni(II) biyoremediasyonuna etkisi

Şekil 4.4a'da özetlenen verilere göre, 25 °C'de 14.8 mg/L kirletici bulunan %20 (v/v) biyokütle içeren ortamda inkübasyonun son gününde biyogiderim kapasitesi %42.4; 16.2 mg/L kirletici varlığında, %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda ve aynı sıcaklıkta verim %73.5 olarak bulunmuştur.

Nikel(II) içeren BG11 besiyerinde ortam sıcaklığı 35 °C'ye yükseltildiğinde, 15.2 mg/L kirletici içeren %20 (v/v) biyokütle bulunan ortamda inkübasyon süresinin onuncu gününde biyogiderim verimi %70.1 olarak belirlenmiştir. Aynı sıcaklıkta, 18.6 mg/L Ni(II) içeren %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda ise inkübasyon süresinin onuncu gününde %80.5 biyogiderim elde edilmiştir (Şekil 4.4b).

En yüksek sıcaklık (45°C) derecesinde, %20 (v/v) biyokütle içeren, 14.6 mg/L kirletici bulunan BG11 besiyerinde inkübasyon süresi sonunda biyogiderim verimi %79.4 iken %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda, 15.9 mg/L Ni(II) içeren ortamda, aynı sıcaklıktaki besiyerinde biyogiderim %83 bulunmuştur (Şekil 4.4c).



Şekil 4.4 Artan sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonunun Ni(II) biyoremediasyonu üzerine etkisi

(a) T: 25 °C; (b) T: 35 °C; (c) T: 45 °C (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v); %40 (v/v); Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)

Çizelge 4.4'te, yaklaşık 15 mg/L ağır metal içeren besiyerinde, *C. aponinum*'un %20 (v/v) ve %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda ve artan sıcaklık derecelerindeki, maksimum spesifik ağır metal giderimleri (q_m) özetlenmiştir.

Sıcaklık 25 °C'ye ayarlandığında, 15 mg/L Cu(II) ve %20 (v/v) biyokütle içeren ortamda, q_m değeri 12.3 mg/g; biyokütle konsantrasyonu %40 (v/v)'a yükseltildiğinde, 13.1 mg/L Cu(II) içeren ortamda 5.3 mg/g bulunmuştur. Sıcaklığın 35 °C'ye yükseltilmesiyle 14.6 mg/L Cu(II) bulunan %20 (v/v) biyokütle konsantrasyonuna sahip BG11 besiyerinde maksimum spesifik kirletici giderimi 13.5 mg/g; %40(v/v) biyokütle içeren 12.4 mg/L Cu(II) bulunan ortamda ise 5.6 mg/g olarak bulunmuştur. En yüksek sıcaklık değeri olan 45 °C'de, 12.8 mg/L Cu(II) içeren ortamda q_m değeri 11.9 mg/g bulunmuştur. Biyokütle konsantrasyonu %40 (v/v)'a yükseltilmesiyle 13.8 mg/L Cu(II) içeren besiyerinde q_m değeri 6.1 mg/g elde edilmiştir.

Çizelge 4.4 *C. aponinum* maksimum spesifik Cu(II) giderimi (q_m) (pH: 9.0; Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v), %40 (v/v) ; T: 25 °C, 35 °C, 45 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)

%20 biyokütle (v/v)		
T (°C)	C_o (mg/L)	q_m (mg/g)
25	15.0	12.3 ± 0.4
35	14.6	13.5 ± 0.3
45	12.8	11.9 ± 0.01
%40 biyokütle (v/v)		
T (°C)	C_o (mg/L)	q_m (mg/g)
25	13.1	5.3 ± 0.2
35	12.4	5.6 ± 0.6
45	13.8	6.1 ± 0.2

Nikel(II) metali ile yapılan deneyler çizelge 4.5’de özetlenmiştir. Ortam sıcaklığı 25 °C, 14.8 mg/L kirletici ve %20 (v/v) biyokütleyle sahip ortamda, q_m değeri 6.9 mg/g olarak belirlenmiştir. Ortamdaki *C. aponinum* konsantrasyonu %40 (v/v) olduğunda, 16.2 mg/L Ni(II) bulunan ortamda maksimum spesifik kirletici giderimi 6.2 mg/g bulunmuştur. Sıcaklık 35 °C’ye ayarlandığında, %20 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda, 15.2 mg/L Ni(II) içeren ortamda 11.3 mg/g; %40 (v/v) biyokütle konsantrasyonunda, 18.6 mg/L Ni(II) kirleticisi bulunan ortamda ise 7.5 mg/g olarak bulunmuştur. Ortam sıcaklığı 45 °C’ye yükseldiğinde, 14.6 mg/L Ni(II) içeren %20(v/v) biyokütle bulunan ortamda q_m değeri 11.8 mg/g olarak bulunmuştur. Biyokütle konsantrasyonu iki katına çıkarıldığında 15.9 mg/L Ni(II) bulunan ortamda maksimum spesifik kirletici giderimi 8.2 mg/g olarak elde edilmiştir.

