

**ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

DOKTORA TEZİ

**AĞIR METAL İÇEREN ATIK SULARDAN İZOLE EDİLECEK
BAKTERİLER İLE Cr (VI) BİYOREMEDİASYONU**

Zeynep ERGÜL ÜLGER

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ANKARA
2016**

Her hakkı saklıdır

ETİK

Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez içindeki bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, bilgilerin üretilmesi aşamasında bilimsel etiğe uygun davrandığımı, yararlandığım bütün kaynakları atıf yaparak belirttiğimi beyan ederim.

05. 02. 2016

Zeynep ERGÜL ÜLGER

ÖZET

Doktora Tezi

AĞIR METAL İÇEREN ATIK SULARDAN İZOLE EDİLECEK BAKTERİLER İLE Cr (VI) BİYOREMEDİASYONU

Zeynep ERGÜL ÜLGER

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sibel ATASAGUN

Krom giderimi için genelde kullanılan yöntemler doğal ortamların temizlenmesi için uygun değildir ve bu alanlardaki kirlenici etmenlerin giderimi için tasarlanmış özel yöntemlere günümüzde yüksek bir ihtiyaç bulunmaktadır. Bu tez çalışmasında, ağır metal içeren atık sulardan Cr (VI)' ya dayanıklı bakterilerin izole edilebilmesi ve heksavalen kromu, canlılar için daha az zararlı olan trivalen kroma indirebilen bakteri türlerinin araştırılması konu alınmaktadır. Krom ile kontamine alanlardan izole edilmiş 19 bakteri suşları incelendiğinde, en iyi biyoremediasyon sonucu veren *Morganella morganii* suşunun hem asit ile muamele edildikten sonra, hem de canlı haldeyken doğal ortama eşdeğer sularda krom giderme kapasitesi incelenmiştir. Asitle muamele edilmiş izolenin 3 saat içerisinde ortamla denge haline geldiği ve 24.30 ± 1.67 mg krom/g bakteri gibi bir spesifik giderim kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir, canlı izole ise 20 mg/L kromun %90' ından daha fazlasını 72 saat içerisinde almıştır, bu da 19.36 ± 1.89 mg krom/g bakteri gibi bir giderim kapasitesine eşdeğerdir. Asitle muamele edilmiş bakteri biyokütlesinin krom giderimi en yakın olarak Langmuir ve Toth izotermelerini takip etmiş, FT-IR sonuçları ise hidroksil gruplarının ve hücresel polisakkaritlerin krom gideriminde rol oynayabileceğini göstermiştir. Elde ettiğimiz sonuçlar, *Morganella morganii* STB5 suşunun kromla kirlenmiş doğal ortamları temizlemekte gerek canlı halde, gerekse de asitle muamele edilmiş biyokütle olarak kullanılabilirliğini göstermektedir.

Şubat 2016, 69 sayfa

Anahtar Kelimeler: Cr (VI), ağır metal biyoremediasyonu, *Morganella morganii*, Langmuir ve Freundlich izotermi, FT-IR

ABSTRACT

Ph.D. Thesis

BIOREMEDIATION OF Cr (VI) BY BACTERIAL ISOLATES FROM HEAVY METAL CONTAMINATED WASTEWATERS

Zeynep ERGÜL ÜLGER

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

Supervisor: Prof. Dr. Sibel ATASAGUN

Conventional methods of chromium removal are often insufficient for the remediation of chromium-contaminated natural environments, necessitating the development of alternative strategies. In this thesis, we report the isolation of Cr (VI) resistant bacteria from heavy-metal contaminated waste-water and screening of these bacteria for their ability to reduce hexavalent chromium to its less toxic and less soluble trivalent form. Of the 19 different isolated bacterial strains, *Morganella morganii* showed the best bioremediation properties. We investigated both the live and acid-treated forms of *M. morganii* for its ability to bioremediate chromium from water equivalent to natural environment. The isolate achieved equilibrium within 3 h and displayed a specific uptake rate of 24.30 ± 1.67 mg Cr (VI)/g biomass following HCl treatment. Without acid treatment, a reduction of over 90% was recorded within 72 h for an initial Cr (VI) concentration 20 mg/L, corresponding to a Cr (VI) removal capacity of 19.36 ± 1.89 mg/g. Absorption data of acid-treated STB5 biomass most closely followed the Toth and Langmuir models. FTIR results indicate that hydroxyl groups and extracellular or cell membrane polysaccharides may be potential adsorption sites for hexavalent chromium. Our results suggest that the isolate may be used in situ for treatment of polluted freshwater environments.

February 2016, 69 pages

Key Words: Cr(VI), heavy metal bioremediation, *Morganella morganii*, Langmuir and Freundlich isotherms, FT-IR

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca paylaştığı bilgi ve deneyimlerini tez çalışmam süresince desteğini esirgemeyen, tezimi yürütebilmem için gerekli laboratuvar ortamı sağlayan, Prof. Dr. Sibel ATASAGUN (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı)'a, insana saygısı, içtenliği, bilgisi ve ilkeli yöneticiliği ile bana örnek olan, yakın ilgisini ve desteğini tez çalışmam süresince de hiç esirgemeyen hocalarım Doç. Dr. Turgay TEKİNAY (Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Genetik Anabilim Dalı) ve Doç. Dr. Ayşe Begüm TEKİNAY (Bilkent Üniversitesi, UNAM)'a, tez çalışmam süresince zor şartlar altında yaptığım deneylerde her zaman destek ve yardımcı olan çalışma arkadaşım Doç. Dr. Evren TUNCA (Ordu Üniversitesi Fatsa Deniz Bilimleri Fakültesi), Araş. Gör. Şeyda FİKİRDEŞİCİ (Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Anabilim Dalı), Öncay YAŞA ve özellikle Alper Devrim ÖZKAN' a, sevinçli ve sıkıntılı anlarımı paylaştığım ve yardımlarını esirgemeyen arkadaşlarım Dr. Seher ÜSTÜN, Dr. Hakan CEYLAN, Nuray GÜNDÜZ ve Bilkent Üniversitesi UNAM' daki tüm dostlarıma sonsuz teşekkür ederim.

Eğitimim için hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan, mutlu ve üzüntülü anlarımı paylaşan canım annem Aysel ERGÜL ve babam Adem ERGÜL' e, her zaman varlığı ile bana güç veren kardeşim Zekeriya ERGÜL' e, her anımda gerçek bir baba yarısı olan kıymetli amcam İsa ERGÜL' e, yokluğunu her zaman hissettiğim güler yüzlü, güzel insan dedem Nadir ERGÜL' e, ihtiyaç duyduğumda hep yanımda bulduğum en iyi arkadaşım, sevgili eşim Derviş ÜLGER' e ve yaşama sevincim canım kızım İdil ÜLGER' e, ilkokuldan itibaren üzerimde emeği olan tüm hocalarıma ve yanımda olan sevgili arkadaşlarıma en içten duygularla teşekkür ederim.

Zeynep ERGÜL ÜLGER

Ankara, Şubat 2016

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAY SAYFASI

ETİK.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER DİZİNİ.....	vii
KISALTMALAR.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. KAYNAK ÖZETLERİ.....	3
2.1 Krom.....	3
2.2 Kromun İnsan ve Canlı Sağlığı Üzerindeki Etkisi.....	4
2.2.1 Kromlu atık sular ve arıtım yöntemleri.....	7
2.2.1.1 Fiziksel yöntemler.....	7
2.2.1.2 Kimyasal yöntemler.....	7
2.2.1.3 Biyolojik yöntemler.....	9
2.2.1.3.1 Canlılarla yapılan bazı Cr (VI) biyobirikim ve biyogiderim çalışmaları.....	11
2.2.1.3.2 Adsorpsiyon izotermi.....	18
2.2.1.3.2.1 Langmuir izotermi.....	19
2.2.1.3.2.2 Freundlich izotermi.....	20
2.2.1.3.2.3 Toth izotermi.....	21
2.2.1.3.2.4 Genel Langmuir- Freundlich izotermi.....	22
2.2.1.3.2.5 BET izotermi.....	22
2.3 Organizmalardaki Cr (VI) Direnci.....	23
2.4 <i>Morganella</i> Cinsinin Genel Özellikleri.....	27
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	29
3.1 Atık Suların Toplanması ve Saklanması.....	29
3.2 Bakteri İzolasyonu.....	29
3.3 Cr (VI) Dayanıklılık ve Giderim Kapasiteleri.....	29
3.4 Cr (VI) Giderim Kapasitesi.....	32

3.5 Cr (VI) Giderimi İdeal İzolelerin 16S rRNA Sekanslamasıyla Tanımlanması.....	33
3.6 Cr (VI)'nın STB5 Bakterisi Tarafından Biyoremediasyonu.....	33
3.7 Cr (VI)'nın Asidik Ortamda STB5 Bakterisi Tarafından Biyoremediasyonu.....	34
3.8 FT-IR analizi (Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi).....	34
3.9 Taramalı Elektron Mikroskobu.....	35
3.10 Adsorpsiyon İzotermi.....	35
3.10.1 Langmuir izotermi.....	35
3.10.2 Freundlich izotermi.....	36
3.10.3 Genel Langmuir–Freundlich izotermi.....	36
3.10.4 Toth izotermi.....	78
3.10.5 Doğrusal izoterm.....	37
4. BULGULAR.....	38
4.1 STB5 Suşunun İzolasyonu ve Öncül Karakterizasyonu.....	38
4.2 Canlı <i>M. organii</i> STB5 Suşu Kullanılarak Cr (VI) Uzaklaştırma Çalışmaları.....	42
4.3 Asitle Muamele Edilmiş STB05 Suşu ile Cr (VI) Uzaklaştırma Çalışmaları.....	44
4.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....	46
4.5 FTIR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi) Analizi.....	48
4.6 Giderim İzotermi.....	49
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	67

SİMGELER DİZİNİ

%	Yüzde
C	Celcius
C	Karbon
cm	Santimetre
Cr	Krom
Cr ₂ O ³	Krom Oksit
Cr ₂ O ⁷	Dikromat
CrO ₄	Kromat
Cu	Bakır
dk	Dakika
g	Gram
H	Hidrojen
K ₂ Cr ₂ O ₇	Potasyum Dikromat
kg	Kilogram
L	Litre
M	Molar
mg	Miligram
mM	Milimolar
NaCl	Sodyum Klorür
Ni	Nikel
O	Oksijen
pH	Hidrojenin gücü
sn	saniye
U	Unit
V	Hacim
Zn	Çinko

Kısaltmalar

ATP	Adenozin trifosfat
DNA	Deoksiribonükleik asit
EPA	Amerika Çevre Koruma Teşkilatı
FDA	Amerika Besin ve İlaç Koruma Teşkilatı
FT-IR	Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
GTF	Glikoz Transferaz Faktör
OD	Optik Dansite
PZR	Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
rRNA	Ribozomal RNA
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Krom iyonlarının canlı vücuduna alınması ve birikme yolları	6
Şekil 2.2 Metal ile mikroorganizma arasındaki etkileşim mekanizmaları.....	11
Şekil 2.3 513 ChrA kromat iyon transport sekansının CLUSTALX kullanılarak oluşturulmuş dairesel filogenetik ağacı.....	25
Şekil 2.4 “Omik” yaklaşımlar ile analiz edilmiş chr genlerinin bölgesel genomik içeriği.....	26
Şekil 2.5 <i>Morganella morganii</i> ’nin taramalı elektron mikroskop görüntüsü	27
Şekil 3.1 Microplaka okuyucu kullanılarak yapılan krom giderim kalibrasyon eğrisi.....	30
Şekil 3.2 Küvet spektrofotometresi kullanılarak yapılan krom giderim kalibrasyon eğrisi.....	31
Şekil 3.3 Biyokütle ile OD600 arasındaki ilişkiyi hesaplayan ölçüm analizi.....	32
Şekil 4.1 Elde edilen izolatların 20 mg/L Cr (VI) giderim özellikleri.....	39
Şekil 4.2 Çorlu Çayı'ndan elde edilmiş bazı bakterilerin 0, 2, 24 ve 49 saat içerisindeki detaylı krom giderim kapasiteleri.....	39
Şekil 4.3 STB5 suşunun filogenetik ağacı ve <i>Morganella morganii</i> olarak tanımlanması.....	42
Şekil 4.4 Canlı STB5 biyokütlesinin zaman içerisinde büyümesi ve krom Giderim eğrisi.....	43
Şekil 4.5 STB5’in zaman içerisinde spesifik giderim kapasitesinin değişmesi.....	44
Şekil 4.6 Asidik ortamda ölü STB5 kütlesi tarafından Cr (VI) giderimi.....	45
Şekil 4.7 STB5 hücrelerinin Cr (VI) varlığındaki SEM görüntüsü.....	47
Şekil 4.8 STB5 hücrelerinin Cr (VI) yokluğunda SEM görüntüleri.....	47
Şekil 4.9 0 ve 20 mg/L Cr (VI)’ye maruz kalmış STB5’in FT-IR spektrumu.....	48
Şekil 4.10 Langmuir izotermi sabitlerine göre krom maksimum gideriminin analizi.....	50
Şekil 4.11 Freundlich izotermi sabitlerine göre krom maksimum gideriminin analizi.....	51
Şekil 4.12 Toth izotermi sabitlerine göre krom maksimum gideriminin analizi.....	51

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1 Elde edilen bakteri izoleleri ve krom giderim miktarları.....	40
Çizelge 4.2 Işık mikroskopu gözlemlerinde elde edilen suşların gösterdiği morfolojik yapıları.....	41
Çizelge 4.3 Asitle muamele edilmiş STB5 biyokütlesinin belirli başlangıç konsantrasyonlarına göre krom giderim kapasitesi.....	45
Çizelge 4.4 İzoterm katsayıları ve deneysel verilere olan istatistiksel uygunlukları.....	52



1. GİRİŞ

Günümüzde hızla gelişen teknoloji ve sanayileşme, insan hayatını kolaylaştırmakla birlikte ağır metal içerikli atıklar nedeniyle çevre üzerinde olumsuz etkilere yol açmaktadır. Zamanla bilinçlenen insanoğlu, doğal kaynakların tahribi ve çevre kirliliği konusunda daha çok araştırma yapmaya başlamıştır. Elde edilen sonuçlar, sanayi atıkları ile kirlenilen çevrenin canlılar için, düzeltilmesi mümkün olmayan etkileri olduğunu göstermiştir. Sanayi atıklarının özellikle su kaynaklarına bırakılması, akarsuların ağır metallerle daha çabuk ve fazla kirlenmesine sebep olmaktadır. Metal piklaj işlemlerinde, duvar boyalarının yapılmasında, deri endüstrisinde, kumaş boyalarında, seramiklerde, patlayıcı maddelerde, cam endüstrisinde ve birçok endüstrinin soğutma sularında korozyon önleyici olarak kullanılan ve çevreye en çok bırakılan ağır metallerden biri de kromdur.

Vücutta birikmesi ve özellikle +6 değerli formunda reaktif oksijen türleri üreterek toksik etki göstermesi sebebiyle, doğaya bırakılan krom miktarının azaltılması ve su ile toprakta mevcut bulunan kromun kimyasal veya biyolojik yöntemlerle giderilmesi önem taşımaktadır. Gerek krom, gerekse de diğer metallerin gideriminde biyolojik sistemlerin kullanımı, günümüzde yüksek önem taşıyan ve akademik olarak sıklıkla çalışılan bir konu haline gelmiştir. Bu olgunun sebebi, biyolojik giderim tekniklerinin çevre dostu olmaları, kolay ve ucuz olarak üretilmeleri, tekrar kullanılabilmesi ve doğal ortamlara *in situ* biyoremediasyon için bırakılabilmesidir. Ancak kimyasal yöntemlerin aksine, biyolojik çalışmalar etkili bir şekilde metal giderimi yapabilen, metal toksitesinden etkilenmeyen, hızlı büyüyen ve yüksek biyokütle verimine sahip organizmaların eldesi, karakterizasyonu ve gerekirse genetik olarak modifikasyonu ile giderim kapasitelerinin artırılmasını gerektirmektedir.

Ağır metallerce kirlenilmiş ortamlardan alınan bakteri, mantar ve alg suşlarının ise bu özelliklere sahip olma ihtimalleri yüksektir, dolayısıyla, metal kirliliğine maruz kalan mikroorganizmaların izolasyonu ve karakterizasyonu, etkili bir şekilde metal gideriminde kullanılabilecek suşların eldesini de kolaylaştıracaktır. Bu çalışmada, bu amaç doğrultusunda Ankara ve Çorlu Çayı'ndan alınan su örneklerinde krom toleransı

yüksek bakteri suşları elde edilmiş, kroma en iyi dayanabilen suşun ise detaylı krom giderim karakterizasyonu yapılmıştır. Elde edilen *Morganella morganii* STB5 izolesinin ise gerek canlı, gerekse asitle muamele edilmiş haldeyken, canlılar için yüksek derecede toksik olan Cr (VI)'yı daha az zararlı olan Cr (III) haline dönüştürebildiği gözlemlenmiştir. Asitle muamele edilen bakteri suşunun Cr (VI) varlığında üç saat içerisinde denge konumuna ulaştığı ve $24,30 \pm 1,67$ mg/g krom giderimi gösterdiği, canlı halde ikense 20 mg/L Cr (VI)'nın % 90'nı 72 saat içerisinde giderdiği, bu giderimin ise $19,36 \pm 1,89$ mg/g giderim kapasitesine eşit olduğu gözlenmiştir. Asitle muamele edilmiş STB5'in adsorpsiyon izotermi en yakın olarak Langmuir ve Toth modellerini takip etmiş, FT-IR sonuçları ise hücre membranında bulunan veya dışarıya salınan polisakkaritlerin giderim için önemli olduğunu göstermiştir. Dolayısıyla elde ettiğimiz sonuçlar STB5'in doğal ortamlarda krom gideriminde etkili bir şekilde kullanılabileceğine yöneliktir.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1 Krom

Krom iyonları doğada kararlı form olan +3 ve +6 değerlikli olarak bulunmaktadırlar (McGrath ve Smith 1990, Kahvecioğlu vd. 2003) . Krom, çevrede +3 değerlikli formuyla Cr_2O_3 şeklide bulunmaktadır (Muter vd. 2002). Cr(III)'ün çözünürlüğü Cr (VI)'ya göre daha azdır ve bu nedenle hücre membranından geçemez (CzakoVer vd. 1999, Francisco vd. 2002). Çevrede yaratacağı toksik etki toprak tarafından kuvvetlice tutulduğu için daha azdır. Fakat Cr (VI)'nın çözünürlüğü yüksektir, bundan dolayı Cr(III)'e göre daha çok toksik, mutajenik ve kanserojendir (Petrilli ve De Flora 1977, Langard 1990, Lossi vd. 1994, Gibb vd. 2000). Krom elementi oksijen ile birleşerek kromat (CrO_4^{2-}) veya dikromat ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) iyonu şeklinde de doğada bulunabilmektedir. Kromat formlarında +6 değerlikli olan krom, organik madde varlığında kolayca indirgenerek daha az zararlı olan +3 değerliğine geçebilir (Kahvecioğlu vd. 2003). Dolayısıyla organik maddelerin bulunduğu ortamlarda +6 değerlikli krom varlığı, hızlı bir indirgeme sürecini beraberinde getirir. Bu durum ise çoğu organizmada reaktif oksijen türlerinin oluşmasını sağlayarak hücre unsurlarına zarar verecektir. Ayrıca krom, metal koenzim kullanan enzimlere bağlanarak bu enzimlerin işlevlerini de kısıtlayabilir veya ortadan kaldırabilir.