Çizelge 4.5 *C. aponinum* maksimum spesifik Ni(II) giderimi (q_m) (Biyokütle konsantrasyonu: %20 (v/v), %40 (v/v) ; pH: 9.0; T: 25 °C, 35 °C, 45 °C; Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)

%20 biyokütle (v/v)		
T (°C)	Co (mg/L)	q_m (mg/g)
25	14.8	6.9 ± 0.03
35	15.2	11.3 ± 0.03
45	14.6	11.8 ± 0.03
%40 biyokütle (v/v)		
T (°C)	Co (mg/L)	q_m (mg/g)
25	16.2	6.2 ± 0.05
35	18.6	7.5 ± 0.1
45	15.9	8.2 ± 0.21

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Gerçekleştirilen tez çalışmasında, termofil *C. aponinum* siyanobakterisinin farklı ortam koşullarındaki ağır metal giderimi ve gelişimi belirlenmiştir. Farklı ortamların *C. aponinum* gelişimine etkisini belirlemek amacıyla yapılan denemelerde, kullanılan ortamlarda en yüksek gelişmenin BG11 besiyerinde olduğu görülmüştür. Bununla birlikte, siyanobakteri en yüksek ağır metal giderimini yine BG11 besiyerinde gerçekleştirmiştir. Bu nedenle çalışmaya BG11 besiyeri ile devam edilmiştir. Cordeiro vd. (2017) *Microcystis* cinsine ait dört farklı siyanobakteriyle yaptıkları çalışmada, farklı besiyeri içeriklerinin siyanobakteri gelişmesine etkisini araştırmıştır. Aynı çalışmada, sodyum bikarbonat içermeyen ASM-1 besiyerinde, sodyum bikarbonat içeren besiyerine göre gelişmenin daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Yapılan tez çalışmasında da, BG11 besiyerine sodyum bikarbonat eklenmesiyle siyanobakteri gelişmesinde belirgin bir artış gözlenmemiştir.

C. aponinum'un, Cu(II) ve Ni(II) biyoremediasyonunu yaptığı en uygun pH'yı belirlemek için 6, 7, 8 ve 9 gibi farklı pH seviyelerinde yaklaşık 10 mg/L ağır metal içeren ortamda deneyler gerçekleştirilmiştir. *C. aponinum*, en yüksek Cu(II) biyoremediasyonunu, 12.8 mg/L Cu(II) varlığında, pH 9'da %71 verimle gerçekleştirmiştir. Nikel(II) ile yapılan denemelerde ise en yüksek biyogiderim, pH 9'da, 11.3 mg/L metal konsantrasyonunda, %68 olarak belirlenmiştir.

Literatürde yer alan çalışmalarda ağır metal biyoremediasyonunda kullanılan farklı siyanobakterilerin alkali pH'larda, yüksek kapasiteyle giderim yaptıkları bildirilmiştir. *Synechocystis* sp. PCC6803 siyanobakterisinin EPS üretimini ve bu polimerin As(III) giderimi üzerine yapılan çalışmada, 300 mg/L EPS ile pH 8.5'de, %52.8 As(III) giderimi yapıldığı belirtilmiştir (Naveed vd. 2020). Sen vd. (2017), *Limnococcus limneticus* ve *Leptolyngbya subtilis* siyanobakterilerinin konsorsiyum olarak kullanıldığı bir çalışmada, 15 mg/L Cr(VI) metalini pH 9'da ortamdan en yüksek verimle uzaklaştırdığını göstermişlerdir. Zinicovscaica vd. (2019), *Spirulina platensis* siyanobakterisi ile yaptıkları çalışmada, Ni(II) ve Cr(VI) ağır metallerinin ortamdan pH 9.5'de en yüksek verimle giderildiğini göstermişlerdir. Aynı zamanda bu çalışmada ağır

metallerin hidroksit formda olduğunu, metal gideriminin ancak hücre yüzeyinde mikro çökeltme yoluyla gerçekleşebileceğini belirtilmiştir.

Yee vd. (2004), siyanobakterilerin hücre yüzeyinde yer alan fonksiyonel gruplarının, farklı yüzey katmanları içeren karmaşık yapılar olduğunu ve her birinin farklı metalleri bağlama yeteneğine sahip olduğunu göstermişlerdir. Aynı çalışmada, ortamdaki pH artışı ile siyanobakteri yüzeyinde yer alan fonksiyonel gruplardan proton salınımının gerçekleştiği ve ağır metal giderimini arttırdığı gösterilmiştir.

Tamamlanan tez çalışmasında da, *C. aponinum* en yüksek metal giderimini pH 9'da gerçekleştirmiştir. Ortama uygulanan ağır metallerin en yüksek giderimini bu pH'da yapabilmesinin nedeni hücre yüzeyinde mikro çökeltme veya enerjiye bağlı taşıma sistemleri ile gerçekleştirilebileceği öngörülmüştür.

C. aponinum tarafından artan Cu(II) ve Ni(II) konsantrasyonunun biyoremediasyona etkisini araştırmak için 10, 15, 20 mg/L ağır metal içeren ayrı ayrı ortamlarda deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu denemelerin sonucunda ağır metal konsantrasyonu arttıkça biyoremediasyon veriminin bir miktar düştüğü görülmüştür. Nikel içeren ortamda kirletici miktarının artmasıyla giderimin, bakır içeren ortama göre daha belirgin şekilde azaldığı tespit edilmiştir.

Sen vd. (2017), iki farklı siyanobakteriyle yaptıkları çalışmada ağır metal konsantrasyonu arttıkça kirletici gideriminin azaldığını göstermişlerdir. Micheletti vd. (2008), Cu(II), Cr(VI) ve Ni(II) ağır metallerini EPS üreten *Cyanothece* 16Som 2 siyanobakterisi ile giderilebileceğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada, test edilen siyanobakterilerin Ni(II) metalini ancak düşük konsantrasyonlarda uzaklaştırabildiği bulunmuştur. Fawzy (2016), *Merismopedia tenuissima* siyanobakterisinin Cu(II) ve Cd(II) giderim kapasitesini araştırmıştır. Yaptığı çalışmada 1.2 mg/L Cu(II) içeren ortamda %52 verimle metal ortamdan uzaklaştırılmıştır. Aynı çalışmada, ağır metal konsantrasyonunun artmasıyla, giderim kapasitesinin azaldığı tespit edilmiştir. Gerçekleştirilen tez çalışmasında da Ni(II) içeren ortamlarda, Ni(II) konsantrasyonu arttıkça ağır metal biyoremediasyonu azalmıştır.

Bununla birlikte, yapılan tez çalışmasında, Cu(II) konsantrasyonundaki artışla, Cu(II) biyoremediasyon kapasitesinde hafif bir düşüş olmuştur. Bakır(II) içeren ortamlarda siyanobakteriyel gelişim, artan metal konsantrasyonundan çok fazla etkilenmeyerek benzer değerlerde bulunmuştur. Daha önce yapılan bir araştırmaya göre, metallerin biyoremediasyonunda kullanılan biyosorbentlerin fonksiyonel gruplarına bağlandıkları ve belirli bir doyma kapasitesinin olduğu, metalin belirli bir konsantrasyonundan sonra giderim kapasitesinin doygun hale geldiği belirtilmiştir (Kumar ve Oommen 2012). Gerçekleştiren tez çalışmasında da, Cu(II) içeren ortamlarda metalin bağlanacağı fonksiyonel grup sayısı, ortamdaki tüm başlangıç ağır metal konsantrasyonlarında gelişimin birbirine yakın değerlerde bulunması nedeniyle benzer miktarda kalmıştır. Sonuç olarak metal konsantrasyonunun artmasıyla birlikte siyanobakterinin, Cu(II) giderim kapasitesi bir miktar azalmıştır.

Farklı sıcaklık ve biyokütle konsantrasyonunun *C. aponinum* ile Cu(II) ve Ni(II) biyoremediasyonu üzerindeki etkisini araştırmak için üç farklı sıcaklık (25 °C, 35 °C ve 45 °C) ve iki farklı biyokütle konsantrasyonu [%20 (v/v) %40 (v/v), yaklaşık 15 mg/L kirletici içeren ortamda] kullanılmıştır. Siyanobakteri, denenen tüm sıcaklık değerlerini tolere ederek biyoremediasyon gerçekleştirmiştir. *C. aponinum* en yüksek Cu(II) giderimini %40 (v/v) biyokütle ve 13.8 mg/L Cu(II) varlığında, 45 °C'de %76.3 kapasiteyle gerçekleştirmiştir.