Kromun doğaya atımı gerek metal kaplama ve boya/pigment üretimi gibi kromun renk verici veya pasifleştirici madde olarak kullanıldığı, gerekse de deri üretimi ve kağıt endüstrisi gibi krom bileşenlerinin ham madde işleme aşamalarında yer aldığı endüstriler sebebiyle gerçekleşebilir. Bu tür işlemlerden sonra açığa çıkan kül ve endüstriyel çamur gibi atıklar doğaya bırakıldıklarında veya bataklıkları ortadan kaldırmak gibi işlevlerde kullanıldıklarında, atık içerisindeki krom toprağa ve suya karışabilir. Özellikle deri endüstrisinin yüksek miktarda krom atığı ürettiği bilinmektedir, örneğin Hindistan' da yıllık 2000-3200 ton krom deri sanayisi atığı olarak üretilmektedir (Zayed ve Terry 2003) ve üretilen krom daha sonra da topraktan yeraltı su kaynaklarına yayılmakta ve bu şekilde çevreye ulaşmaktadır (Palmer ve Wittbrodt 1991). Deri sanayiinde son yıllara kadar Cr (VI) yüksek oranda kullanıldığı

için, bu endüstrinin heksavalen krom kirliliğinde önemli bir rolü vardır (Zayed ve Terry 2003).

2.2 Kromun İnsan ve Canlı Sağlığı Üzerindeki Etkisi

Cr(III), canlıların beslenmesi ihtiyaç duydukları esansiyel iz elementlerdendir. Enerji metabolizması, kolesterol, protein ve yağ sentezinde önemli bir role sahip olan krom şeker metabolizmasında, insülin hareketini sağlayarak glikozun hücre içine girmesini sağlayan glikoz transferaz faktör (GFT) olarak görev alır (Cheng ve Hsu 1997, Şahin vd.2001, Kroliczewcska vd. 2004, Yıldız vd. 2004). Bazı aminoasitlerin (sistein, glisin ve glutamik asit) aktif olabilmeleri için de çekirdeğinde Cr(III)'ün bulunması gerekmektedir (Kroliczewcska vd. 2004, Yıldız vd. 2004, Mertz 1969, Vincent 1999). Glikoz transferaz faktör olarak Cr(III), hipoglisemi, iştah ve fazla protein alımını kontrol ederek kalp hastalıklarına ve diyabete karşı etkin bir rol almaktadır (Anderson 1987, Butron 1995).

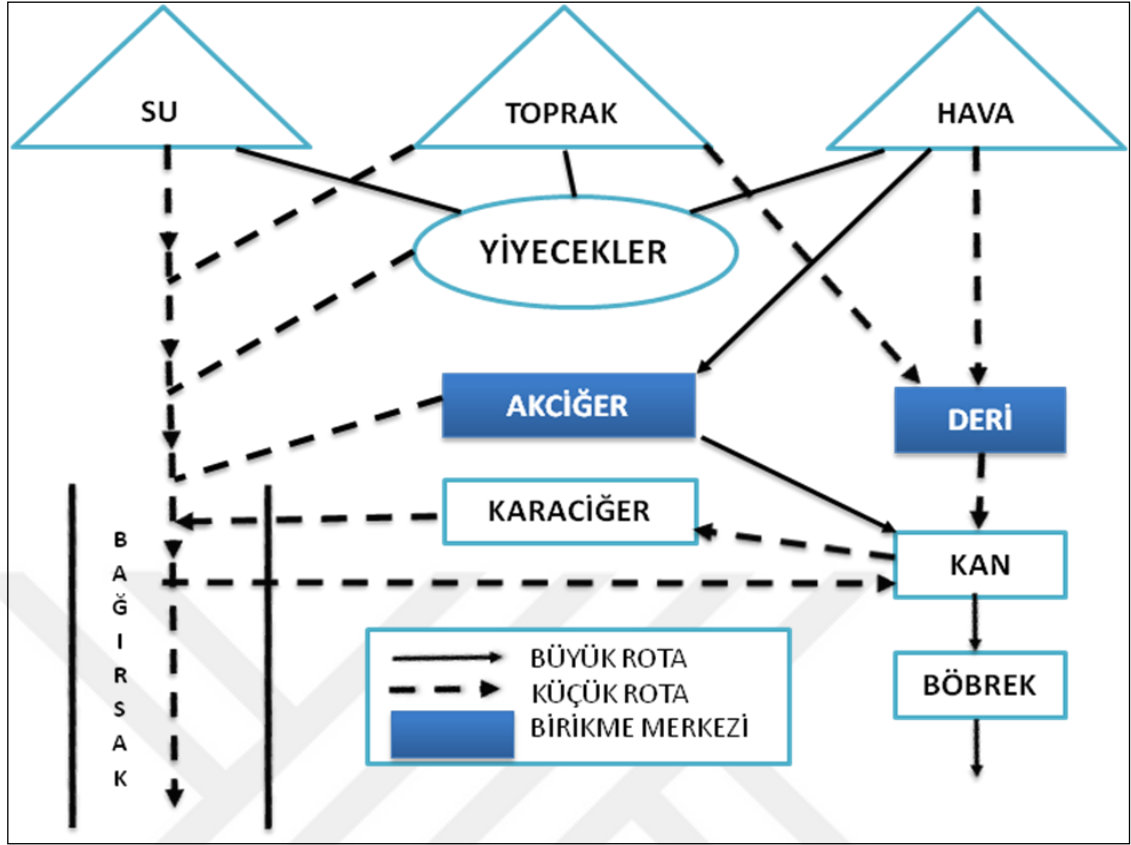
Yumurta sarısı, bira mayası, kırmızı et, peynir, karaciğer, kuruyemişler, kahve, yeşil fasülye, brokoli, karabiber şarap gibi gıdalar +3 değerlikli kromun başlıca kaynaklarıdır (Anonim 1997, Cefalu vd. 2004). Besinlerle alınan kromun %2-10'nu bağırsaklardan emilerek, vücut tarafından kullanılabilir.

Yetişkin insanlar için günlük tavsiye edilen Cr(III) miktarı 50-200 µg/gün' dür. Cr(III), pek çok multivitamin/mineral tabletlerinde bulunmakla birlikte, spesifik krom pikolinat tabletleri 200-600 µg/tablet krom içermektedir (Cefalu vd. 2004). Kromun hayvan yemlerinde kullanılmasına yönelik çeşitli araştırmalar da son yıllarda artış göstermiştir. Bu çalışmalarda hayvan yemlerine yapılan krom ilavesi ile canlı ağırlıkta, üreme ve büyüme etkinliğinde, yumurta üretiminde, yumurta ağırlığında ve beyaz kalitesinde artış, yemden yararlanma ve karkas kalitesinde iyileşme olduğu gözlemlenmiştir. Diyeteye ya da rasyonlara ilave edilen belirli miktarda kromun, fiziksel ve metabolik stres altında bulunan insanlar ile hayvanlarda olumlu etkilerinin olduğu görülmüştür (Şahin vd. 2001, Kroliczewcska vd. 2004, Yıldız vd. 2004, Debski vd. 2008).

Cr (VI) ise genellikle sentetik bir form olup, fosfat ve sülfat ile olan yapısal benzerliği nedeniyle solunma, deriden giderim ve yutma ile de bağırsaklardan kolayca emilerek canlı vücudunda olumsuz etkilerini göstermektedir. Krom iyonlarının canlı vücuduna alınması ve birikmesi genel olarak şekil 2.1’de gösterilmiştir (Kimbrough vd. 1999). Emilen krom vücudun tüm organ ve dokularında, ve özellikle akciğer, karaciğer, dalak ve pankreasta birikmektedir (Cefalu vd. 2004, Kroliczewcska vd. 2004). Vücutta biriken Cr (VI), canlılarda toksik etki yaratabilir, insanlarda akciğer kanserine, böbrek hasarlarına, alerjilere, deride hassaslaşmaaa, lezyonlara, ülserlere ve kaslarda ciddi rahatsızlıklara sebep olabilir. Ayrıca Cr (VI)’nın nükleik asitlerle ve proteinlerle etkileşime girdiğini, nükleik asit sentezinde gecikmeye neden olduğunu gösteren çalışmalar yapılmıştır (Petrilli ve DeFlora 1977, Bhide vd. 1996, Chirwa vd. 1999). Heksavalen kromun giderimi için, süperoksit dismutaz gibi reaktif oksijen türlerini ortadan kaldıran enzimler görev almaktadır (Sumner vd. 2005).

Hayvanlarda gerek ROS (Reaktif Oksijen Türleri) azaltıcı enzimler, gerekse de metalothioneinler gibi metal tutucu proteinler kromun hücrelerden uzaklaştırılmasına yardımcı olmaktadır. Dolayısıyla, insanlarda ve diğer hayvanlarda gerek heksavalen kromu vücuttan atma, gerekse de trivalen forma indirgeme için belirli mekanizmalar bulunmaktadır (Gadd 1990). Örneğin sucul hayvanlarda genellikle kromun alımı solungaçlarda, uzaklaştırılması ise karaciğerde gerçekleşir (Roberts ve Oris 2004). Bitkilerde ise sülfür ve demir gibi iyonların yerine geçerek alınan Cr (VI); çimlenme, su metabolizması ve mineral alımı gibi işlevlerin gerçekleşmesini engelleyerek çimlenmeye ve kök, gövde ve yaprak gelişmesine engel olmaktadır (Shanker vd. 2005).

Bu bilgilere dayanarak Cr (VI)’nın canlı sağlığı için oldukça zararlı olduğu ve kirlenmiş ortamlardan temizlenmesi gerektiği ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle bu konu üzerindeki araştırmalara ve çevre analizlerine günümüzde artan bir şekilde önem verilmektedir (Rai vd. 1987, Cotton ve Wilkinson 1988).



Şekil 2.1 Krom iyonlarının canlı vücuduna alınması ve birikme yolları (Kimbrough vd. 1999)

Yetişkin bir insanın ölümüne sebep olabilecek miktar 50-70 mg Cr^{6+}/kg 'dır (WHO 1996). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından içme suyunda Cr (VI)'nın sınır değeri 0,05 mg/L olarak belirlenmiştir (WHO 1988). Amerika Çevre Koruma Teşkilatı (EPA) tarafından içme suyu için belirtilen Cr (VI) sınır değeri 0,011 mg/L'dir. Amerika besin ve İlaç Kontrol Teşkilatı (FDA) tarafından besinler ile birlikte günlük alınmasına izin verilen krom miktarı ise 0,120 mg olarak belirlenmiştir (FDA 1999). Ülkemizde ise sular için oldukça toksik olan ağır metallerin "Su Kirliliği Kontrol Yönetmeliği"ne göre belli seviyelerin altına getirilerek çevreye bırakılması gerekmektedir. Bu yönetmelik Cr (VI) için bu değerleri birinci kalite su için ölçülemeyecek kadar az, 2. ve 3. kalite suda ise Cr (VI)'nın 20 – 50 $\mu\text{g}/\text{L}$ düzeylerinde olması gerektiğini belirtilmiştir (2004).

2.2.1 Kromlu atık sular ve arıtım yöntemleri

Ağır metallerle kirlenmiş sular genellikle asidik, biyokimyasal oksijen ihtiyacı değeri düşük, bu sulara yaşayan canlılar için zehirli, biyoremediasyon yapan canlılar için öldürücü nitelikte inorganik sulardır (Kahvecioğlu 2003). Krom ile kirlenmiş atık sulardan Cr (VI)'nın uzaklaştırılması için kimyasal çöktürme, kimyasal yükseltgenme veya indirgenme, iyon değişimi, filtrasyon, elektrokimyasal arıtma, ters osmoz, membran teknolojileri, buharlaşma ile kurtarma gibi yöntemler kullanılmaktadır (Pettersen 1977, Zahoor ve Rehman 2009).

2.2.1.1 Fiziksel yöntemler

Fiziksel yöntemler genellikle kimyasal yöntemlerle beraber kullanılmaktadır. Kimyasal giderim, çökeltme ve içeri alınma (entrapment) işlemlerinin etkisini arttırmak için parçacık büyüklüğü ve morfolojisinin optimizasyonu, fiziksel giderim olarak sınıflandırılabilir. Aynı zamanda, metaller bazen kovalent bağlarla değil, tamamen porlu bir yüzeye fiziksel giderim (adsorpsiyon) ile giderilmektedirler.

2.2.1.2 Kimyasal yöntemler

Kimyasal adsorpsiyon moleküller arası kuvvetli çekim güçlerinin etkisi ile, fiziksel adsorpsiyon ise düşük çekim gücünden veya van der Waals kuvvetlerinden dolayı meydana gelmektedir. Adsorbat ile yüzey arasındaki elektriksel çekim ile ise değişim adsorpsiyonunu meydana getirmektedir (Sawyer vd. 1978)

İndirgeme – çökeltme yöntemi; bu yöntemde yüksek değerlikli bir metal, indirgenerek nötralize edilir. Metali ayırabilmek için karıştırma, çökeltme ve süzme işlemleri yapılmalıdır. Genellikle kromlu suların temizliğinde kullanılır (Gurnham 1965).

Yükseltgeme – çökeltme yöntemi; bu yöntemde indirgenmiş halde bulunan bir metal, yükseltgenerek kararlı ve çözünmeyen formlara dönüştürülür. Bu yöntemi kullanan

sistemlerde, havalandırma-çöktürme-filtrasyon basamakları izlenir. Çöktürme havuzunda, metalin yükseltgenmesi tamamlanır ve filtre edilir. Genellikle demir ve mangan ile kontamine olmuş atık suların arıtımında kullanılmaktadır (Gurnham 1965).

Nötralizasyon - çöktürme yöntemi; bu yöntemde Cr^{+6} , Cu^{+2} , Zn^{+2} , Ni^{+2} , Fe^{+2} ve Cd^{+2} gibi ağır metallerin bulundukları ortamlar, sodyum hidroksit, soda veya kireç eklenmesi ile nötralize edilirler. Ağır metal hidroksitleri suda iyi çözünmediği için, bu metaller hidroksit şeklinde çöktürülerek atık sulardan uzaklaştırılırlar. Bu yöntem ile çoğu metal iyonu temizlenebilir.

İyon değişimi; bu yöntem ağır metallerin uzaklaştırılmasında yüksek giderme verimi gösterdiği için yaygın olarak kullanılır (Kang vd. 2004). Bu amaçla kullanılan iyon değiştirici reçineler (sentetik ya da doğal reçine) ağır metal iyonlarını elektrostatik kuvvetler sayesinde fonksiyonel grup halinde katı yüzeyinde tutarlar ve ortamdaki farklı türdeki iyonlarla değiştirilmelerini sağlarlar (Keskinler vd. 1994). Daha etkin olduğu görülen sentetik reçineler bu yöntemde daha sıklıkla tercih edilmektedirler (Alyüz ve Veli 2009).

Ancak bahsedilen bütün bu yöntemler, uygulama sırasında ikincil atık ürünlerin meydana gelmesi, iyon değiştirici reçine üzerine Cr (VI) indirgenmesi, yüksek bakım maliyetleri, karışık işletme sistemleri, yüksek enerji ihtiyacı ve metallerin tamamen uzaklaştırılamaması gibi bazı sorunları beraberinde getirebilmektedir (Mishra ve Doble 2008). Dolayısıyla, daha çevreci ve etkili ağır metal temizleme yöntemlerinin araştırılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Bu sorunlar sebebiyle özellikle son yıllarda, diğer yöntemlere göre daha ekonomik, çevre dostu ve uygulanabilir olan biyoremediasyon yöntemi ağır metal gideriminde büyük önem arz etmeye başlamıştır (Malik 2004).

2.2.1.3 Biyolojik yöntemler

Biyolojik arıtmada ise mikroorganizmaların metal iyonlarını sıvı ortamlardan adsorplama özellikleri kullanılarak daha avantajlı ağır metal temizliği yapılabilir. Mikroorganizmaların yüzeyinde karboksilat, amin, fosfat, hidroksil, sülfhidril gibi metal iyonlarının adsorplanması için uygun bölgeler mevcuttur (Gadd 1990). Her bir fonksiyonel bölge, farklı ağır metalleri farklı kapasitede tutabilir. Hücre zarı polimerik yapıları, biyolojik adsorpsiyonu meydana getiren ana malzemelerdir ve protein, nükleik asit, lipid ve karbonhidratlardan oluşurlar. Bu yapıların içinde organik (karboksilik, aromatik, alifatik ve amino gibi) ve inorganik grupların (hidroksil, sülfat gibi) iyonlaşması, hücre zarının negatif yüke sahip olmasını sağlar (Bux ve Kassan 1994). Bu özelliklerinden dolayı mikroorganizmalar metal katyonlarına kolayca bağlanabilirler. Pasif tutulma olarak da adlandırılan bu olay, biyolojik mekanizmalardan bağımsızdır ve biyosorpsiyon olarak adlandırılır. Biyosorpsiyon, biyolojik yapılar ve metal türleri arasında meydana gelen fiziko-kimyasal etkileşimler sonucunda meydana gelir.

Mikroorganizmalar canlı iken bazı ağır metal iyonları, hücre içine girerek burada birikebilirler. Canlı hücreler ağır metalleri hem aktif hem de pasif olarak tutabilirler, böyle durumlar biyoakümülyasyon olarak adlandırılır (Shumate ve Strandberg 1985).

Canlı mikroorganizmaların toksik formda hücre içine aldıkları ağır metalleri metabolize ederek daha az toksik formda metallere dönüştürmesi ise biyoremediasyon olarak adlandırılmaktadır (Christodoulatos ve Koutsospyros 1998). Biyoremediasyon fizikokimyasal yöntemlerin kullanılamayacağı doğal su kaynaklarının doğrudan temizlenmesinde, metal giderici organizmaların doğaya salınması yardımıyla kullanılabilir. Ancak biyoremediasyonda kullanılan organizmalar, maruz kaldıkları metalin toksik etkilerine de direnç göstermelidirler, aksi halde metal doğaya salınan popülasyonu hızla öldürüp temizleme işlemini durduracaktır. Bu etkiyi ortadan kaldırmak için ya asitle muamele edilmiş, giderim kapasitesi yüksek biyokütleler, ya da metale dayanıklı organizma kültürleri kullanılmaktadır. Zira mikroorganizmalar, ağır metallerle karşılaştıklarında kendilerini korumak için bazı direnç mekanizmaları geliştirmişlerdir (Şekil 2.2) ve yüksek metal konsantrasyonlarında bu mekanizmalar

sayesinde yaşayabilmektedirler. Bu mekanizmaların bazıları henüz tam bilinmiyor olsa da, belli başlı olarak şu şekilde listelenebilirler (Bruins vd. 1999).