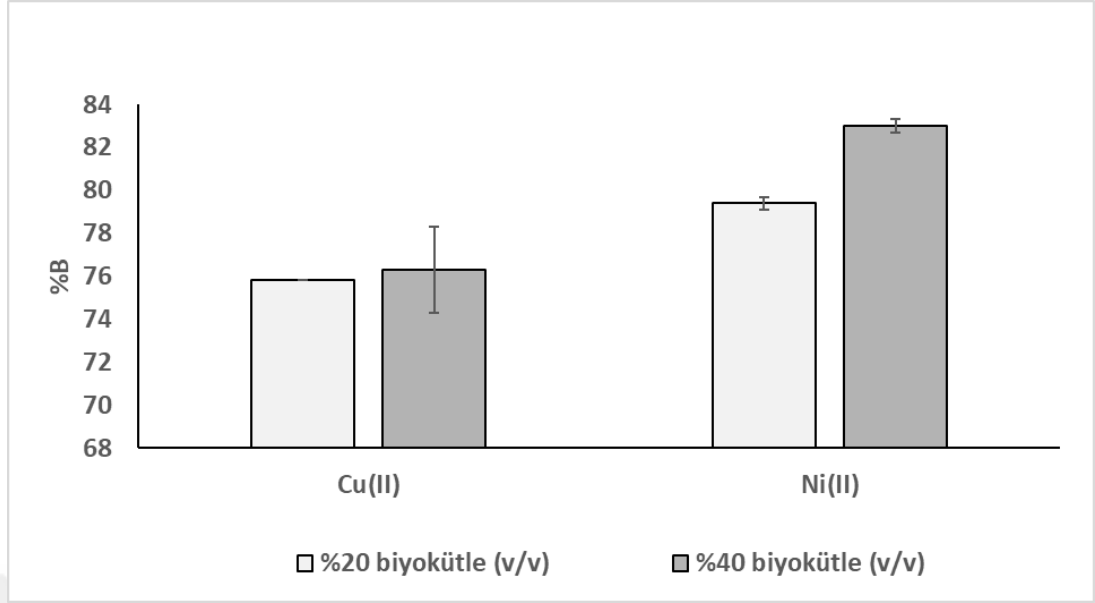
C. aponinum için optimum büyüme sıcaklığının kirletici içermeyen ortamlarda 35-40 °C olduğu daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir (Gris vd., 2017; Meng vd., 2018). Yapılan tez çalışmasında, ortam sıcaklığının yükselmesi, siyanobakteri gelişimini olumlu yönde etkilemiş ve böylece her iki metalin de daha yüksek verimle biyoremediasyonu sağlanmıştır. Siyanobakterilerin, toksik ağır metalleri bağlayabilen metallothionein adı verilen sistein açısından zengin küçük proteinleri sentezlediği bilinmektedir (Yadav, 2021). Çalışmamızda *C. aponinum* 'un 45 °C'de, Cu(II) ve Ni(II) metallerini bulunan ortamlarda, bu tip proteinleri daha fazla sentezleyerek ağır metal giderimini bu nedenle daha etkin yapabileceği sonucuna varılmıştır.

Nikel(II) içeren ortamda, sıcaklığın 25 °C'den 45 °C'ye artmasıyla biyoremediasyon olumlu yönde etkilenmiştir. Biyokütle konsantrasyonunun da %40 (v/v)'a artırılmasıyla, biyoremediasyon kapasitesi 15.9 mg/L Ni(II) varlığında %83'e yükselmiştir.

Bakır(II) ve Ni(II)'nin biyogiderimleri 45 °C'de karşılaştırılığında elde edilen sonuçlara göre, test edilen siyanobakterinin Ni(II) ağır metalini Cu(II) ağır metale göre daha yüksek verimle ortamdan uzaklaştırdığı görülmüştür (Şekil 5.1).

Cheraghpour vd., (2020) *Microcystis aeruginosa* ile 10 mg/L kadmiyum içeren ortamda yaptıkları çalışmada, biyokütle miktarının artırılmasıyla birlikte, giderimin arttığının fakat daha fazla biyokütle ile yapılan denemelerde, ağır metal gideriminin belli bir biyokütle konsantrasyonundan sonra sabit kaldığını belirtmişlerdir. Daha önceki çalışmalarda, alglerin veya siyanobakterilerin biyokütlesi arttıkça farklı kirleticilerin gideriminin arttığı gösterilmiştir (Brahmbhatt vd.,2016; Chia vd., 2014). Gerçekleştirilen tez çalışmasında da Ni(II) içeren ortamlarda biyokütle konsantrasyonunun artırılmasıyla kirletici gideriminin belirgin bir şekilde arttığı belirlenmiştir.

Zinicovscaia vd., (2018) *Spirulina plantensis* siyanobakterisi ile yaptıkları biyosorpsiyon çalışmasında, biyokütlenin altı kat artırılmasıyla çinko gideriminin aynı oranda artmadığını, verimin %61'den %83'e yükseldiğini göstermişlerdir. Aynı çalışmada biyokütle miktarının 40 g/L biyokütleden 60 g/L'ye çıkmasıyla giderim kapasitesinin sadece %3 arttığını gözlemlemişlerdir (Zinicovscaia vd., 2018). Gerçekleştirilen tez çalışmasında, benzer bir etki, Cu(II) giderim denemelerinde gözlenmiştir.



Şekil 5.1 *C. aponinum* Cu(II) ve Ni(II) biyoremediasyonunun 45 °C’de karşılaştırılması (pH 9; Biyokütle konsantrasyonu: %40 (v/v); Işık şiddeti: 2400 lux; İnkübasyon süresi: 10 gün)

Yaklaşık 15 mg/L metal içeren BG11 besiyerinde, *C. aponinum* için Cu(II) ve Ni(II) metallerinin q_m değerleri karşılaştırıldığında, biyokütle ve sıcaklık artışı ile her iki maksimum spesifik ağır metal uzaklaştırma değerleri de artmıştır. Bu sonuç, Cu(II) ve Ni(II) kirleticilerine ayrı ayrı maruz kalan *C. aponinum*’un siyanobakteriyel büyüme kapasitesiyle ilgilidir. Maksimum spesifik Ni(II) ve Cu(II) giderim kapasitesi, %40 (v/v) biyokütle içeren örneklerde %20 (v/v) biyokütle olan örneklerle göre her iki metalde de daha düşük bulunmuştur. Biyokütlenin iki katına çıkmasıyla, gram biyokütle başına düşen Ni(II) ve Cu(II) giderim kapasitesinin azaldığı görülmüştür.

Mevcut çalışmada kullanılan *C. aponinum*, önceki çalışmalarda kullanılan siyanobakterilere göre daha yüksek sıcaklık koşullarına dayanıklı olduğu için endüstriyel ölçekte kullanım kapasitesine sahip olduğu düşünülmektedir. *C. aponinum*, biyolojik arıtım sistemlerinde kullanılabilecek etkin biyoremediasyon kabiliyetine sahip

KAYNAKLAR

- Asha LP, Sandeep RS. 2013. Review on bioremediation-potential tool for removing environmental pollution. *International Journal of Basic and Applied Chemical Sciences* 3:21-33.
- Balaji S., Kalaivani T., Rajasekaran C., Shalini M., Siva R., Singh R.. K., Akthar M. A., 2014. *Arthrospira (Spirulina)* Species as Bioadsorbents for Lead, Chromium, and Cadmium – a Comparative Study, *Clean – Soil, Air, Water*, 42 (12), 1790–1797.
- Brahmbhatt, N.H., Jasrai, R.T. (2016) The role of algae in bioremediation of textile effluent. *Int. J. Eng. Res. Gen. Sci.* **4**, 443-453.
- Brinza L, Dring MJ, Gavrilescu M (2007) Marine micro and macro algal species as biosorbents for heavy metals. *Environ Eng Manag J* 6:237–251.
- Boyanov, M. I., Kelly, S. D., Kemner, K. M., Bunker, B. A., Fein, J. B., & Fowle, D. A. (2003). Adsorption of cadmium to *Bacillus subtilis* bacterial cell walls: a pH-dependent X-ray absorption fine structure spectroscopy study. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 67(18), 3299-3311.
- Chandra, R., & Kumar, V. (2015). Biotransformation and biodegradation of organophosphates and organohalides. *Environmental waste management*, 475-524.
- Cheraghpour, J., Etemadifar, Z., Afsharzadeh, S. and Bahador, N. (2020) Assessment of bioremediation potential of *Microcystis aeruginosa* for removal of cadmium and lead ions from aqueous matrices. *Iran. J. Fish. Sci.* **19**(4), 1994-2009.
- Chia, M.A., Odoh, O.A., Ladan Z. (2014) The indigo blue dye decolorization potential of immobilized *Scenedesmus quadricauda*. *Water, Air, Soil Poll.* **225**, 1920.
- Cordeiro, R. S., Vaz, I. C., Magalhaes, S., & Barbosa, F. A. (2017). Effects of nutritional conditions on lipid production by cyanobacteria. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89, 2021-2031.
- Cossich ES, Tavares CRG, Ravagnani TMK (2002) Biosorption of chromium (III) by sargassum sp. *Biomass. Electron J Biotechnol* 5:133–14
- Costa, A. C. A. D., & Duta, F. P. (2001). Bioaccumulation of copper, zinc, cadmium and lead by *Bacillus* sp., *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus* and *Bacillus subtilis*. *Brazilian Journal of Microbiology*, 32, 1-5.
- Çağlarırnak N, Hepçimen Z.A, Ağır Metal Toprak Kirliliğinin Gıda Zinciri ve İnsan Sağlığına Etkisi, *Akademik Gıda* 8 (2) (2010) 31-35.
- De Philippis, R., Paperi, R., Sili, C. 2007. Heavy metal sorption by released polysaccharides and whole cultures of two exopolysaccharide-producing cyanobacteria, *Biodegradation*, 18, 181–187.
- Dixit S., Singh D. P., 2014. An evaluation of phycoremediation potential of cyanobacterium *Nostoc muscorum*: characterization of heavy metal removal efficiency, *Journal of Applied Phycology*, 26, 1331–1342.