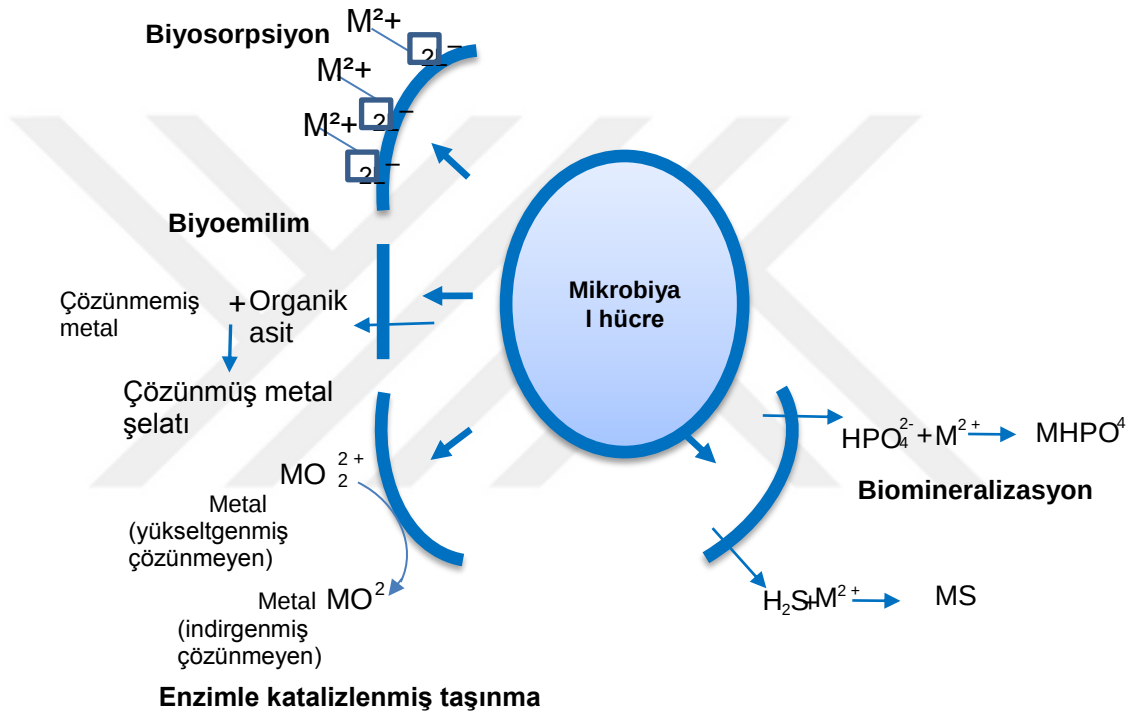
a. **Metalin hücre zarından geçişinin engellenmesi:** Hücre duvarında veya zarında meydana gelen değişimler metalin hücreye girişini engeller. Gen üzerinde meydana gelen nokta mutasyonları ve metallerin dış zara veya hücre proteinlerine bağlanması zarın geçirgenliği azaltmaktadır (Beveridge ve Murray 1976, Ji ve Silver 1995). Bakterilerde bulunan ekstrasellüler polisakkaritler, metal iyonlarını biyolojik olarak tutmakta ve bakterileri hücre bileşenleri ile etkileşimden korumaktadırlar (Scott vd. 1988, Scott ve Palmer 1990)

b. **Metallerin mikroorganizmadan aktif olarak uzaklaştırılması:** Metaller aktif taşıma yoluyla hücre dışına pompalanırlar, bu mekanizma plazmit veya kromozom tarafından kodlanıyor olabilir. Mikroorganizmalar bu sistemi toksik olan metalleri sitoplazmalarından uzaklaştırmak için kullanırlar. Bu sistem ATP'ye bağımlı ya da ATP'den bağımsız olarak gerçekleşebilir (Silver vd. 1989, Nies ve Silver 1995).

c. **Metallerin proteinlere bağlanması ile hücre içinde birikmesi:** Bu mekanizma ile ağır metallerin hücre içinde hücre metabolizmasına etki edemeyecekleri bir yerde (örneğin vakuollerde) birikmesi sağlanarak hücresel organellerle etkileşimleri önlenir (Bruins vd. 1999).

d. **Metallerin hücre dışında tutulması:** Joho ve arkadaşları tarafından metal direnci öncelikli olarak bakteriler için kurgulanmış olsa daha sonra maya ve mantarlar için de geçerliği görülmüştür (Joha vd. 1995). Örneğin, *Saccharomyces cerevisiae* büyük miktarda glutatyonu salgılayarak Ni adsorbsiyonunu azaltabilmektedir (Murata vd. 1985). Glutatyon ağır metallerle hızla bağlanır ve mayanın taşıdığı metilglioksal geni metallerin yoğun olduğu bölgelerde ekstrasellüler glutatyon maddesi oluşturur. Toksik metal bu komplekslere tutunur ve dolayısıyla hücreye giremez. Mantarlarda bakır (Cu) direnci sağlanırken metal oksalat kompleksleri oluşturmak üzere hücre dışına oksalat salgılandığı da bulunmuştur (McEntee vd. 1986).

e. **Enzimlerle metalin daha az toksik forma dönüştürülmesi:** Hücre içinde ve enzimatik yollarla gerçekleşir. Direnç gram negatif ve gram pozitiflerde benzer genler tarafından sağlanır. *Bacillus cereus* RC607 suşundaki direnç ile ilgili olan mer A geninin *Clostridium butiricum*'daki mer A genleri ile nükleotit sekanslarının benzerliği % 76,8'den % 100'e kadar değişmektedir. Mer A genleri plazmit veya kromozom kökenli olabilirler (Misra 1992). Genel olarak bakteriyel metal dayanıklılık genleri plazmitler yardımıyla aktarılırlar.



Şekil 2.2 Metal ile mikroorganizma arasındaki etkileşim mekanizmaları (Lloyd 2002)

2.2.1.3.1 Canlılarla yapılan bazı Cr (VI) biyobirikim ve biyogiderim çalışmaları

Jinshao vd. (2010)'nın yaptıkları bir çalışma, sulu çözeltilerden krom giderimi ve de atıksularından krom, bakır, nikel ve çinkonun *Candida lipolytica* ve kanalizasyon suyu karışımı kullanılarak giderilmesini amaçlamaktadır. Bu çalışmada Cr (IV) ve toplam kromun biyolojik indirgenme oranında başlangıç pH' ı, biyosorbent dozajı ve etkileşim süresinin önemli belirleyici koşullar olduğu gözlemlenmiştir. Aynı zamanda da bakır ve

Çinko kombinasyonunun toplam krom gideriminde ve Cr (IV)'ün biyolojik indirgenmesinde önemli etkileri olduğu gösterilmiştir.

Velasquez ve Dussan (2009)'nın yaptıkları çalışmada Kolombiya'da elde edilmiş farklı *Bacillus sphaericus* suşlarının civa, bakır, demir ve krom elementlerine karşı toleransları ve ayrıca canlı kütledeki bu elementlerin biyolojik giderim ve biriktirilmeleri belirlenmiştir. Canlı veya ölü olarak kullanılan *B. sphaericus* OT4b31 suşunun krom elementinin biyolojik gideriminde karşılıklı olarak % 25 ve % 44,5'e kadar etkili olduğu gösterilmiştir. Bu veriler ışığında ise elde ettikleri mikroorganizmaların ağır metallerin giderimi sürecinde kullanılabilecek bir alternatif oluşturdukları ileri sürölmüştür.

Baysal vd. (2009) ise yaptıkları araştırmada yüzeyle sabitlenmiş *Chryseomonas luteola* TEM 05 hücrelerinin, sulu çözeltelerde bulunan Cr (IV), Cr (II) ve CO (II) iyonlarının giderilmesi üzerine sahip oldukları potansiyeli incelemişlerdir. Çalışma sonunda karragenan-kitosan jel sistemi üzerinde sabitlenmiş *C. luteola* TEM 05 mikroorganizmalarının metal iyonlarının hızlı giderimleri üzerinde hücre içermeyen carrageenan jel sisteminden daha etkili olduğu gösterilmiştir.

Quintelas vd. (2008)'nin yaptıkları araştırmada aktive edilmiş granöler karbon ile desteklenen üç farklı bakteri türü kullanılarak düşük konsantrasyonlu sıvı çözeltilerdeki krom iyonlarının giderilmesi incelenmiştir. Farklı hücre duvarı yapılarına ve içeriklerine sahip olmalarına rağmen araştırmada kullanılan bu üç bakteri türünün açık sistemlerde krom iyonunun giderilmesinde etkili oldukları ve üçünün de remediasyon çalışmalarında kullanılabileceği gösterilmiştir. Buna ek olarak kullanılan gram pozitif mikroorganizma türlerinin, *B. coagulans* and *S. equisimilis*, metallerin giderilmesinde en iyi yüzdelerle sonuçları gösterdikleri belirtilmiştir.

Chatterjee vd. (2010) tarafından yapılan alışma Hindistan'daki Damodar nehrinden izole edilmiş termofilik bakteri türü olan *Geobacillus thermodenitrificans*' u metal bağlama kapasitesini sentetik metal solösyonları ve sanayi atık suları kullanılarak incelemişlerdir. Yapılan araştırmalar sonucunda ölü *G. thermodenitrificans*

biyokütlesinin Cr(III)'ün indirgenmesinde 720 dakika içerisinde optimal pH koşullarında % 80,80 oranında başarı gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca yine bu çalışmada *G. thermodenitrificans* bakteri türünün sanayi atık sularındaki metal iyonlarının giderimleri için kullanıldığı zaman ise Cr(III) iyonunu 120 dakika içerisinde % 39,2 gibi yüksek bir oranda giderebildiği gösterilmiştir.

Chen Kao vd. (2008)'nın yapmış oldukları çalışmada farklı mikroorganizmalarda bulunan ve metallerin bağlanmasında görev alan proteinleri üretebilen bir rekombinant *Escherichia coli* suşu kullanılarak, sulu çözeltilerde bulunan Ni (II), Zn (II) ve Cr (III) iyonlarının giderimi araştırılmıştır. Yapılan araştırmaların neticesinde ise bu rekombinant bakteri türünün metallerin bağlanmasında görev alan proteinleri içermeyen bakteri türlerine göre daha yüksek bir başlangıç giderimi gösterdiği belirtilmiştir. Ancak Cr (III) giderimi sırasında metallerin bağlanmasında görev alan proteinlerin üretildiği genlerde hasarlar oluştuğu ve çok sayıda hücre kayıpları yaşandığı gözlemlenmiştir.

Vinod vd. (2010) yapmış oldukları çalışmada, Hindistan'da bulunan sakız ağacı (*Cochlospermum gossypium*) reçinesinin sıvı çözeltilerde bulunan toksik metal iyonları kontaminasyonunun giderilmesindeki potansiyelini araştırmışlardır. Bu reçinenin toksik nikel metalinin ve toplam krom iyonunun giderim üzerindeki kapasitesi incelenmiştir. Yapılan çeşitli incelemelerin ve Langmuir model hesaplamalarının ardından ise *Cochlospermum gossypium* reçinesinin azami giderim kapasitesinin krom iyonu için optimal olarak pH 2' de 129,8 mg/g olduğu gösterilmiştir.

Srinath vd. (2002) yaptıkları araştırmada, bir ortak atık suyu arıtma tesisinden elde edilmiş bakteri suşlarının Cr (VI) elementinin biyolojik olarak biriktirilmesi üzerindeki kapasiteleri incelenmiştir. Yapılan incelemelerin ve deneylerin ardından *Bacillus circulans* ve *Bacillus megaterium* olarak belirlenmiş iki bakteri suşunun kuru ağırlıklarının sırasıyla 34,5 mg Cr/g ve 32 mg Cr/g' ına kadar biriktirdikleri gözlemlenmiştir. Bunlara ek olarak yine bu çalışmada ölü bakteri hücrelerinin canlı olanlarına kıyasla daha yüksek bir biyolojik giderim gösterdikleri de ortaya konulmuştur.

Misha ve Doble (2008) yaptıkları araştırmada, katı atıklardan krom iyonuna toleransı olan mikroorganizmaların izole edilmelerini detaylandırmıştır. Çalışmalarda izole edilen dokuz türün krom iyonuna karşı 700 mg/L konsantrasyonuna kadar tolerans gösterdikleri ve 8-12 saat arasında duraklama fazına ulaştıkları ortaya çıkartılmıştır. Bunların dışında yine bu mikroorganizma türleri 4-10 saat arasında başlangıçta 200 mg/L konsantrasyonu olan krom iyonunun yaklaşık olarak % 95'ini biyolojik olarak emebilmektedir. En iyi krom giderimi sonuçları veren iki organizma üzerinde yapılan 16s RNA araştırmalarının ardından ise bu organizmaların *Bacillus marisflavi* ve *Arthrobacter* sp. oldukları ortaya çıkartılmıştır.

Bankar vd. 2009 yılında yaptıkları çalışmada sulu çözeltilerde bulunan Cr (VI)'ün giderilmesi *Yarrowia lipolytica* türünün iki farklı deniz suyu kullanılarak (NCIM 3589 ve 3590) pH, sıcaklık, biyokütle, tuz yoğunluğu, etkileşim zamanı ve başlangıç krom iyonu konsantrasyonuna göre araştırmışlardır. Optimal durumlarda Cr (VI) iyon miktarı yükseltildikçe bu mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen biyolojik giderimin arttığı ortaya çıkartılmıştır. Bunun dışında ise NCIM 3589 ve 3590 suşlarının Cr (VI) iyonuna karşı özel bir içe alım gösterdikleri gün ışığına çıkartılmıştır.

Espinoza-Quinones vd. (2009)'nın yaptıkları çalışmada, yüksek çözünürlüklü XRF (X Işınları Floresans Spektrofotometresi) tekniği kullanılarak *Salvinia auriculata*, *Pistia stratiotes* ve *Eichhornia crassipes* gibi sucul bitkilerin köklerinde gerçekleşen biyolojik giderimler sırasında Cr (VI)'nın indirgenmesi incelenmiştir. Bu çerçevede bitkiler 27 gün boyunca toksik olmayan krom içeren bir ortamda büyütülmüşlerdir ve yapmış oldukları giderim XRF spektrometre kullanılarak belirlenmiştir. Bu çalışmanın ardından çıkan deneysel kanıtlara dayanarak Cr (VI) indirgenme işlemi bu bitkilerde gerçekleşen metallerin biyolojik olarak giderimleri esnasında gerçekleşmektedir.

Tuzen vd. (2007)'nin yaptıkları çalışmada, doğal örneklerde bulunan Cr (III) ve Cr (VI) iyonlarının bilirlenmelerine yarayacak bir prosedür ortaya konulmuştur. Bu prosedür Cr (III) iyonunun Diaion SP-850 reçinesi üzerine yüklenmiş *Bacillus sphaericus* bakteri türü tarafından biyolojik gideriminin kantitatif olarak araştırılması üzerine kurulmaktadır. Bu prosedürün Cr (III)'ü ortaya çıkartma limiti 0,50 µg/L dir ve ayrıca

doğal su örneklerindeki Cr (III) ve Cr (VI) miktarını başarılı bir şekilde belirlemekte kullanılabilir.

Heung vd. (2007)' nin yaptıkları çalışmada, yumurta kabuklarının toksik metalleri giderme kapasiteleri araştırılmıştır. Bu çalışmada 800 °C'de 2 saat boyunca yakılmış olan yumurta kabuklarının sentetik olarak oluşturulmuş atık suların temizlenmesi amacıyla kullanıldığı zaman ortamdaki krom kontaminasyonunun % 99'undan daha fazlasını 10 dakika içerisinde giderebildiği gösterilmektedir. Bunun yanında yine bu ürün kullanılarak gerçek atık sular üzerinde yapılan çalışmalarda da ağır metallerin giderimi üzerine umut verici sonuçlar elde edilmiştir.

Kılıç ve Dönmez (2008)'in yaptıkları çalışmada, kroma dayanıklı üç farklı mikroorganizma türünün (*Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus* sp. ve *Ochrobactrum* sp.) farklı pH, sıcaklık, Cr (VI) konsantrasyonu ve inkübasyon sürelerinde meydana gelen hücre dışı polisakkarid üretimlerindeki değişim test edilmiştir. Her bir tür için azami hücre dışı polisakkarid üretimi farklı çevresel koşullarda gerçekleşmektedir ve en yüksek polisakkarid üretimini *Pseudomonas aeruginosa* türü sağlamaktadır.

Pal ve Paul (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, Hindistan'ın Andaman bölgesinde bulunan ve içerisinde doğal olarak krom içeren süzölmüş serpantin topraklardan 34 farklı kroma dayanıklı bakteri izole edilmiştir. Bu bakteri türleri aerobik koşullar altında farklı derecelerde krom indirgeme özelliği göstermektedir. Bu türler içerisinde *Bacillus sphaericus* olarak belirlenen mikroorganizmanın Cr (VI) konsantrasyonuna 800 mg/L'e kadar tolerans gösterdiği ve gelişimi esnasında Cr (VI) iyonunu % 80'e kadar indirgeyebildiği belirtilmiştir.

Thacher vd. (2006)'nın yaptıkları çalışmada endüstriyel atıkların sebep olduğu kimyasal kontamine bölgelerden krom indirgeyebilen bir gram negatif bakteri türü izole edilmiştir ve izole edilen bu bakterinin *Providencia* sp. olduğu biyokimyasal metodlar ve 16S rRNA analiz yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Daha sonra yapılan çalışmalarda ise bu bakterinin ortamda 100-300 mg/L aralığında bir krom kontaminasyonu olsa bile çoğalabildiği ve bu krom kontaminasyonunun tamamını giderebildiği gösterilmiştir.

Yine aynı bakteri 37 °C ve pH 7 ortamda büyütüldüğü zaman ortamda bulunan 400 mg/L gibi bir krom kontaminasyonunun % 99.31'ini de indirgeyebilmektedir.

Okeke (2008) tarafından yapılan bir çalışmada ise *Exiguobacterium* sp. GS1 bakteri suşunun farklı kompleks ortamlarda oluşan Cr (VI)'ı kontaminasyonunun giderilmesi için kullanılabileceği gösterilmiştir ve bu bakteri suşunun yüksek tuz yoğunluğuna karşı dirençli olduğu, geniş sıcaklık ve pH aralığında indirgeme görevine devam ettiği ortaya çıkartılmıştır. Bu nedenlerden dolayı bu türün Cr (VI)'nın biyolojik temizlenmesi için önemli bir potansiyel gösterdiği bildirilmiştir.

Morales vd. (2007) tarafından ise biyoremediasyon çalışmalarında kullanılabilecek kroma dayanıklı mikroorganizmalar izole etme amaçlı bir çalışma yapılmıştır. Yapılan deneylerin ardından *Streptomyces* sp. CG252 suşunun ağır metallere ve yüksek oranda krom konsantrasyonuna karşı dayanıklı olduğu gösterilmiştir. Bu bakteri suşunun kontamine olan ortamlarda gelişiminin ve büyümesinin negatif yönde etkilenmesine rağmen Cr (VI)'yı etkili bir şekilde giderebildiği ve Cr (III)'ün indirgenmesini hızlandırabildiği ortaya çıkartılmıştır.

Sultan ve Hasnain (2007)'ın yaptıkları çalışmada ise 16S rRNA gen sekansı analizleri sonucunda *Ochrobactrum intermedium* bakteri türüne ait SDCr-5 suşunun Cr (VI)'ya karşı dayanıklı olduğu ve yüksek yoğunluktaki Cr (VI)'yı 15 mg/mL'ye kadar tolere edebildiği gösterilmiştir. Bakterinin gerçekleştirdiği Cr (VI) indirgeme reaksiyonunun optimal olarak 37 °C ve pH 7'de gerçekleştiği bildirilmiştir. Bunlara ek olarak krom miktarı arttıkça gerçekleşen indirgeme reaksiyonu hızında arttığı ve 721 µg/mL konsantrasyonundaki krom miktarını 96 saat içinde tamamen giderebildiği yapılmış olan deneyler ile ortaya çıkartılmıştır.

Caravelli vd. (2008)'nın yaptıkları çalışmada aktif çamur arıtma sistemlerinde bulunan ipliksi bir bakteri türü olan *Sphaerotilus natans*'ın Cr (VI)'yı indirgeyebilme yeteneği araştırılmıştır. Yapılan deneylerde *Sphaerotilus natans*'ın aerobik koşullarda Cr (VI) ve Cr (III)'ü 80 mg/L'ye kadar etkili bir şekilde indirgeyebildiği ortaya çıkartılmıştır ve

bu sonuçlar *Sphaerotilus natans*' in atık sulardaki kontaminasyonu gidermek için önemli bir potansiyel gösterebileceğini ortaya koymuştur.

Polti vd. (2010)'ın yaptıkları araştırmada, daha önceki çalışmalarında Cr (VI)'ya dayanıklı olan *Streptomyces* sp. MC1'in sentetik ortamda ve toprak örneklerinde bulunan Cr (VI)'yı Cr (III)'e indirgeyebildiği gösterilmiştir. Bu çalışmada ise Cr (VI)'nın *in vitro* koşullarda indirgenebilmesi için gerekli olan optimal pH, sıcaklık, büyüme evresi ve elektron kaynakları araştırılmıştır. Cr (VI) indirgenmesinin optimal olarak 30 °C ve pH 7'de kromat reduktaz enzimi tarafından gerçekleştiği ve bu enzimin supernatant, pellet ve hücre içermeyen özüt bulunduğu gösterilmiştir.

Arias ve Tebo (2003)'ün yaptığı çalışmada bir sulfidojenik ve iki asulfidojenik bakteri kolonisi arasındaki Cr (VI) indirgenmesi sırasındaki indirgenme hızı, miktarı ve büyüme hızı arasındaki ilişki araştırılmıştır. Yapılan deneylerin sonuçlarına dayanılarak üç bakteri kolonisinde Cr (VI)'yı tamamen indirgeyebildikleri ancak hücre bölünmelerinin engellendiği ortaya çıkmaktadır. Bunlara ek olarak ise sülfür indirgeyebilen bakteri türünün Cr (VI)'nın toksik etkilerine karşı daha hassas ve duyarlı olduğu ortaya konulmuştur.

Deinococcus radiodurans radyasyona karşı son derece dayanıklı olan bir bakteri türüdür ve Fredikson vd. (2000)'nın yaptığı çalışmada laktat içeren anaerobik kültür kondisyonlarında *Deinococcus radiodurans*'ın Cr (VI)'yı direkt olarak indirgeyebildiği ve bu indirgeme hızının ortamda anthraquinone-2,6-disulfonate maddesi bulunduğu zamanda daha çok arttığı gösterilmiştir.

Zahoor ve Rehman (2009)'ın yaptıkları çalışmanın amacı ise *Bacillus* sp. JDM-2-1 ve *Staphylococcus capitis* bakteri türlerinin toksik bir madde olan Cr (VI)'yı daha az toksik bir madde olan Cr (III)'e indirgeyebilme kapasitelerinin araştırılmasıdır. *Bacillus* sp. JDM-2-1' in Cr (VI)'ya karşı 4800 µg/mL'ye ve *S. capitis*'in Cr (VI)'ya karşı 2800 µg/mL'ye kadar tolerans gösterebilecekleri bildirilmiştir. Bu iki mikroorganizma ayrıca bakır, civa ve nikel gibi maddelere karşı da belirli miktarlarda dayanıklılık gösterebilmektedir.

Singh ve Malaviya (2015) ise yaptıkları çalışmada, bir *Bacillus* suşunun deri sanayi atıklarında krom giderme kapasitesini test etmişlerdir. Elde ettikleri APBS5-3 izolesinin 800 ppm Cr (VI)'ya kadar dirençli olduğu ve 72 saat içerisinde % 41,8 krom giderip, giderim sonunda ortam pH' ını 8,54'ye getirebildiği gözlemlenmiştir. Benzer bir çalışmada Pandey vd. (2015) yine deri endüstrisinin atık bıraktığı arazilerde kroma dirençli bakteriler elde etmiş ve izolelerin hayli yüksek bir değer olan 600-750 mg/L krom'a kadar direnç gösterebildiğini belirtmişlerdir.

Dolayısıyla, bakterilerin ve bazı bitkilerin toksik bir madde olan Cr (VI)'yı daha az toksik özellikler gösteren Cr (III)'e indirgeyebilme kapasitesine sahip oldukları gözlemlenmiştir. İzolasyon çalışmalarının yanı sıra, bu amaç doğrultusunda genetik ve protein mühendisliği kullanılarak uygun enzimleri üretebilen gelişmiş bakteriler üretilmeye çalışılmaktadır ve bu şekilde bakterilerin doğal Cr (VI) giderim kapasiteleri de arttırılmaktadır. Örneğin Ackerley vd. (2004) tarafından yapılan bir çalışmada, iki saf çözülebilen bakteri flavoproteininin, ChrR (*Pseudomonas putida*) and YieF (*Escherichia coli*) kromat redüktaz aktivitesine sahip olup olmadıkları araştırılmıştır ve bu genlerin krom giderimine yardım edebilecekleri öne sürülmüştür.

2.2.1.3.2 Adsorpsiyon izotermi

Katı maddelerin, elektriksel ve kimyâsal özelliklerine göre, gazları veya çözünmüş maddeleri yüzeylerine çekerek birkaç molekül kalınlığındaki tabakalar hâlinde tutması olayı “adsorpsiyon” veya “yüzeyde tutma” olarak da bilinir. Birikim gösteren maddeye adsorbat, adsorplayan maddeye adsorban veya adsorbent denir. Adsorpsiyon, adsorbent yüzeyinde biriken madde derişimi ve çözeltide kalan madde derişimi arasında bir denge oluşuncaya kadar devam eder. Adsorpsiyon, atık arıtımında çevre dostu olması ve ekonomik olması ile tercih edilen ileri bir arıtım yöntemidir (Sawyer vd.1978).

Adsorpsiyon dengesini belirtmek için, sabit sıcaklıkta çözeltide dengede kalan çözünen derişimine karşı adsorbentin birim ağırlığında adsorbe edilen çözünen miktarının derişimi izlenerek adsorpsiyon izotermi adı verilen eğriler elde edilir. Yıllar geçtikçe, geniş çeşitlikte denge izoterm modelleri (Langmuir, Freundlich, Brunauer–Emmett–

Teller, Redlich–Peterson, Dubinin–Radushkevich, Temkin, Toth, Koble–Corrigan, Sips, Khan, Hill, Flory–Huggins ve Radke–Prausnitz izotermi gibi) geliştirilmiştir (Malek ve Farooq 1996). Bu izotermi her biri, malzemenin üzerinde adsorbatın nasıl dağıldığı, adsorbatın birden fazla tabaka halinde emilip emilmediği, emilen noktaların termodinamik olarak birbirine eşit olup olmadığı ve malzemenin çözünmüş adsorbat konsantrasyonuna nazaran ne kadar giderim yapabildiği gibi faktörler hakkında varsayımlar yapmaktadır. Dolayısıyla herhangi bir adsorpsiyon olgusu hakkında doğru tahminler yapılabilmesi için, bu adsorpsiyon için varsayımların doğru olduğu bir izoterm seçilmelidir.

Yaygın olarak kullanılan bazı izotermi ve formülleri şu şekilde listelenebilir:

2.2.1.3.2.1 Langmuir izotermi

Tek tabaka adsorpsiyonu için uyarlanmış olan Langmuir izotermi basit ve en çok kullanılan adsorpsiyon modellerinden biridir. Bu izotermin tutarlı olması için gereken varsayımlar şunlardır:

- a. Adsorban katı yüzeyi tek tabaka halindedir, adsorbat kendi üzerine bağlanarak birden fazla tabaka oluşturmaz.
- b. Katı yüzeyinin her yeri aynı aktivite ile adsorbat molekülle kaplanır. Yani adsorbanın tüm yüzey gözenekleri eşit miktarda adsorban molekülünü kabul eder.
- c. Tüm adsorpsiyon alanları adsorbat iyonlarına karşı eşit miktarda çekim uygular ve adsorbe olan bir molekül bitişik alandaki bir başka molekülle herhangi bir etkileşim içinde olamaz. Yani bir molekülün gözeneğe bağlanması, komşu gözeneğin bir molekül tarafından doldurulup doldurulmadığından bağımsızdır.

Langmuir izoterminde adsorpsiyon, adsorbat başlangıç konsantrasyonu ile birlikte lineer olarak artar ve maksimum doyma noktasında, yüzey tek tabaka kaplanmakta, yüzeye

adsorbe olmuş adsorbat miktarı sabit kalmaktadır. Bu izotermde adsorpsiyon enerjisi üniformdur. Adsorpsiyon hızı adsorbat konsantrasyonu ve yüzey üzerinde bulunan aktif yerler ile doğru orantılıdır. Desorpsiyon hızı ise yüzeyde adsorplanmış adsorbat miktarı ile doğru orantılıdır (Hatay 2006).

Bu varsayımların doğru olması halinde kullanılacak olan Langmuir izotermi, şu formülle ifade edilir:

$$Q = Q_{\max} b C_e / (1 + b C_e)$$

Burada Q reaksiyon dengeye geldiği zamanda emilen malzeme miktarını, $Q_{\max}$ emilebilecek maksimum malzeme miktarını, C_e reaksiyon denge durumundayken çözeltide kalan (adsorbe edilmeyen) malzeme miktarını, b ise de Langmuir sabitini belirtmektedir. Ayrıca kısmen doğrusal, kısmen de Langmuir modeline uygun davranış sergileyen malzemeler için birleşik bir izoterm kullanılabilir, bu izoterm ise şu şekilde yazılır:

$$Q = Q_{\max} b C_e / (1 + b C_e) + K_p C_e$$

Burada K_p Henry sabitidir.

2.2.1.3.2.2 Freundlich izotermi

Freundlich adsorpsiyon izotermi, Langmuir izoterminden daha karmaşık adsorpsiyon olguları için uygun bir izotermidir. Freundlich izotermine göre bir adsorbanın yüzeyi üzerinde bulunan adsorpsiyon alanları birbirinden farklılık göstermektedir ve çoklu tabaka oluşturabilir. Dolayısıyla kendi üstüne bağlanan veya adsorbat üzerinde birden fazla aktif grupla etkileşim gösteren adsorpsiyonlarda kullanılabilir.

Freundlich izoterminin matematiksel ifadesi;

$$Q = k C_e^{(1/n)}$$

Burada Q reaksiyon dengeye geldiği zamanda emilen malzeme miktarını, C_e reaksiyon denge durumundayken çözeltide kalan (adsorbe edilmeyen) malzeme miktarını, k ve n ise Freundlich sabitlerini göstermektedir. Bu bağıntı aynı zamanda da;

$$\ln(Q) = \ln(k) + 1/(n \ln(C_e))$$

Şeklinde gösterilebilir ve $\ln(Q)$ ile $\ln(C_e)$ arasında bir grafik çizilirse, bir doğru elde edilir. Bu doğrunun y eksenini kestiği noktadan $\ln k$, doğrunun eğiminden de n sabiti bulunabilir (Pekin B. 1996) Aynı zamanda da, Langmuir izoterminde olduğu gibi Freundlich izoterminde de doğrusal bir etkenin olup olmadığı şu formül ile test edilebilir:

$$Q = k C_e^{(1/n)} + K_p C_e$$

Burada K_p Henry sabitidir.

2.2.1.3.2.3 Toth izotermi

Toth izotermi, yine Langmuir izoterminin tahmin gücünü arttırmak ve termodinamik olarak eşit olmayan bağlantı noktaları varlığında hesabı kolaylaştırmak için tasarlanmış bir izotermdir ve şu formülle ifade edilir:

$$Q = Q_{max} b C_e / (1 + b C_e^n)^{1/n}$$

Burada Q reaksiyon dengeye geldiği zamanda emilen malzeme miktarını, Q_{max} emilebilecek maksimum malzeme miktarını, C_e reaksiyon denge durumundayken çözeltide kalan (adsorbe edilmeyen) malzeme miktarını, b Langmuir sabitini, t ise Toth sabitini belirtmektedir. Formülün Langmuir izoterminden tek farkı, Toth sabitinin

getirilmesidir. Eğer yüzeydeki her nokta termodinamik olarak eşitse, $n = 1$ olacağından Toth izotermi, Langmuir izoterminde indirgenmektedir.

2.2.1.3.2.4 Genel Langmuir-Freundlich izotermi

Bu izoterm, yine bağlanma enerji olarak heterojen yüzeylerde adsorpsiyonu göstermek için kullanılmaktadır ve eğer giderim homojense Langmuir izoterminde indirgenir, Freundlich izotermi ise genel L-F izoterminin özel bir durumudur. Genel Langmuir-Freundlich izotermi şu şekilde ifade edilir:

$$Q = Q_{\max}(bCe)^{1/n}/1+(bCe)^{1/n}$$

Burada Q reaksiyon dengeye geldiği zamanda emilen malzeme miktarını, $Q_{\max}$ emilebilecek maksimum malzeme miktarını, Ce reaksiyon denge durumundayken çözeltide kalan (emilmeyen) malzeme miktarını, b Langmuir sabitini, n genel Langmuir-Freundlich üssünü göstermektedir. Toth izotermindeki gibi, eğer yüzeyin her noktası termodinamik olarak eşitse $n = 1$ 'dir ve eşitlik Langmuir izoterminde dönüşecektir. Eğer Langmuir sabiti $b = 0$ ise de, bölen birim eleneceği için eşitlik Freundlich izoterminde indirgenir.

2.2.1.3.2.5 BET izotermi

BET izotermi genelde porlu yapılarda gaz giderimini ölçmek için kullanılır ve birden fazla tabakanın giderimini ölçmek için uygundur. Langmuir izoterminden türetilmiştir ve şu şekilde ifade edilir:

$$Q = Q_{\max}bCe/(S - Ce) [1 + (b - 1)(Ce/S)]$$

Burada Q reaksiyon dengeye geldiği zamanda emilen malzeme miktarını, $Q_{\max}$ emilebilecek maksimum malzeme miktarını, Ce reaksiyon denge durumundayken çözeltide kalan (adsorbe edilmeyen) malzeme miktarını, S malzemenin çözünürlüğünü

ve b Langmuir sabitini göstermektedir. Eğer S, Ce'den çok büyükse (yani denge durumunda emilmeyen malzeme miktarı az, solüsyonun çözebileceği malzeme miktarı ise çoksa), bu eşitlik Langmuir eşitliğine indirgenir.

2.3 Organizmalardaki Cr (VI) Direnci

Hücresinin indirgeme kapasitesinin artırılması, demir ve sülfür metabolizmalarının düşürülmesi, proteinlerin oksitlenmeye karşı korunması, DNA onarım mekanizmalarının aktivasyonu, kromun aktif olarak dışarı pompalanması ve krom detoksifikasyonu, Cr (VI) varlığında hücrenin alabileceği koruyucu taktiklerden bazılarıdır. Ancak bu etkilerin sadece tek bir tanesi (örneğin ChrA kromat pompasının varlığı) bir organizmanın krom direncini saptamada yetersiz kalabilir. Genel olarak kromun detoksifikasyonu, Cr (VI)'yi Cr (III)'e indirgeyerek yapılır, bunu yapan enzimler bakterilerde ve mantarlarda yaygındır. Cr (VI)'nın toksik etkisinin ise son yıllarda maya üzerinde yapılan deneylerde protein bazlı olduğu, cevap mekanizmalarının da protein üretimine bağlı olduğu gözlenmiştir.

Cr (VI), sülfatın kimyasal yapısına olan benzerliğinden dolayı sülfat iyon yolunu kullanarak hücre membranından kolayca geçtiği için (Ramiez-Diaz vd. 2008) Cr (III)'den 1000 kat daha toksiktir. Hücre içerisine giren Cr (VI), enzimatik olan ve olmayan bazı reaksiyonlar tarafından çeşitli toksik ara metabolitlerin oluşmasına sebep olur ve oluşan bu ara metabolitler toksik etkilere ve DNA üzerinde direkt değişikliklere sebep olmaktadır. (Viti ve Giovannetti 2007, Shi ve Dalal 1990, Zhitkovich 2011).

Cr (VI) hücre içi indirgeyiciler tarafından (askorbik asit, glutatyon, flavo enzimler) indirgenerek hücre içinde Cr (V), Cr (VI) (Bose vd. 1992, Suzuki vd. 1992, Kalabegishvili vd. 2003) ve son ürün olarak Cr (III) oluşur (Ortega vd. 2005, Kanmani vd. 2012). Cr (III) DNA replikasyonunu etkiler, mutasyonlara sebep olur, enzimlerin yapısını ve aktivitesini karboksil ve tiyol gruplarına reaksiyona girerek değiştirir (Cervantes vd. 2001, Sobol ve Schiestl 2012). Krom ürünleri, DNA zincir kırıkları, DNA-protein, DNA-DNA çapraz bağları gibi birçok genetik hasara sebep olur (Salnikow ve Zhitkovich 2008, Reynolds vd. 2009). Cr (IV) ayrıca hücresel

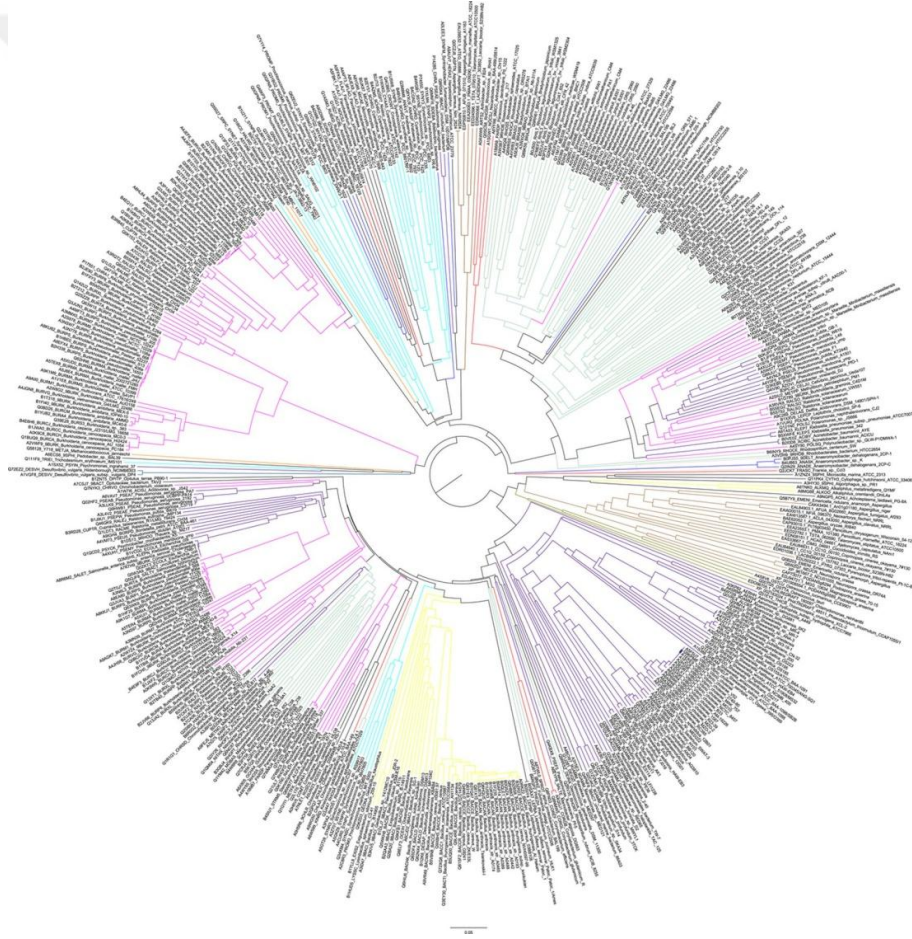
metabolitlere bağlanarak, fizyolojik fonksiyonlarını engeller (Sumner vd. 2005, Kanmani vd. 2012).

Cr (VI) ile kirletilmiş ortamlarda yaşayan mikroorganizmalar, yaşamlarının devamı için kromun negative etkilerini nötralize edecek mekanizmalar geliştirmiştir (Morais vd. 2011) Yapılan birçok çalışma böyle mikroorganizmaların var olduğunu kanıtlamaktadır (McLean ve Beveridge 2001). Mikroorganizmalar tarafından geliştirilen bu direnç mekanizmaların kromozomal ve plazmit kaynaklı olduğu gösterilmiştir (Ramirez-Diaz vd. 2008-2011, Caballero-Flores vd. 2012). Bu direnç mekanizmaları ve detoksifikasyonlar, kromat iyonlarının hücre sitoplazmasından dışarıya atılması ve hücre dışında Cr (VI)'nın Cr(III)'e indirgenmesi şeklinde açıklanmıştır (Ramirez-Diaz vd. 2008- 2011, Caballero Flores vd. 2012). Ağır metal varlığında strese girerek mutasyona uğrayan mutant tip mikroorganizmaların, mutasyon barındırmayan yaban tip mikroorganizmalarla genomik düzeyde karşılaştırılması ile hangi genin hangi mekanizmadan sorumlu olduğunu ve bu mekanizmaları etkileyen faktörler ortaya çıkartılmıştır.