- Elleuche, S., Schroeder, C., Sahm, K., & Antranikian, G. (2014). Extremozymes—biocatalysts with unique properties from extremophilic microorganisms. *Current opinion in biotechnology*, 29, 116-123.
- Elleuche S., Schäfers C., Blank S., Schröder C., Antranikian G., Exploration of extremophiles for high temperature biotechnological processes, *Curr. Opin. Microbiol.*, 25 (2015), pp. 113-119.
- Fazal T., Mushtaq A., Rehman F., Ullah Khan A., Rashid N., Farooq W., Rehman M.S.U., Xu J., Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, 82 (2018), pp. 3107-3126.
- Fawzy, M. A. (2016). Phycoremediation and adsorption isotherms of cadmium and copper ions by *Merismopedia tenuissima* and their effect on growth and metabolism. *Environmental toxicology and pharmacology*, 46, 116-121.
- Fernandez, L.G. and Olalla, H.Y. 2000. Toxicity and bioaccumulation of lead and cadmium in marine protozoan communities. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 47: 266-276.
- Gamakaranage, C.S.S.K., et al. (2011) Complications and Management of Acute Copper Sulphate Poisoning; A Case Discussion. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology*, 6, 34. <http://dx.doi.org/10.1186/1745-6673-6-34>
- Glick BR (2010) Using soil bacteria to facilitate phytoremediation. *Biotechnol Adv* 28:367–37.
- Gris, B., Sforza, E., Morosinotto, T., Bertucco, A., & La Rocca, N. (2017). Influence of light and temperature on growth and high-value molecules productivity from *Cyanobacterium aponinum*. *Journal of Applied Phycology*, 29(4), 1781-1790.
- Gupta, G. N., Srivastava, S., Khare, S. K., & Prakash, V. (2014). Extremophiles: an overview of microorganism from extreme environment. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 7(2), 371-380.
- Gupta, P., & Diwan, B. (2017). Bacterial exopolysaccharide mediated heavy metal removal: a review on biosynthesis, mechanism and remediation strategies. *Biotechnology Reports*, 13, 58-71.
- Hazarika J., Pakshirajan K., Sinharoy A., Syiem M. B., 2014. Bioremoval of Cu(II), Zn(II), Pb(II) and Cd(II) by *Nostoc muscorum* isolated from a coal mining site., *J Appl Phycol.*, DOI:10.1007/s10811-014-0475-3.
- Heidari A., Atigh Z. B. Q., Sepehr A., Bahreini M., Mahbub K.R., 2020, Bioremediation of Heavy Metal Contaminated Soils Originated from Iron Ore Mine by Bio-augmentation with Native Cyanobacteria, *Iranian (Iranica) Journal of Energy and Environment* 11(2), 89-96.
- Hussein, H., Ibrahim, S. F., Kandeel, K., & Moawad, H. (2004). Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas* sp. *Electronic journal of Biotechnology*, 7(1), 30-37.
- Idi, A., Nor, M. H. M., Wahab, M. F. A., Ibrahim, Z. 2014. Photosynthetic bacteria: an eco-friendly and cheap tool for bioremediation. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, DOI: 10.1007/s11157-014-9355-1.
- Jacob J.M., Karthik C., Saratale R.G., S.S., 2018. Biological approaches to tackle heavy metal pollution: A survey of literature, *Journal of Environmental Management* 217, 56-70.

- Kasim, W. A. (2005). The correlation between physiological and structural alterations induced by copper and cadmium stress in broad beans (*Vicia faba* L.). *Egyptian Journal of Biology*, 7.
- Koga, Y. (2012). Thermal adaptation of the archaeal and bacterial lipid membranes. *Archaea*, 2012.
- Kumar, V., Pandita, S., Sidhu, G. P. S., Sharma, A., Khanna, K., Kaur, P., ... & Setia, R. (2021). Copper bioavailability, uptake, toxicity and tolerance in plants: A comprehensive review. *Chemosphere*, 262, 127810.
- Kumar, J. N., & Oommen, C. (2012). Removal of heavy metals by biosorption using freshwater alga *Spirogyra hyalina*. *Journal of environmental biology*, 33(1), 27.
- Luo XJ, Liu J, Luo Y, Zhang XL, Wu JP, Lin Z et al (2009a) Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in free-range domestic fowl from an e-waste recycling site in South China: levels, profile and human dietary exposure. *Environ Int* 35:253–258.
- Luo XJ, Zhang XL, Liu J, Wu JP, Luo Y, Chen SJ et al (2009b) Persistent halogenated compounds in waterbirds from an e-waste recycling region in South China. *Environ Sci Technol* 43: 306–311
- Malik A (2004) Metal bioremediation through growing cells. *Environ Int* 30:261–278
- Martelli, G., Folli, C., Visai, L., Daglia, M., & Ferrari, D. (2014). Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* for food industry applications. *Process Biochemistry*, 49(1), 154-159.
- Meng, F., Cui, H., Wang, Y., & Li, X. (2018). Responses of a new isolated Cyanobacterium aponinum strain to temperature, pH, CO₂ and light quality. *Journal of Applied Phycology*, 30(3), 1525-1532.
- Mishra, A., & Malik, A. (2013). Recent advances in microbial metal bioaccumulation. *Critical reviews in environmental science and technology*, 43(11), 1162-1222.
- Naveed S., Li C., Zhang C., Zhang J., Ge Y., 2020. Sorption and transformation of arsenic by extracellular polymeric substances extracted from *Synechocystis* sp. PCC6803. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 206, doi:org/10.1016/j.ecoenv.2020.111200.
- Ogoyi, D.O., Mwita, C.J., Nguu, E.K. and Shiundu, P.M. 2011. Determination of heavy metal content in water, sediment and microalgae from Lake Victoria, East Africa. *The Open Environmental Engineering Journal*, 4: 156-161.
- Patel, A., Matsakas, L., Rova, U., & Christakopoulos, P. (2019). A perspective on biotechnological applications of thermophilic microalgae and cyanobacteria. *Bioresource technology*, 278, 424-434.
- Piechula, S., Waleron, K., Świątek, W., Biedrzycka, I., & Podhajska, A. J. (2001). Mesophilic cyanobacteria producing thermophilic restriction endonucleases. *FEMS microbiology letters*, 198(2), 135-140.
- Raddadi, N., Cherif, A., Daffonchio, D., Neifar, M., & Fava, F. (2015). Biotechnological applications of extremophiles, extremozymes and extremolytes. *Applied microbiology and biotechnology*, 99(19), 7907-7913.
- Rippka, R. 1988. Isolation and purification of Cyanobacteria. *MethEnzymol.*, 167, 3–27.