Krom, canlı bünyesinden tamamen atılma, aktif olmayan hücre veya doku kısımlarında depo edilme ve heksavalen formdan trivalen forma indirgenme şeklinde üç yöntemle vücuttan atılabilir. Bu işlevleri gören proteinler, kromu hücrenin dışarısına atmaya sağlayan krom transporterlar ve indirgeme sırasında oluşan reaktif oksijen türlerini ortadan kaldıran süperoksit dismutazlar, peroksidazlar ve katalazlardır. Dolayısıyla kroma maruz kalmış bitki ve hayvanlarda bu enzimlerin aktivitesi genellikle artmaktadır ve bu enzimlerin konsantrasyonları toksisite deneylerinde sıklıkla metal bazlı oksidatif stresinin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır. Ancak her dokuda ve her organizmada kroma karşı tepki farklı olduğu için, herhangi bir çalışmada bu enzimlerin sadece bir kısmının arttığı gözlemlenmektedir.

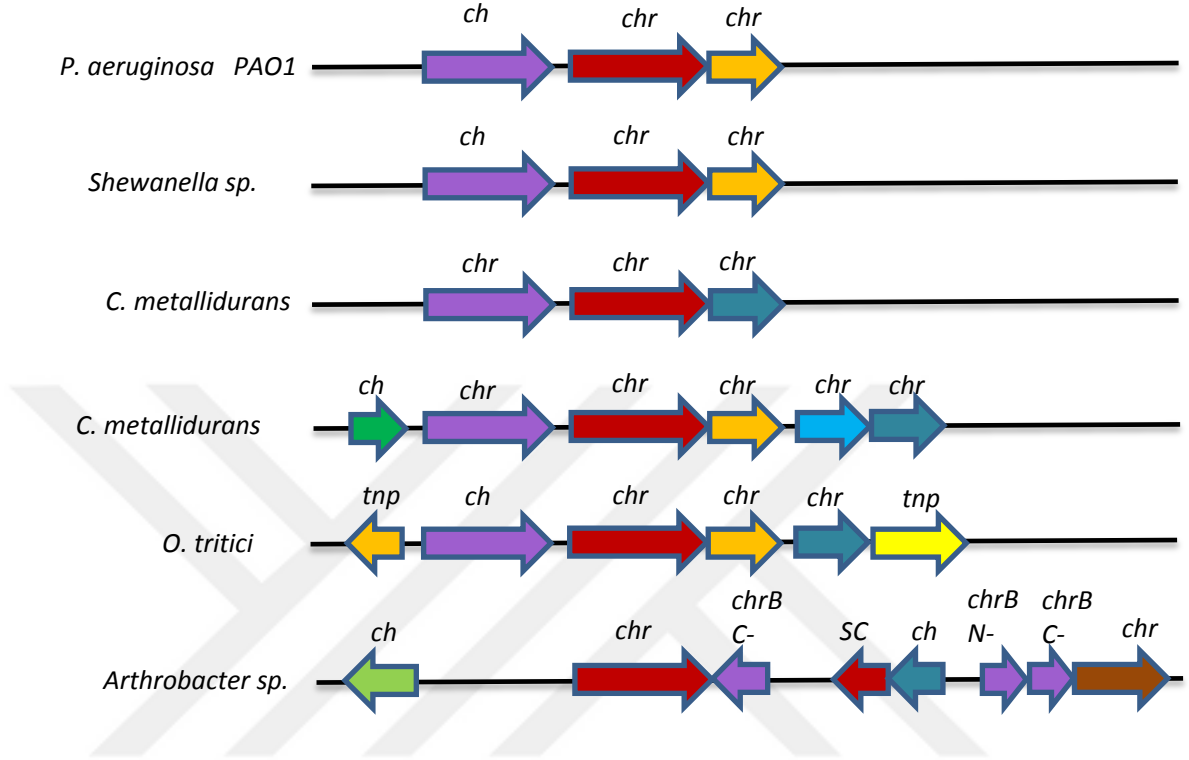
Krom iyon transport süper ailesini içeren genetik yapıya sahip olan arkelerde, bakterilerde ve ökaryotlarda da kromat direnci görülmektedir (Ramirez-Diaz vd. 2008). Genel olarak kromat direnci *chrA* genini içerir ve bu genin membrandan kromat akışını sağlayan proteinlerin sentezlenmesinden sorumlu olduğu kabul edilmektedir (Pimental

vd. 2002). *chrA* proteini ayrıntılı olarak *P. aeruginosa*, *Cupriavidus metallidurans* ve *Shewanella* sp. türlerinde karakterize edilmiştir (Cervantes vd. 1990, Nies vd. 1990, Aguilar-Barajas vd. 2008). ANA3 ve çok sayıda *chrA* homologları (Şekil 2.3) tespit edilmiştir. *ChrA* geninin aktivasyonu sayesinde mikroorganizmalar 0,35 mM ile 200 mM Cr (VI) konsantrasyonuna direnç gösterebilmektedirler (Juhnke vd. 2002, Henne vd. 2009, Baylar vd. 2011). Bununla birlikte *chrA* geni Cr (VI)'ya gösterilen dirençte tek başına rol oynamaktadır. Diğer metal direnç sistemlerinde olduğu gibi, *chrA* geni, organizmalarda belirli bir konsantrasyonun altındaki Cr (VI) korumasına yardımcı olmaktadır.



Şekil 2.3 513 *chrA* kromat iyon transport sekansının CLUSTALX kullanılarak oluşturulmuş dairesel filogenetik ağacı (Henne vd. 2009)

Bakterilerde *chrA* geni kromozomda, plazmitte veya ikisinde birden (Juhnke vd. 2002) diğer chr genleri ile birlikte genellikle aynı operonlarda bulunmaktadır.



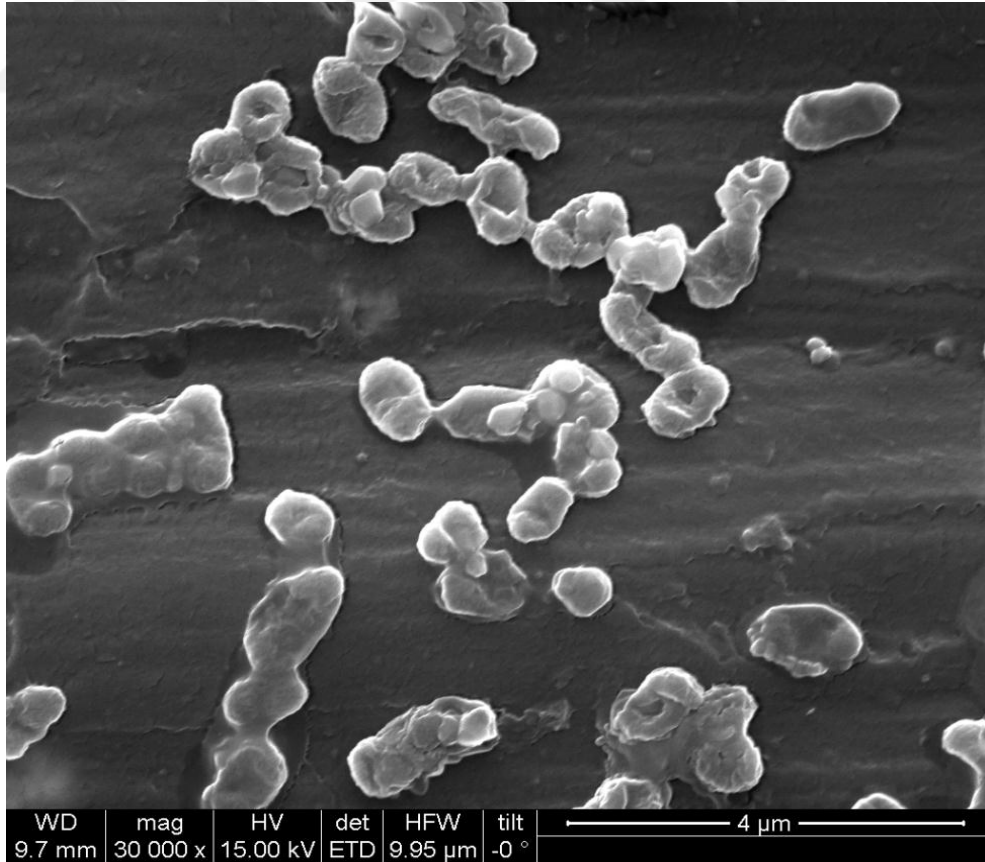
Şekil 2.4 “Omik” yaklaşımlar ile analiz edilmiş *chr* genlerinin bölgesel genomik içeriğini anlatan şematik gösterim (Henne vd. 2009)

Şekil 2.4’de de görüldüğü üzere farklı mikroorganizmalarda kromat dirençliliği ile ilgili farklı gen kümeleri farklı plazmitler üzerinde bulunmaktadır. Farklı organizmalarda bulunan gen kümesi ortologları veya gen homologları kromat dirençliliğinde tamamen aynı ya da benzer işlevler göstermektedir. Örneğin, *C. metallidurans*’da *chr* gen kümesi ağır metallerle karşı direnç sağlayan bu genler pMOL28 plazmitinde yer alırken, *O. tritici*’de ise 5bv11 plazmitinde yer almaktadır (Branco vd. 2008). Her iki mikroorganizmada *chrA* geni kromat transpotunda doğrudan görev almasa da diğer *chr* genlerinin fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev aldığı düşünülmektedir. Fakat yapılan çalışmalarda *chrB* geni *O. tritici*’de *chr* operonları için krom hassas regülatör işlevi görerek Cr (VI)’ya özel olduğu gösterilirken (Branco vd. 2008), aynı gen *C. metallidurans*’da Cr(III), Cr (VI) ve sülfat grupları tarafından aktive edilmektedir (Peitzsch vd.1998, Juhnke vd. 2002). *Alcaligenes* ve *Synechococcus*’da ise *chrA*’nın,

chrB yokluğunda ortamdan krom alınmasını sağladığı, kromun azaltılabilmesi için *chrB* üretiminin gerektiği gözlemlenmiştir (Nies vd. 1998). Kromun yanı sıra, *chr* ailesi genlerinin aynı zamanda sülfat da taşıyabildikleri de bilinmektedir.

2.4 *Morganella* Cinsinin Genel Özellikleri

Morganella gram-negatif bakteri şubesinden Enterobakteriler familyasına ait bir cinstir. *Morganella*'nın bazı türlerinin U (VI) ve Cr (VI) biyoremediasyonunda kullanılabilecek adaylar olduğu literatürde gösterilmiştir (Velasquez vd. 2009, Chabalala ve Chirwa 2010). Özellikle kirli sularda görünen bu bakteri insan bağırsak florasının da bir parçasıdır. Yakın akraba olan *Proteus* ve *Providencia* gibi, hastane ortamında kontaminasyon sonucu idrar yolu enfeksiyonlarına ve bağışıklık sistemi işlev görmeyen insanlarda bağırsak sorunlarına sebep olabilir, ancak sağlıklı insanlarda hastalık kaynağı olarak görülmemektedir.



Şekil 2.5 *Morganella morganii*'nin taramalı elektron mikroskop görüntüsü (Orjinal)

Yapılan bu tezde krom kirliliğinin fazla olduğu bölgelerden kroma direnç kazanmış türlerin izole edilmesi, sınıflandırılması ve krom uzaklaştırma verimliklerinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.



3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Atık Suların Toplanması ve Saklanması

Atık su örnekleri steril, tek kullanımlık 50 ml hacminde falkon tüplere Ankara Çayı ve Çorlu Çayı'ndan alınmıştır. Ankara organize sanayi atıklarının da karıştığı bölgenin ilerisinde olan Sincan köprüsü altından Ankara Çayı örneği, Çorlu sanayi atıklarının Çorlu Çayı'na karıştığı noktadan 1 km ilerisinden de Çorlu Çayı örneği alınmıştır. Alınan örneklerin pH değerleri Merck marka strip pH kâğıtları ile ölçülmüştür. Örnekler soğuk zincirde (+4°C) taşınmıştır ve en geç iki gün içinde besiyerine mikroorganizma seçimi için ekimleri gerçekleştirilmiştir. Sahadan toplanan atık sular deney bitimine kadar +4 °C'de saklanmıştır.

3.2 Bakteri İzolasyonu

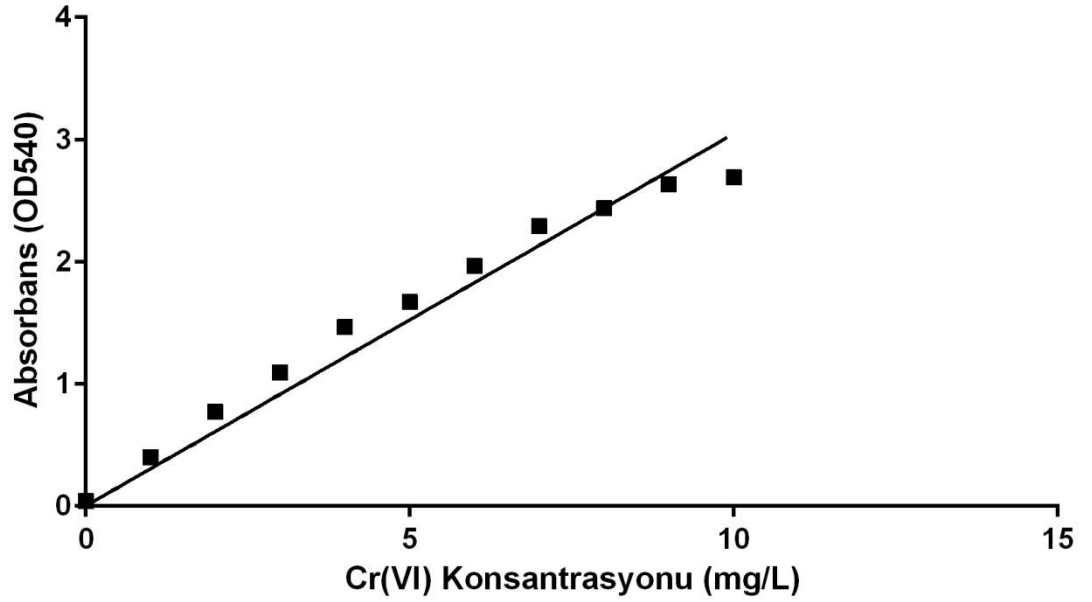
Laboratuvara getirilen atık su örneklerinden, M1 sıvı besi yerine % 1 oranında ekim yapıldı. M1 besi yeri; Sigma-Aldrich (US) marka 10 g/L pepton, 2 g/L et özü, 1 g/L maya özü ve 5 g/L NaCl ile hazırlandı. Bakteri büyümesi görülen örneklerden 0, 50, 100, 150, 200, 500, 750 and 1000 mg/L Cr (VI) içeren M1 besi yerine ekim yapıldı. Besi yerinde bulunan Cr (VI) miktarı 1,5-difenilkarbazid yöntemi ile spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Bakteri büyümesi görülen kültürlerden, Cr (VI)'ya dayanıklı kolonilerin seçilebilmesi için M1 katı besi yerine yayma yapıldı ve etüvde 24 saat 30 °C'de inkübe edilmiştir.

3.3 Cr (VI) Dayanıklılık ve Giderim Kapasiteleri

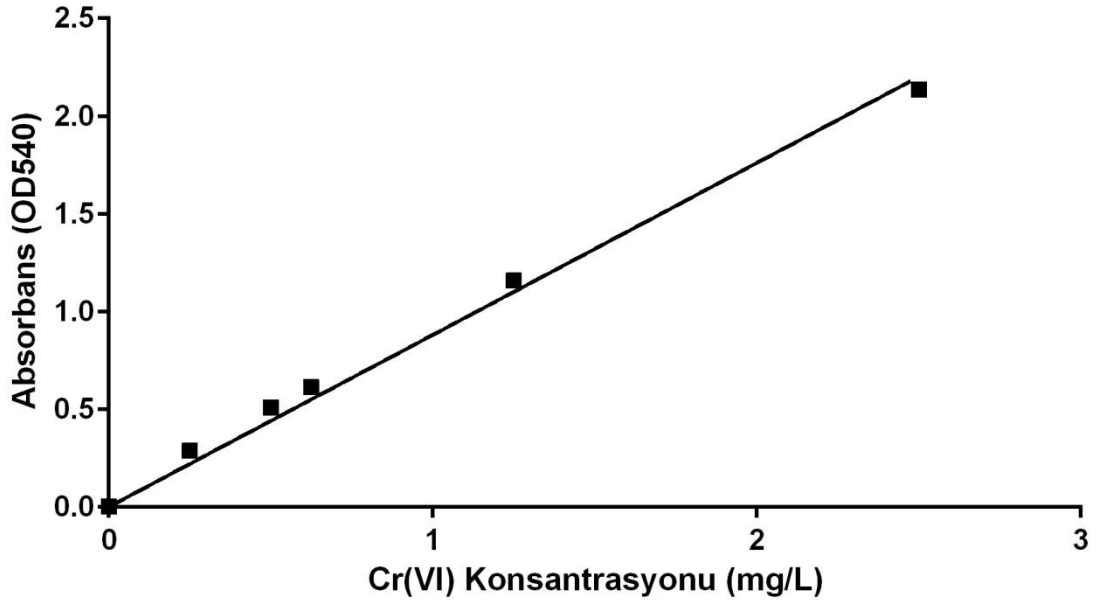
Seçilen bütün bakteri kolonileri 10, 20, 50 and 100 mg/L konsantrasyonlarda Cr (VI) ihtiva eden M1 sıvı besi yerine ekildi, kültürdeki bakteri büyümesi 0, 24, 48 ve 72 saat aralıklarında 1,5-diphenylcarbazide, EPA +6 yüklü krom protokolü takip edilerek spektrofotometrede 540 nm dalga boyunda analiz edildi (EPA method 7196a). Bu metoda göre Cr (VI)'nın analizi, sülfürik asit içeren ortamda difenilkarbazid ile verdiği

renkli komplekslerden yararlanılarak spektrofotometrik yöntemle yapılmıştır. Reaksiyonda kullanılan difenilkarbazid solüsyonu 0,25 g difenilkarbazidin 100 ml asetonunda çözülmesi ile hazırlanmıştır. Örnekler 100 kez seyreltilerek ölçüme hazırlandı ve deneylerin analizinde kullandığımız standart eğri grafiği konsantrasyonu bilinen 0 – 2,5 mg/L Cr (VI) aralığındaki örneklerden hazırlanmıştır (Şekil 3.1-3.2). Bu konsantrasyon aralığı yüksek linearite gösterildiği için seçilmiştir ve OD540 – Cr (VI) konsantrasyon dönüştürüm formülü bu aralıkta aşağıdaki gibi hesaplanmıştır;

$$\text{Cr (VI) konsantrasyonu (mg/L)} = \text{OD540}/0.88$$



Şekil 3.1 Mikroplaka okuyucu kullanılarak yapılan krom absorbans kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.2 Küvet spektrofotometresi kullanılarak yapılan krom giderim kalibrasyon eğrisi

Besi ortamı dışarıdan eklenen krom haricinde Cr (VI) bulundurmadağı için, 0. saatteki krom ölçümü ortamda bulunan toplam krom olarak alınmıştır. Belirli zaman aralıklarında ölçülen Cr (VI) konsantrasyonları, 0. saatteki krom miktarından çıkarılarak Cr (III)'e indirgenen krom miktarı tespit edilmiştir, öyle ki V hacmindeki bir ortamda, 0. saatteki Cr (VI) miktarı Cr (VI) 0 ve t zamanındaki Cr (VI) miktarı Cr (VI)t olarak alındığında, emilen Cr (VI) miktarı aşağıdaki formülle bulunabilir:

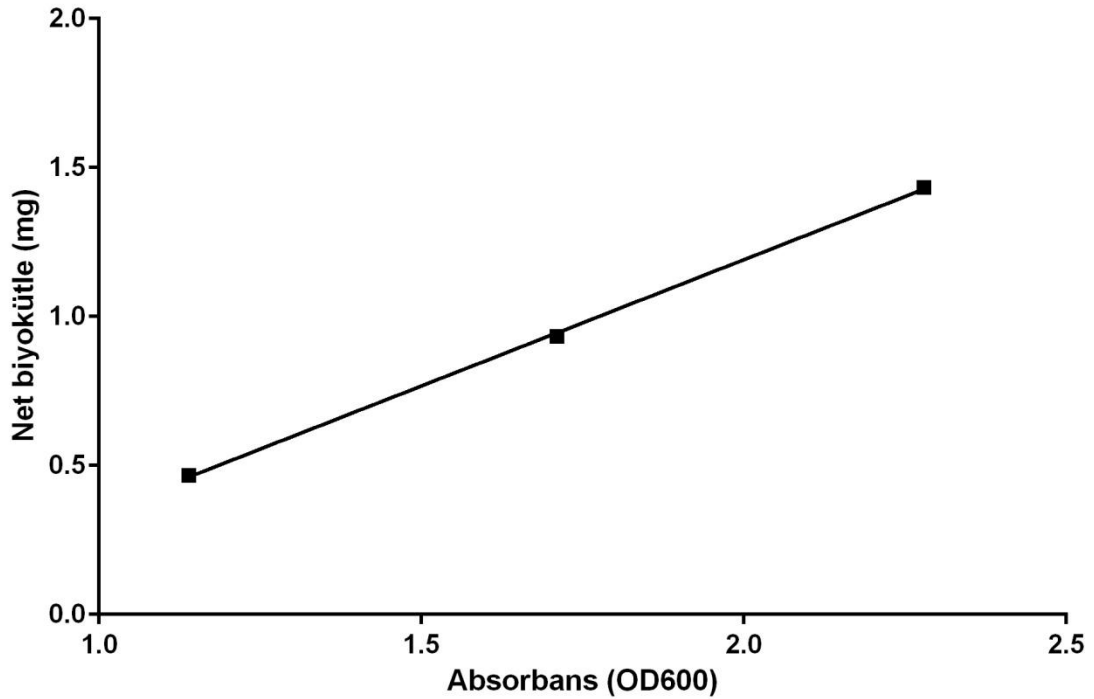
$$\text{Emilen Cr (VI)} = (\text{Cr (VI)}_0 - \text{Cr (VI)}_t) \cdot V$$

Ölçülmeyen bütün Cr (VI) miktarının Cr (III)'e indirgenmiş olduğu doğrultusundaki varsayımımız, bakteri hücre zarlarının Branson 2510 Ultrasonic Cleaner (Branson Ultrasonics, US) sonikatör tarafından parçalanması ve sonrasında yukarıda belirtilen yöntem ile Cr (VI) miktarlarının ölçülmesi ile kanıtlanmıştır. Sonikasyondan önce ve sonra önemli bir değişim gözlenmemiştir, dolayısıyla bakterilerin indirgenmemiş Cr (VI) miktarlarının gözlenemeyecek duruma getirecek bir mekanizmaya (örneğin hücre içi depolama) sahip olmadığı ve tüm miktar azalmalarının Cr (VI) indirgemesine bağlanabileceği gösterilmiştir. Cr (II), Cr(IV) ve Cr(V) biyolojik ortamlarda stabil

olmadığı için, Cr (VI)'nin tamamen Cr (III)'e indirgendiği varsayılmıştır.

OD600 değerlerini bakteri kuru ağırlığına çevirecek bir formül, gece aşırı büyütülmüş, OD600 değerleri bilinen bakteri kültürlerini seri olarak seyreltip, fırında kurutup, ağırlıkları ölçülerek bulunmuştur (Şekil 3.3). Seçilen bakteri koloni örnekleri için kullanılan formül aşağıdaki gibidir:

$$\text{Kuru ağırlık (g/L)} = 0.979 \cdot \text{OD600} - 0.304$$



Şekil 3.3 Biyokütle ile OD600 arasındaki ilişkiyi hesaplayan ölçüm analizi

Bu formül araştırmalar süresinde Cr (VI) giderim kapasitelerini gram kuru bakteri tarafınca emilen veya indirgenen mg Cr (VI) olarak hesaplamada kullanılmıştır.

3.4 Cr (VI) Giderim Kapasitesi

Cr (VI) bulunan besi yerinde yaşayabilen bakterilerin, 72 saat içinde ortamda bulunan

Cr (VI)'nın ne kadarını indirgediği ölçülmüştür (EPA method 7196a). Aynı zamanda da emilen krom miktarının literatürde bulunan diğer Cr (VI) giderici bakteriler, bitkiler ve biyokütleler ile karşılaştırılması yapılmıştır. Genel olarak, canlı hücrelerin giderim kapasiteleri 50 mg Cr (VI)/g biyokütle ve daha aşağısında olduğu, ancak asitle muamele sonrasında bu rakamın 300 mg/g ve daha yükseğe çıktığı gözlenmiştir. Benzer bir şekilde, pH 7'de ve 37 °C'de giderim düşükken, pH 2'de ve daha yüksek sıcaklıklarda giderimin dikkate değer bir şekilde artmaktadır. Ancak sürdürülebilir bir giderim sadece canlı bakteriler tarafından yapılabileceği için, çalışmada hem canlı bakteri biyokütlesi, hem de hidroklorik asitle muamele edilmiş ölü biyokütle kullanılmıştır.

3.5 Cr (VI) Giderimi İdeal İzolatın 16S rRNA Sekanslamasıyla Tanımlanması

En yüksek miktarda Cr (VI) giderimi sağlayan STB5 olarak adlandırdığımız koloni tür tayini için, 16sRNA sekans yöntemi ile analiz edilmiştir. M1 katı besi yerinden saf olarak elde ettiğimiz koloniden, DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Germany) kiti ile bakteri DNA izolasyonu yapıldı. İzolasyon sonrasında elde edilen bakteri DNA'sı PZR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılmıştır. Bu reaksiyon 50 µL hacim içinde 25 U Taq polimeraz, 0,2 mM dNTP, 0,4 pmol 27-Forward and 1492-Reverse primerler, 1,5 mM MgCl and 1x Taq tampon kullanılarak hazırlanmıştır. PZR deneyi ilk denatürasyon 96 °C'de 5 dk, 30 tekrar denatürasyon 96 °C'de 30 sn, primer yapışması 55 °C'de 30 sn, uzama 72 °C'de 30 sn, and son uzama 72 °C'de 5 dk olacak şekilde optimize edilmiştir. PZR reaksiyonundan elde edilen DNA ürünü BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing (Applied Biosystems, US) kiti kullanarak sekans PZR'ı yapılmıştır. Sekans PZR ürünü 3130 XL Genetic Analyzer (ABI) cihazı kullanılarak nükleotid dizileri belirlendi ve eldilen sekans dizisi bakteri türünün belirlenmesi için internet ortamında BLAST programı kullanılmıştır (Martins vd. 2010, Edgar 2004)

3.6 Cr (VI)'nın STB5 Bakterisi ile Biyoremediasyonu

STB5 olarak adlandırdığımız bakteri türü Cr (VI) içermeyen M1 besi yerinde bir gece inkübe (105 rpm, 30 °C) edilmiştir. Elde edilen taze kültürden 20 mg/L Cr (VI) içeren M1 besi yerine %1 oranında ekim yapılmıştır. 105 rpm, 30 °C'de inkübe edilirken belli

zaman aralıklarında kültürden örnek alınarak bakteri büyümesi spektrofotometrede 600 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Aynı örnek zamanlarında besi yerinde kalan indirgenmemiş Cr (VI) miktarı 1,5-difenil karbazit yöntemi ile ölçülmüştür. Bu deneyde M1 besi yerinin kendi içinde Cr (VI) indirgeme özelliğinin olup olmadığı 20 mg/L Cr (VI) içeren M1 besi yeri diğer deney tüpleri ile birlikte 105 rpm, 30 °C’de inkübe edilerek aynı zamanlarda Cr (VI) varlığı analiz edilmiştir (EPA method 7196a). Yapılan bütün deneyler üçlü tekrarı yapılarak sonuçlandırılmıştır.

3.7 Cr (VI)’nın Asidik Ortamda STB5 Bakterisi Tarafından Biyoremediasyonu

STB5 olarak adlandırdığımız bakteri türü Cr (VI) içermeyen M1 besiyerinde bir gece inkübe (105 rpm, 30 °C) edilmiştir, daha sonra 6 M HCl ilave edilerek ortamın pH değeri 2 olarak ayarlanmıştır (asitlendirme öncesi pH = 8.0, bakteri kuru ağırlığı = 2,11±0,19 g/L). Asit eklendikten 1 saat sonra, 10,000 mg/L Cr (VI) stok çözeltiden hesaplanan miktarda STB5 içeren M1 besi yerine eklenerek 25, 50, 75 and 100 mg/L Cr (VI) konsantrasyonlar oluşturulmuştur. Hazırlanan bu örnekler 105 rpm, 30 °C’de 3 saat inkübe edilmiştir. Cr (VI) miktarı 1,5-diphenylcarbazide yöntemi ile 0.dk, 5.dk, 15.dk ve Cr (VI) konsantrasyonu sıfırlanıncaya kadar her 15 dk. bir ölçüm alınmıştır (EPA method 7196a).

3.8 FT-IR analizi (Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi)

FT-IR bir kızılötesi spektroskopi yöntemidir. Kızılötesi radyasyonu analiz edilecek olan örnekten geçirilir ve bu infrared radyasyonun bir kısmı örnek tarafından emilirken bir kısmı da doğrudan geçerek bir spekttrum elde edilir. Böylece herhangi bir bileşiğin yapısı hakkında bilgi edinilir veya bileşiğin yapısındaki değişiklikleri incelenebilir. Elde edilen IR spektrogramu ile yapıdaki bağların durumu, bağlanma yerleri, yapının aromatik veya alifatik olduğuna dair bilgi edinilebilir. STB5 bakterisinin Cr (VI) varlığında yapısal bir değişikliğin meydana gelip gelmediği, FT-IR analizi ile incelenmiştir. Bu amaçla STB5 olarak adlandırdığımız bakteri suşu Cr (VI) içermeyen ve 20 mg/L Cr (VI) içeren 50 ml M1 besi yerine %1 oranda ekilerek 105 rpm, 30 °C’de 72 saat inkübe edilmiştir. Bu besi yerlerinden 5 ml alınarak 10,000g’de 5 dk. santrifüj edilmiştir.

Santrifüj sonrasında üst faz atılarak elde edilen pellet etüvde kurutulmuş ve %1 oranında KBr ile karıştırılarak Nicolet 6700 FT-IR Spektrometre (Thermo-Scientific, US) ile analiz edilmiştir.

3.9 Taramalı Elektron Mikroskobu

STB5 olarak adlandırdığımız bakteri türü Cr (VI) içermeyen ve 20 mg/L Cr (VI) içeren 50 ml M1 besi yerine %1 oranda ekilerek 105 rpm, 30 °C’de 72 saat inkübe edilmiştir. Bu besi yerlerinden 5 ml alınarak 10,000g’de 5 dk. santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrasında üst faz atılarak elde edilen pellet SEM analizi için fiske edildi (Greif vd. 2010) ve Quanta 200 FEG taramalı electron mikroskobu (FEI Instruments, US) ile analiz edilmiştir.

3.10 Adsorpsiyon İzotermi

Düşük-pH giderim çalışmasından elde edilen veriler 7 farklı izoterm modeli (Langmuir, Langmuir-lineer, Freundlich, Freundlich-lineer, Genel Langmuir–Freundlich, Toth, Lineer) izoterm parametresi eşleştirme yazılımı olan IsoFit (Wagner vd. 2005) ile karşılaştırılmıştır. Modeller ile ilgili formüller aşağıdaki gibidir.

3.10.1 Langmuir izotermi

Langmuir modeli homojen bir yüzeye bir tek tabaka adsorpsiyonunun olduğunu varsayar ve aşağıdaki formülle açıklanır.

$$Q = Q_{max}bCe/(1 + bCe)$$

Burada Q reaksiyon dengeye geldiği zamanda emilen malzeme miktarını, Q_{max} emilebilecek maksimum malzeme miktarını, Ce reaksiyon denge durumundayken çözeltide kalan (emilmeyen) malzeme miktarını, b ise de Langmuir sabitini belirtmektedir. Ayrıca kısmen doğrusal, kısmen de Langmuir modeline uygun davranış

sergileyen malzemeler için birleşik bir izoterm kullanılabilir, bu izoterm ise şu şekilde yazılır:

$$Q = Q_{\max} b C_e / (1 + b C_e) + K_p C_e$$

Burada K_p Henry sabitidir.

3.10.2 Freundlich izotermi

Freundlich modeli temelde, heterojen yüzeylere çoklu tabaka halinde gerçekleşen absorpsiyon olayını analiz etmede daha kullanışlıdır. Aşağıdaki gibi formülize edilmiştir.

$$Q = K_f C_e^{1/m}$$

Burada K_f ve $1/m$ Freundlich sabitleridir ve adsorbent ve absorbat özelliklerine bağlıdır. Langmuir izotermine yapıldığı gibi lineer-ayırma işlemi Freundlich modeline de uygulanabilir. Ve formül aşağıdaki hale gelir.

$$Q = K_f C_e^{1/m} + K_p C_e$$

3.10.3 Genel Langmuir–Freundlich izotermi

Langmuir ve Freundlich izotermilerinin bazı özelliklerinin katkısıyla, GLF izotermi adsorbent yüzeyde lokalize olan düzensizlikleri ele alır. Ayrıca bu düzensizlikler küçük olduğunda Langmuir izotermine indirgenir. Bu oran $n \geq 1$ şeklinde ifade edilir (Tagliaferro vd. 2006). Bu model aşağıdaki gibi formülize edilmiştir.

$$Q = Q_{\max} (b C_e)^{1/n} / (1 + (b C_e)^{1/n})$$

Burada n Toth üssüdür.

3.10.4 Toth izotermi

Toth modeli quasi-Gaussian enerji dağılımını destekler ve aşağıdaki gibi formüle edilmiştir.

$$Q = Q_{\max} b C_e / (1 + (b C_e)^n)^{1/n}$$

3.10.5 Doğrusal izoterm

Bu izoterm aynı zamanda Henry izotermi olarak da bilinir ve lineer adsorpsiyon modelini destekler. Formülasyonu aşağıdaki gibidir.

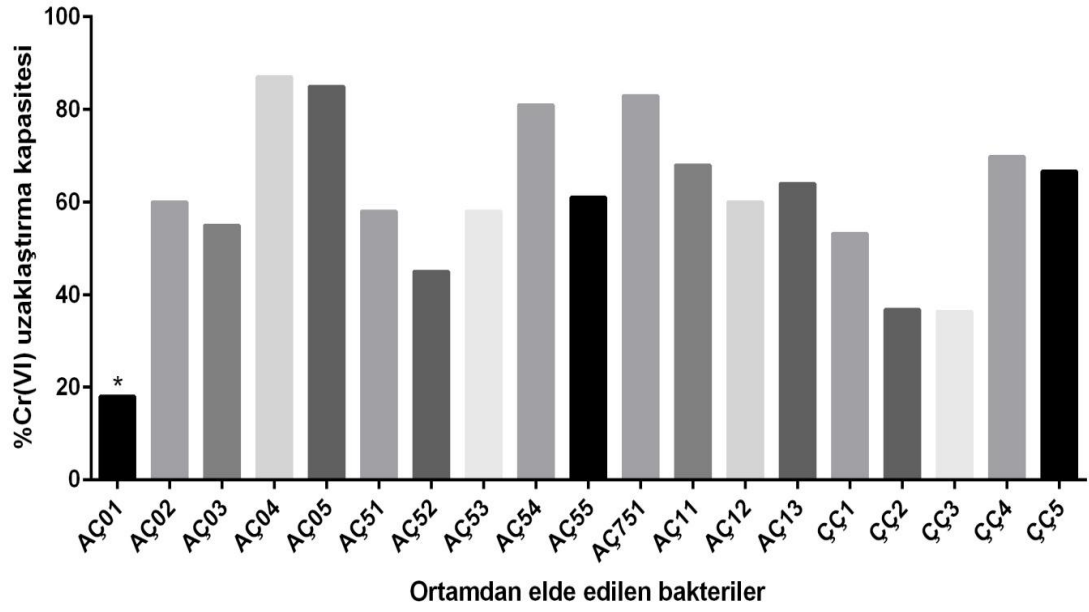
$$Q = K_p C_e$$

4. BULGULAR

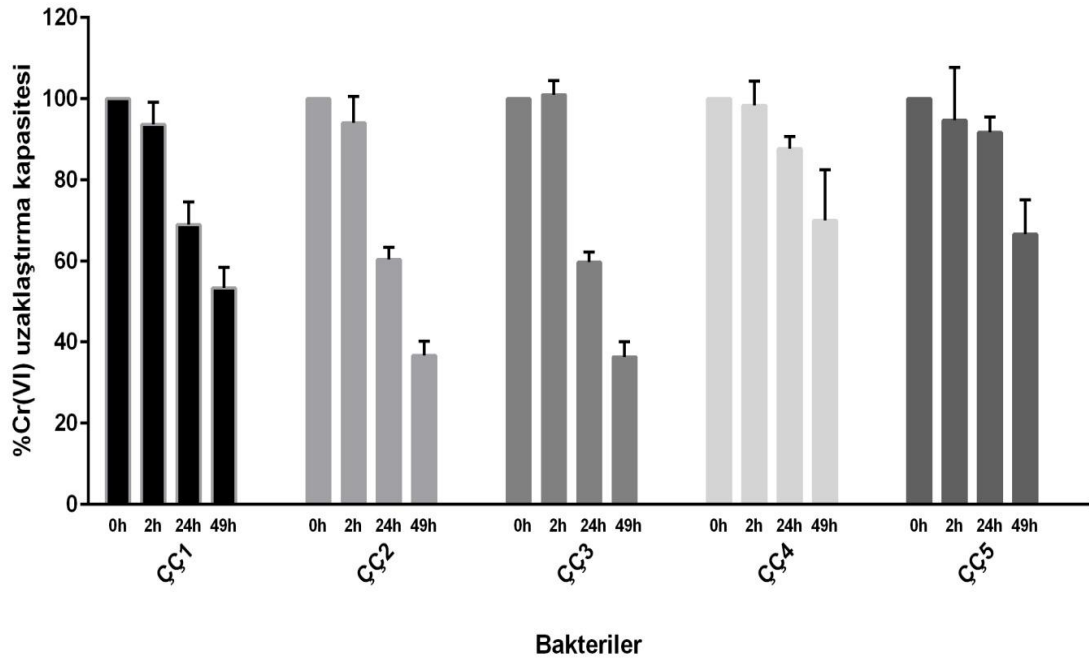
4.1 STB5 Suşunun İzolasyonu ve Karakterizasyonu

Ankara ve Çorlu çayının kirlenmiş bölgelerinden aldığımız su örneklerinden 19 bağımsız koloni elde edilmiştir. Bu bakteri kolonilerinin 14 tanesi Ankara çayından (AÇ01-751), kalan 5 tanesi ise Çorlu çayından elde edilmiştir (ÇÇ1-5). Elde edilen bakteri kolonilerine ait oldukları çayın başharfleri ile hangi Cr (VI) konsantrasyonundaki besiyerinde büyüdüler ise o konsantrasyona göre isimlendirme yapılmıştır. Örneğin Ankara Çayı'ndan, 50 mg/L Cr (VI) içeren besi yerine yapılan ekimde büyüyen bir koloni AÇ51, AÇ55 vb. olarak adlandırılmıştır.