- Rivasseau, C., Farhi, E., Atteia, A., Couté, A., Gromova, M., Saint Cyr, D. D. G., ... & Bligny, R. (2013). An extremely radioresistant green eukaryote for radionuclide bio-decontamination in the nuclear industry. *Energy & Environmental Science*, 6(4), 1230-1239.
- Roy A. S., Hazarika J., Manikandan N.A., Pakshirajan K., Syiem M.B., 2015. Heavy Metal Removal from Multicomponent System by the Cyanobacterium *Nostoc muscorum*: Kinetics and Interaction Study, *Appl Biochem Biotechnol* 175, 3863–3874.
- Rzymiski P., Poniedziałek B., Niedzielski P., Tabaczewski P., Wiktorowicz K., 2013. Cadmium and lead toxicity and bioaccumulation in *Microcystis aeruginosa*, *Front. Environ. Sci. Eng.*, 8(3), 427–432.
- Sarada, R. M. G. P., Pillai, M. G., & Ravishankar, G. A. (1999). Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process biochemistry*, 34(8), 795-801.
- Sen S., Dutta S., Guhathakurata S., Chakrabarty J., Nandi S., Dutta A., 2017. Removal Of Cr(VI) Using A Cyanobacterial Consortium And Assessment Of Biofuel Production. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 119, 211-224.
- Snell, F.D., Snell, C.T. (third ed.), (1959). *Colorimetric Methods of Analysis 2*, Van Nostrand, Canada.
- Spain, A., & Alm, E. (2003). Implications of microbial heavy metal tolerance in the environment.
- Taştan B.E., Duygu E., Dönmez G., 2012a. Boron bio-removal by a newly isolated *Chlorella* sp. and its stimulation by growth stimulators, *Water Research* 46, 167-175.
- Taştan B.E., Duygu E., Atakol O., Dönmez G., 2012b. SO₂ and NO₂ tolerance of microalgae with the help of some growth stimulators, *Energy Conversion and Management* 64, 28–34.
- Tonietto, A. E., Lombardi, A. T., Vieira, A. H. V., Parrish, C. C., Choueri. R. B. 2014. *Cylindrospermopsis raciborskii* (Cyanobacteria) exudates: Chemical characterization and complexation capacity for Cu, Zn, Cd and Pb, *Water Research*, 49, 381-390.
- Ullah, A., Heng, S., Munis, M. F. H., Fahad, S., & Yang, X. (2015). Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review. *Environmental and Experimental Botany*, 117, 28-40.
- Urbietta M.S., Donati E.R., Chan K.G., Shahar S., Sin L.L., Goh K.M., Thermophiles in the genomic era: Biodiversity, science, and applications, *Biotechnol. Adv.*, 33 (2015), pp. 633-647.
- Vijayaraghavan, K., & Yun, Y. S. (2008). Bacterial biosorbents and biosorption. *Biotechnology advances*, 26(3), 266-291.
- Yadav, A. P. S., Dwivedi, V., Kumar, S., Kushwaha, A., Goswami, L., & Reddy, B. S. (2021). Cyanobacterial extracellular polymeric substances for heavy metal removal: A mini review. *Journal of Composites Science*, 5(1), 1.

- Yee, N., Benning, L. G., Phoenix, V. R., & Ferris, F. G. (2004). Characterization of metal–cyanobacteria sorption reactions: A combined macroscopic and infrared spectroscopic investigation. *Environmental science & technology*, 38(3), 775-782.
- Zinicovscaia, I., Safonov, A., Ostalkevich, S., Gundorina, S., Nekhoroshkov, P., & Grozdov, D. (2019). Metal ions removal from different type of industrial effluents using *Spirulina platensis* biomass. *International journal of phytoremediation*, 21(14), 1442-1448.
- Zinicovscaia, I., Yushin, N., Shvetsova, M., & Frontasyeva, M. (2018). Zinc removal from model solution and wastewater by *Arthrospira* (*Spirulina*) *Platensis* biomass. *International journal of phytoremediation*, 20(9), 901-908.
- Wang, X. J., Zhang, J. Y., Shahid, S., Yu, L., Xie, C., Wang, B. X., & Zhang, X. (2017). Domestic water demand forecasting in the Yellow River basin under changing environment. *International Journal of Climate Change Strategies and Management*.
- Wu JP, Luo XJ, Zhang Y, Luo Y, Chen SJ, Mai BX et al (2008) Bioaccumulation of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) in wild aquatic species from an electronic waste (e-waste) recycling site in South China. *Environ Int* 34:1109–1113.