Elde edilen bakteri kolonilerinin krom ağır metale karşı olan dayanıklılığı maksimum 1500 mg/L $K_2Cr_2O_7$ varlığında test edildi. Bulundukları ortamdaki kromu uzaklaştırma kapasiteleri ise 10 mg/L, 20 mg/L, 50 mg/L and 100 mg/L Cr (VI) analiz edildi. Bütün izoleler arasında 48 saat içerisinde görülen en yüksek Cr (VI) uzaklaştırma kapasitesi, 20 mg/L'nin %82'si idi, en fazla direnç 1000 mg/L $K_2Cr_2O_7$ için görüldü. Yapılan deneylerde Cr (VI) karşı direnç ile Cr (VI) indirgeme kapasitesi arasında doğrusal bir bağlantı saptanamadı. Seçilen koloniler üzerinde yapılan deneylerde ortamda bulunan Cr (VI)'yı en fazla uzaklaştırma kapasitesinin birinin STB5 (AÇ01) olarak adlandırılan bakteri suşuna ait olduğu görülmüştür (Şekil 4.1-4.2, Çizelge 4.1). Bu nedenle tez çalışmasında daha fazla bu bakteri üzerinde durulmuştur.



Şekil 4.1 Elde edilen izolatların 20 mg/L Cr (VI) giderim özellikleri.



Şekil 4.2 Çorlu Çayı'ndan elde edilmiş bazı bakterilerin 0, 2, 24 ve 49 saat içerisindeki detaylı krom giderim kapasiteleri

Çizelge 4.1 Elde edilen bakteri izoleleri ve krom giderim miktarları

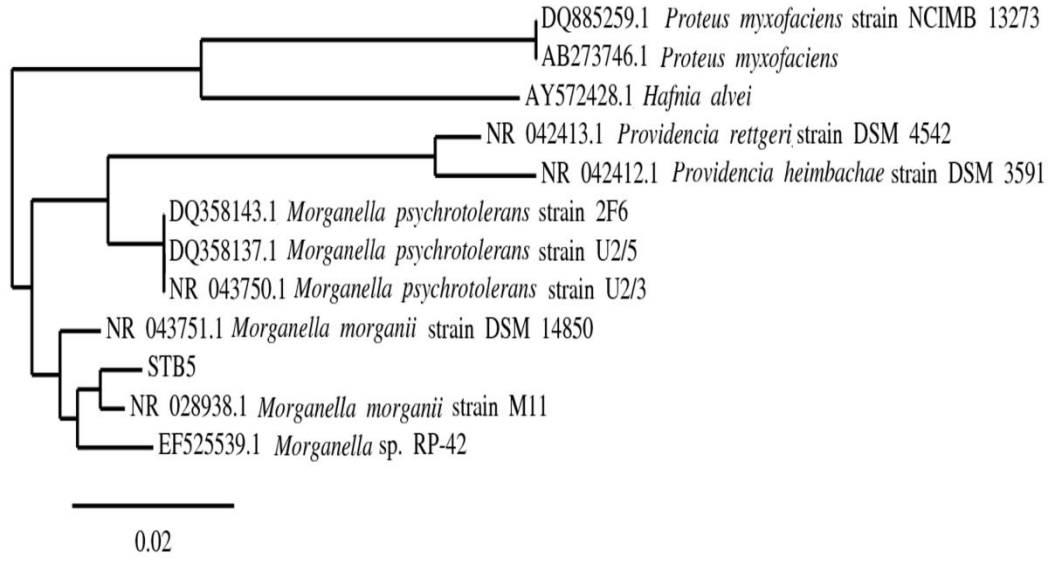
İzole	Deney başında Cr (VI)	2. Gün sonunda Cr (VI)	% giderim ölçütü
AÇ01	20	3.63	18.18
AÇ02	20.22	12.15	60.11
AÇ03	19.88	11.02	55.42
AÇ04	18.52	16.13	87.11
AÇ05	18.97	16.13	85.02
AÇ51	19.77	11.47	58.04
AÇ52	20.22	9.09	44.94
AÇ53	19.65	11.36	57.80
AÇ54	20	16.13	80.68
AÇ55	20.45	12.5	61.11
AÇ751	18.86	15.68	83.13
AÇ11	19.77	13.40	67.81
AÇ12	20	12.045	60.22
AÇ13	18.86	12.15	64.45
CC1	20.22	9.88	48.87
CC2	19.09	6.36	33.33
CC3	19.54	6.25	31.97
CC4	15.45	8.86	57.35
CC5	16.36	9.88	60.41

STB5 büyümesi aynı zamanda da pH değişimlerini beraberinde getirmiştir, 48 saat sonra pH 7.0'den 8.0'e yükselip bu süreden sonra sabit kalmıştır. Zira STB5'in izole edildiği ortamın pH'ı da 8.0'dır, dolayısıyla STB5'in kendi doğal ortamında ve diğer su kaynaklarında etkili bir şekilde büyüyeceği öngörülmüştür. STB5 hücrelerinin morfolojisi ışık mikroskopisi altında kısa çubuklar olarak gözlemlenmiştir (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2 Işık mikroskopu gözlemlerinde elde edilen suşların gösterdiği morfolojik yapılar

Suşlar	Morfolojileri
AÇ01	Çoğunlukla tekli ve küresel/kısa basiller
AÇ02	Çoğunlukla tekli ve küresel/kısa basiller
AÇ03	Basil
AÇ04	Çoklu kök
AÇ05	Basil
AÇ51	Büyük basiller (> 5µm)
AÇ52	Tekli kök
AÇ53	Büyük basiller (~5µm)
AÇ54	Çoklu kök
AÇ55	Çoklu kök
AÇ751	Çoklu kök
AÇ11	Çoğunlukla diplokök
AÇ12	Çoğunlukla diplokök
AÇ13	Çoğunlukla diplokök

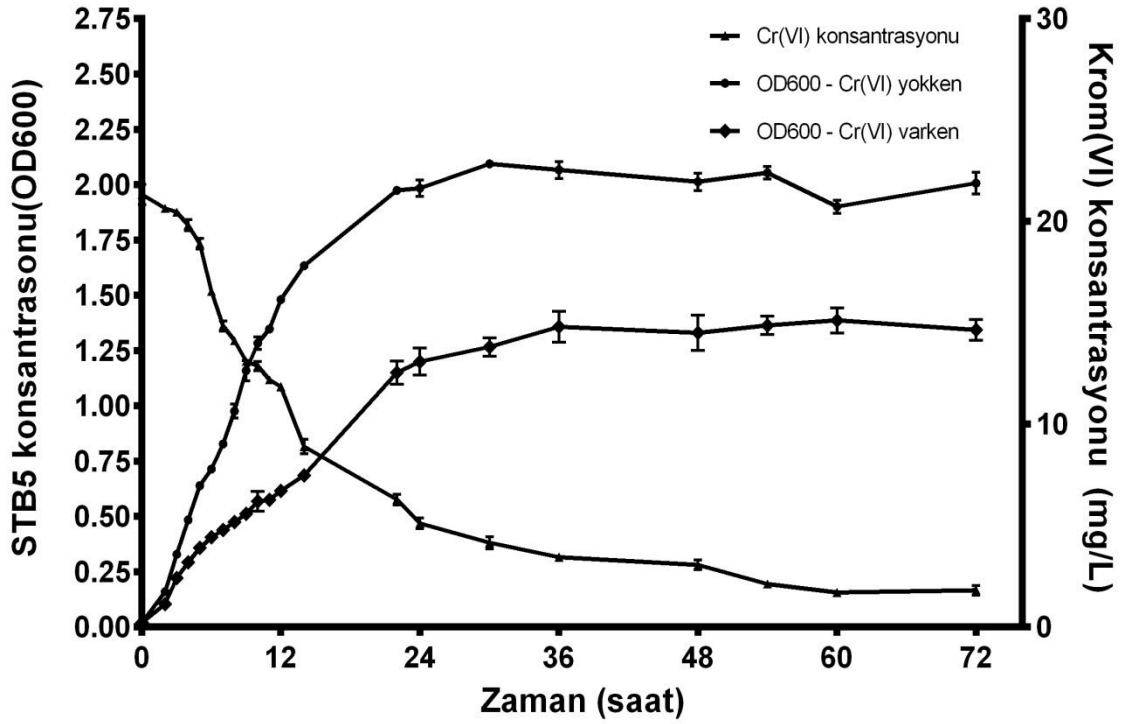
STB5 olarak adlandırılan bakteri kolonisinin tür tayini için 16S rRNA sekanslama deneyi yapılmış ve Enterobacteriaceae familyasından gram negatif basillerden *Morganella morganii* suşu olduğu görülmüştür. 16S rRNA sekans dizisi % 99 oranında *M. morganii* benzerlik göstermiştir. Yapılan filogenetik ağaç verisi şekil 4.3’de gösterilmiştir. STB5 bakterisinin 16s RNA sekans dizisi GenBank veritabanında mevcuttur (GenBank ID: JX134642.1)



Şekil 4.3 STB5 suşunun filogenetik ağacı ve *Morganella morganii* olarak tanımlanması

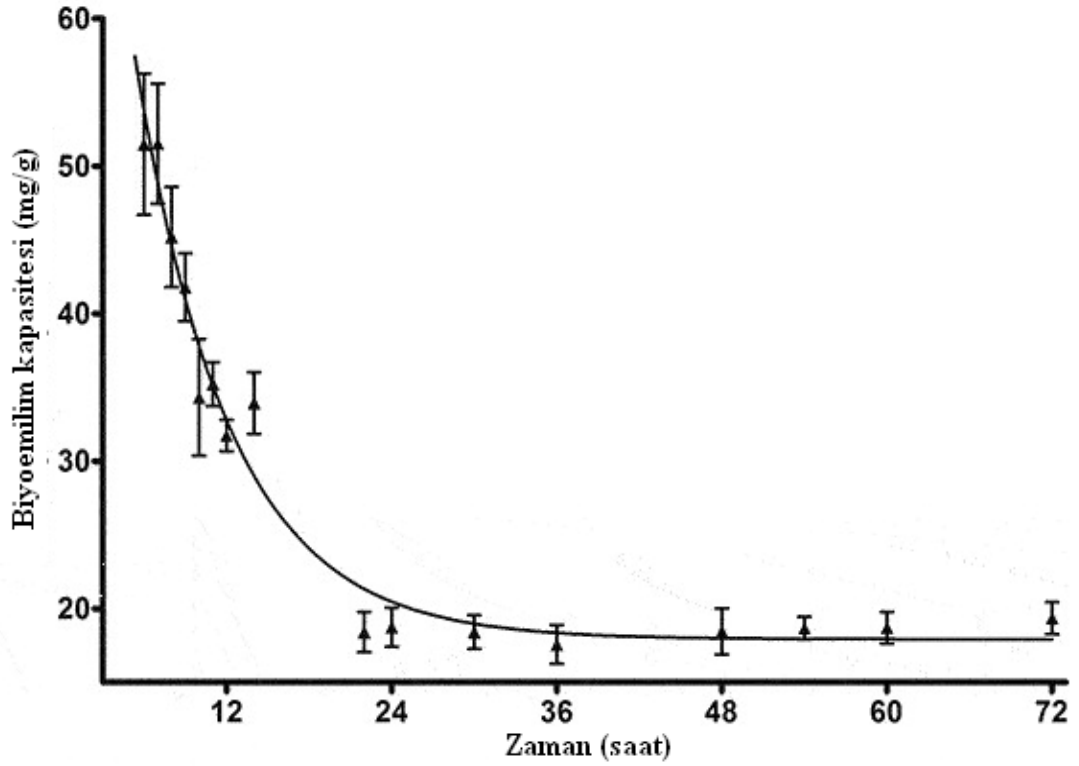
4.2 Canlı *M. morganii* STB5 suşu kullanılarak Cr (VI) uzaklaştırma çalışmaları

STB5 suşu ile yapılan deneylerde, STB5'in en fazla 50 mg/L Cr (VI) varlığında büyüme gösterebildiği ve ortamda bulunan Cr (VI)'yı ise en uygun uzaklaştırma miktarının 20 mg/L Cr (VI) olduğu saptandı. STB5'in krom varlığında büyüme hızı düşse bile 72 saat içinde 20 mg/L Cr (VI)'yı % 90 oranında ortamdaki uzaklaştırdı. Suşun bu süre sonunda ortamdaki Cr (VI)'yı uzaklaştırma kapasitesinin $19,36 \pm 1,89$ mg/g olduğu hesaplandı. STB5 suşunun büyüme hızı ile Cr (VI)'yı uzaklaştırma kapasitesi incelendiğinde en fazla azalmanın 6. ve 12. saatler arasında gerçekleştiği, bu zamanda büyüme noktasının ise log faz da olduğu şekil 4.4'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4 Canlı STB5 biyokütlesinin zaman içerisinde büyümesi ve krom giderim eğrisi

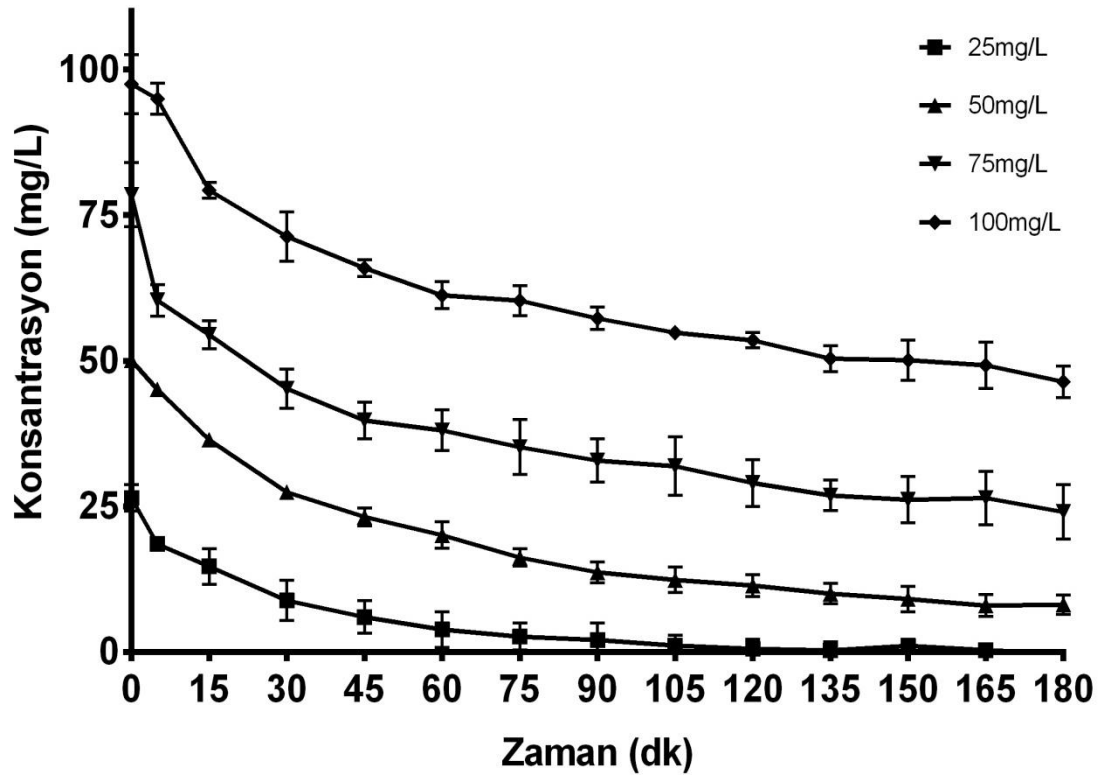
Bakterilerin büyümede durma noktasına 36 saat sonra ulaştıkları ve 36. saatte ortamdan uzaklaştırdıkları krom miktarı şekil 4.4'te gösterilmiştir. STB5'in başlangıçtaki Cr (VI) emme kapasitesinin oldukça fazla olduğu görülmektedir. Şekil 4.5'te de görüldüğü gibi kalan 48 saatte Cr (VI) emme kapasitesi hızla düşmüştür. Bu durum bakterilerin büyüme fazından duraklama fazına geçip kalan 48 saat boyunca büyümenin sabitlenmiş olmasından kaynaklanmaktadır. Buna benzer bir eğri de Cr (VI) uzaklaştırma oranlarında gözlenmiştir. Bu eğride ilk 24 saatte Cr (VI) konsantrasyonunda hızlı bir düşüş gözlenirken, kalan 48 saat boyunca küçük azalmalar gözlenmiştir. Dolayısıyla krom giderimi ile hücre büyümesinin birbirine bağlı olarak ilerlemesi söz konusudur.



Şekil 4.5 STB5'in zaman içerisinde spesifik giderim kapasitesinin değişmesi

4.3 Asitle Muamele Edilmiş STB05 Suşu ile Cr (VI) Uzaklaştırma Çalışmaları

Asit ile muamele edilmiş STB5 biyokütlesinin değişen Cr (VI) konsantrasyonlarında adsorpsiyon kapasiteleri çizelge 4.3'te listelenmiştir. Hidroklorik asitle muamele edilmiş STB5 biyokütlesinin canlı biyokütle ile karşılaştırıldığında daha fazla krom biyosorpsiyonu yaptığı söylenemez. Tüm konsantrasyonlardaki dengeye ulaşma süresi 3 saattir. Başlangıç Cr (VI) konsantrasyonun 25 mg/L olduğu grupta % 100 Cr (VI)'nın uzaklaştırıldığı gözlenmiştir. Aynı zamanda başlangıç Cr (VI) konsantrasyonlarının total absorpsiyon kapasiteleri üzerinde önemli bir etkisinin olmadığı şekil 4.6'da gösterilmiştir. Bununla birlikte Cr (VI) biyosorpsiyon kapasitesi asitle muamale edilmiş biyokütlerde artarken bu artış dikkate değer bir artış değildir.



Şekil 4.6 Asidik ortamda ölü STB5 kütlesi tarafından Cr (VI) giderimi

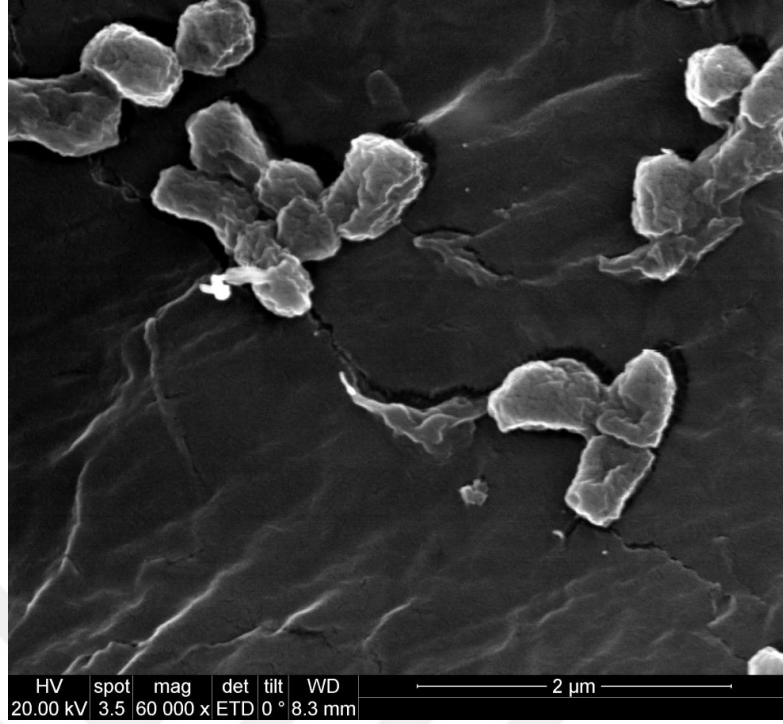
Çizelge 4.3 Asitle muamele edilmiş STB5 biyokütlesinin belirli başlangıç konsantrasyonlarına göre krom giderim kapasitesi.