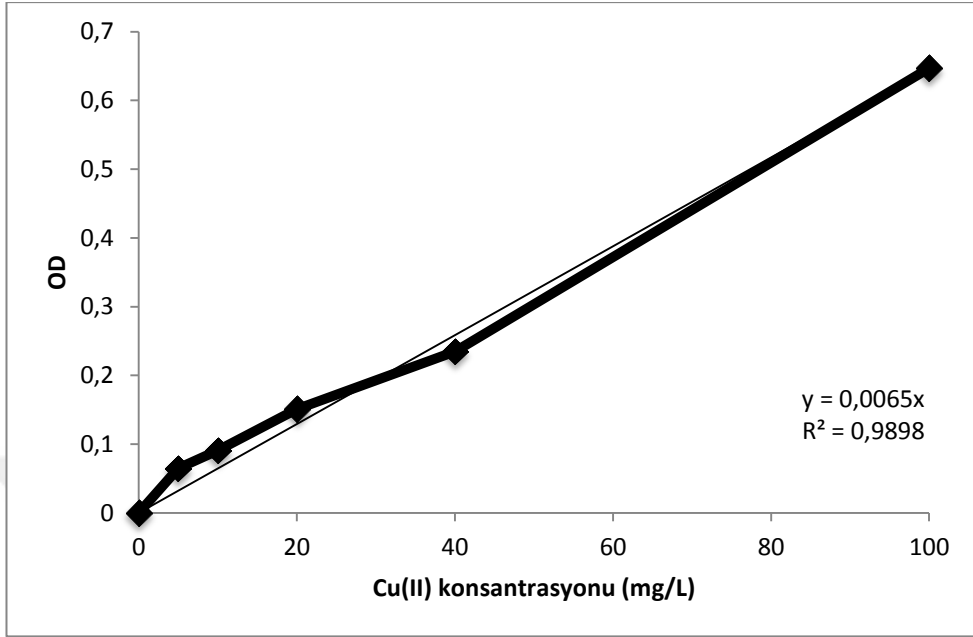
EKLER

EK 1 BAKIR(II) standardı

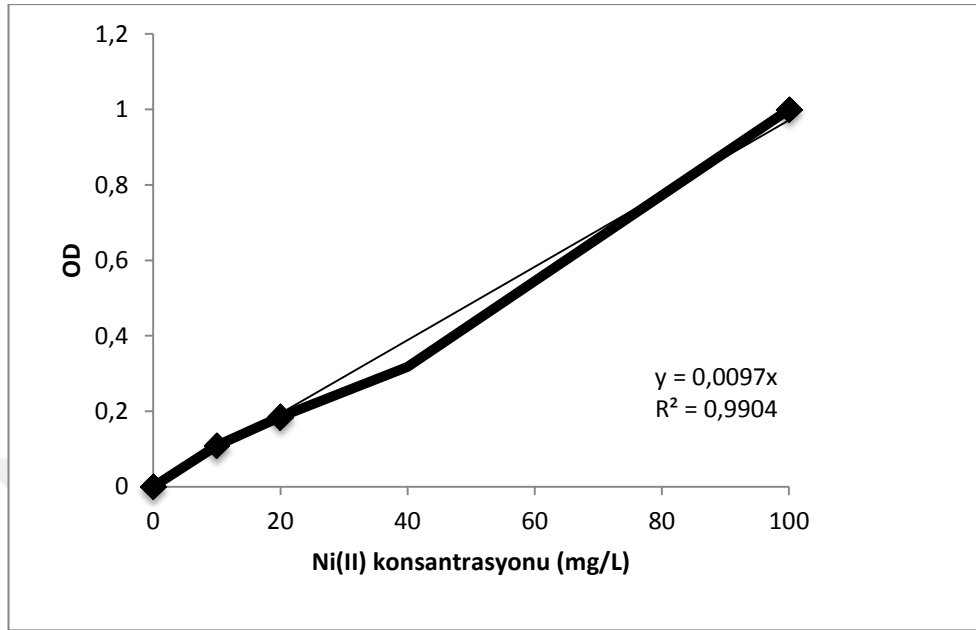
EK 2 NİKEL(II) standardı

EK 3 KROM(VI) standardı

EK 1 BAKIR(II) standardı



EK 2 NİKEL(II) standardı



EK 3 KROM(VI) standardı