Başlangıç konsantrasyonu (C_0)	Emilen konsantrasyon	Denge durumunda giderim miktarı	Yüzde giderim
26,48 mg/L	26,48 mg/L	$12,84 \pm 1,81$ mg/g	100,00%
50,07 mg/L	41,89 mg/L	$21,26 \pm 1,44$ mg/g	83,38%
78,48 mg/L	54,43 mg/L	$24,96 \pm 3,91$ mg/g	69,35%
97,50 mg/L	51,06 mg/L	$23,01 \pm 2,88$ mg/g	53,81%

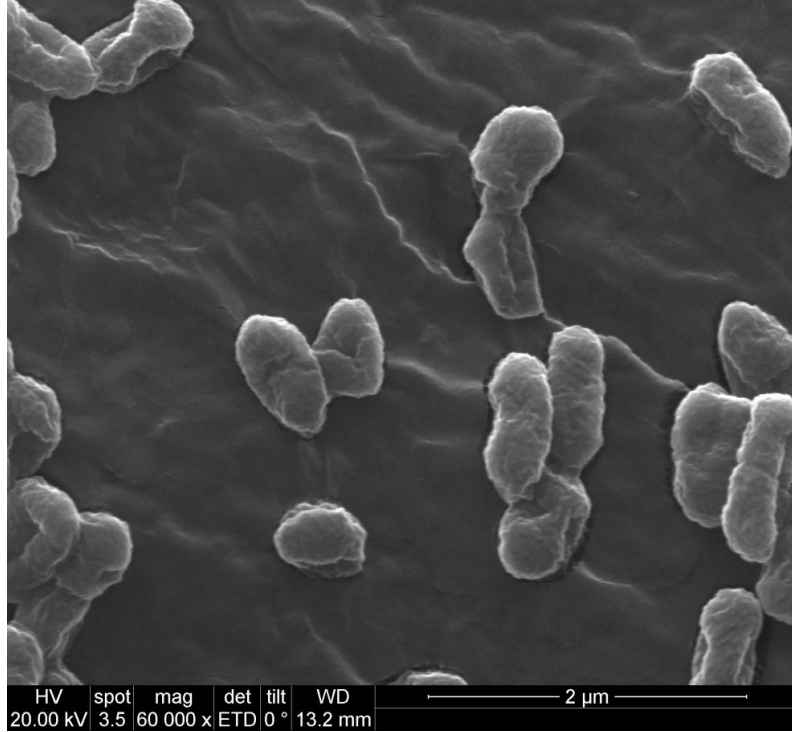
Başlangıç Cr (VI) konsantrasyonu 50 mg/L olan canlı bakteri biyokütlesinde 72 saatin sonunda krom giderimi $19,36 \pm 1,89$ mg/g iken, bu miktar asit ile muamele edilmiş bakteri biyomasında krom giderimi $21,26 \pm 1,44$ mg/g olduğu saptanmıştır. Hatta başlangıç konsantrasyonu 25 mg/L olan örneklerde krom giderim kapasitesinin $12,84 \pm 1,81$ mg/g olduğu görülmüştür. Bu örnekte görülen Cr (VI) giderimindeki azalmanın sebebi metal bağlanmasının 50 mg/L'deki örneklerde görüldüğü doygunluk noktasına ulaşmamasından kaynaklanmaktadır.

4.4 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

STB5 bakteri hücresi, ışık mikroskobu ve taramalı elektron mikroskobu altında incelendiğinde kısa çubuk şeklinde bir morfolojiye sahip olduğu görülmüştür. Cr (VI) varlığında büyütülen STB5 bakteri hücresi ile Cr (VI) içermeyen besi yerinde büyütülen bakteri hücresi morfolojik açıdan incelendiğinde, Cr (VI) varlığında büyütülen bakterilerin morfolojik yapılarında düzensiz ve buruşuk yüzeye sahip oldukları şekil 4.7'de, Cr (VI) içermeyen besiyerinde büyütülen bakterin morfolojik yapılarının ise daha düzgün olduğu şekil 4.8'de gösterilmiştir. Morfolojik yapıda bu değişimden başka bir farklılaşma gözlemlenmemiştir.



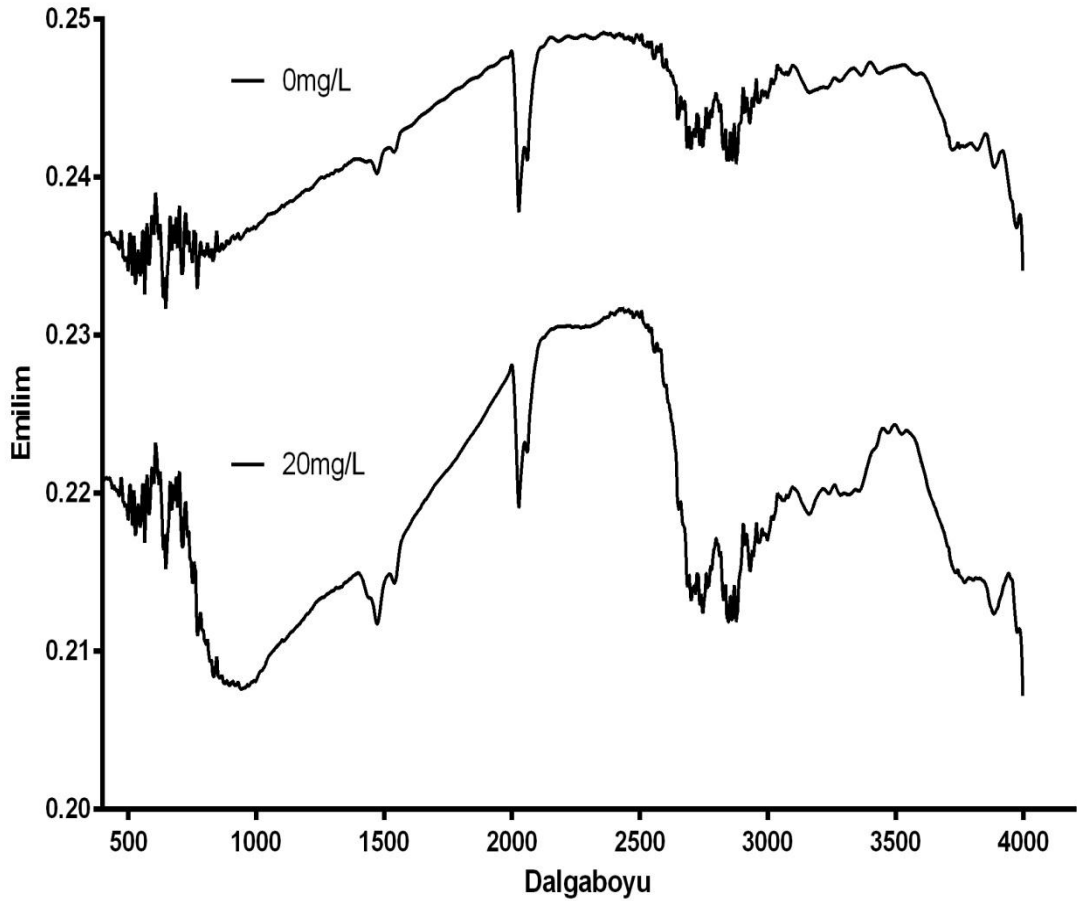
Şekil 4.7 STB5 hücrelerinin Cr (VI) varlığındaki SEM görüntüsü (Orjinal)



Şekil 4.8 STB5 hücrelerinin Cr (VI) yokluğunda SEM görüntüleri (Orjinal)

4.5 FT-IR (Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi) analizi

0 mg/L ve 20 mg/L heksavalen Cr (VI) içeren besiyerinde büyütülmüş STB5 kültürlerinin kızılötesi giderim spektrumları ölçülmüş, kayda değer bantlar şekil 4.9’de gösterilmiştir. Cr (VI) varlığında, 570 cm^{-1} ’de Cr – OH titreşimsel çevirim modu ile alakadar bir bantın oluşumu gözlemlenmektedir (Wagner vd. 2005). Benzer bir şekilde, Cr (VI)’ya maruz kalan örneklerdeki 900 cm^{-1} bandı, kromat anyonu ile ilişkilendirilmiştir (Kano vd. 2000). Cr (VI) yokluğundaki spektrumda gözlenen, 3350 cm^{-1} yakınlarındaki bant hidroksil grubuna ait olup (Kloprogge vd. 2005, Tagliaferro vd. 2006) Cr (VI) varlığında kaybolmaktadır, dolayısıyla Cr (VI) gideriminde hidroksil gruplarını rol oynaması muhtemeldir.

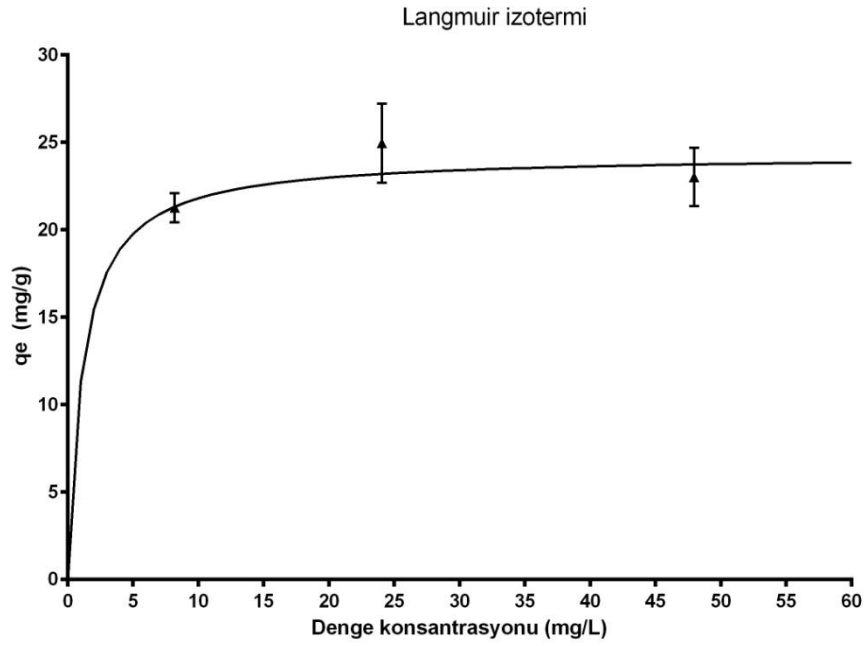


Şekil 4.9 0 ve 20 mg/L Cr (VI)’ye maruz kalmış STB5’in FT-IR spektrumu

C-O bağ esnemesine tekabul eden 1975 cm^{-1} bandı ve polisakkaritlerin C-O-C bant esnemesiyle ilişkilendirilen 1130 cm^{-1} bandı da Cr (VI) varlığında kayma göstermektedir (Ruan vd. 2007, Park vd. 2005). 3000 cm^{-1} civarındaki C-H aromatik halka esnemesi bandı da Cr (VI) varlığında kaymakta, 2925 cm^{-1} 'deki CH esneme bandı ise Cr (VI)'ya maruz yükselme göstermektedir (Park vd. 2005). 1674 ve 1180 cm^{-1} de gözlenen amit I ve amit III bantları da Cr (VI) varlığında değişiklikler göstermektedir; dolayısıyla Cr (VI) varlığının protein üretiminde veya yapısında farklılıklara sebep vermesi mümkündür. Bu sonuç elektron mikroskopisi görüntülerinde Cr (VI)'ya maruz kalan STB5 hücrelerinin gösterdiği morfolojik değişimlerle de desteklenmektedir. Dolayısıyla STB5 hücrelerinin Cr (VI) varlığına aktif olarak cevap verdikleri gözlenmektedir.

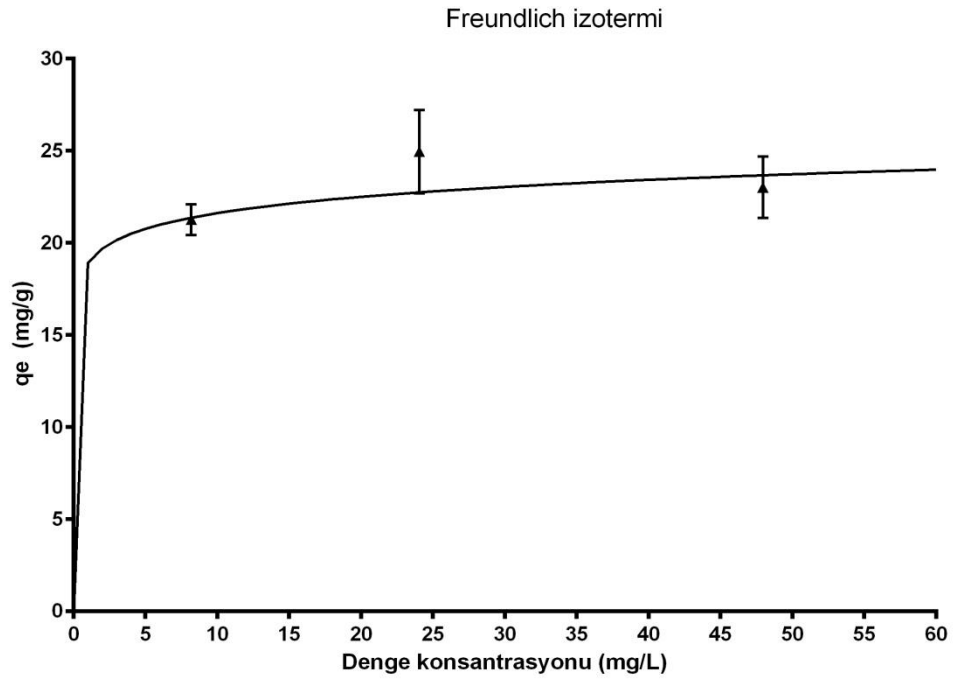
4.6 Giderim İzotermeleri

Test edilen bütün izotermelerin giderim kinetiği değerleri ve istatistiksel kuvvetleri izelge 4.4' te gösterilmiştir. Giderim izotermi oluşturulurken 25 mg/L Cr (VI)'ya maruz bırakılan örnekler ihmal edilmiştir, çünkü bu örneklerde deney süresinin sonunda ölçülebilecek miktarda Cr (VI)'nın kalmadığı gözlenmiştir. Doğrusal eklemli Langmuir ve Freundlich izotermelerinin her ikisinde de Langmuir ve Freundlich izotermeleri (şekil 4.10-4.11) ile eşdeğer sonuç alınmıştır; dolayısıyla izotermde doğrusal bir katkının olmadığı sonucuna varılmıştır ($K_p \approx 0$).

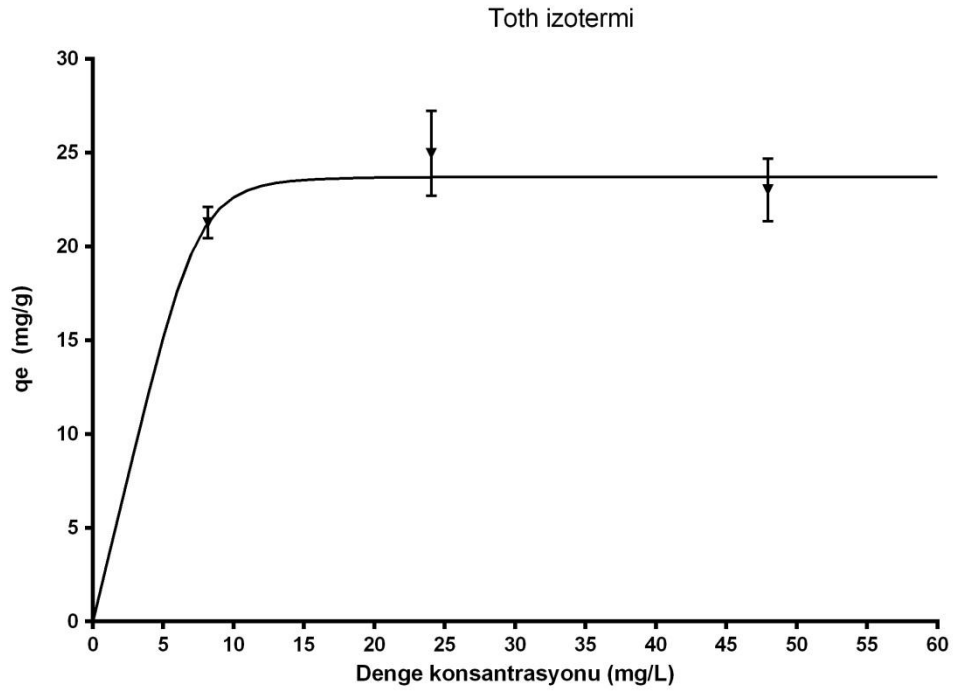


Şekil 4.10 Langmuir izotermi sabitlerine göre krom maksimum gideriminin analizi

Genel Toth izotermi test edilen modeller içerisinde istatiksel olarak verilere en yakın sonuçları vermiştir ($R_y^2 = 0,996$, Şekil 4.12). Bakteri yüzeyleri heterojen olması ve Toth izoterminin heterojen yüzeylerde giderimi modelleme yetisi bulunması sebebiyle bu sonuç mantıklıdır; ancak Langmuir modelinin de verilere yakın sonuç vermesi STB5 tarafından Cr (VI) gideriminin homojen ve tek bir katmanda olduğunu göstermektedir. Genel Langmuir-Freundlich izoterminin Langmuir izotermi ile eşit olması da Cr (VI) gideriminde yüzey heterojenesitesinin önemli olmadığını göstermektedir. Ancak genel olarak, doğrusal model hariç tüm modellerin deneysel olarak gözlemlenen STB5 giderim davranışına yakın sonuçlar verdiği gözlemlenmiştir. Langmuir modeli altında, STB5'in azami giderim kapasitesi (q_{max}) ise gram bakteri başına $24,30 \pm 1,67$ mg bakteri olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4.11 Freundlich izotermi sabitlerine göre krom maksimum gideriminin analizi



Şekil 4.12 Toth izotermi sabitlerine göre krom maksimum gideriminin analizi

Çizelge 4.4 İzoterm katsayıları ve deneysel verilere olan istatistiksel uygunlukları.

İzoterm tipi	Katsayı	Hesaplanan sonuç	Ry ² değeri
Freundlich	Kf	18,914	0,994
	1/m	0,058	
F-P	Kf	18,902	0,994
	1/m	0,059	
	Kp	$2,57 \times 10^{-6}$	
Langmuir	b	0,872	0,995
	Q _{max}	24,304	
L-F	Q _{max}	24,304	0,995
	b	0,872	
	1/n	1,000	
Linear	Kp	0,738	0,138
L-P	b	0,873	0,995
	Q _{max}	24,302	
	Kp	$1,04 \times 10^{-6}$	
Toth	b	0,1304	0,996
	Q _{max}	23,704	
	n	5,000	

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu tez çalışmasında heksavalen kromu gerek canlı, gerekse de asitlendirilmiş biyokütle halinde indirgeyebilen yeni bir *Morganella morganii* suşunun (STB5) tanımlamasını gerçekleştirilmiştir. *M. morganii*'nin Cr (VI) biyogideriminde kullanımının literatürde daha önce bahsedilmemesine rağmen, *Enterobacteriaceae* ailesinin diğer mensuplarında yüksek Cr (VI) biyogiderim kapasitesi gözlenmiştir (Martins vd. 2010). *Morganella* türleri biyogiderimde sıklıkla kullanılmamaktadır, yapılan geçmiş yayınlar incelendiğinde *M. morganii*'nin heksavalen kromun indirgenmesinde kullanılmasını ele alan başka bir çalışma olmadığı görülmüştür. Ancak daha önceki çalışmalar *M. morganii*'nin tekstilde kullanılan boyaların, mikrokistin ve patlayıcıların yok edilmesinde kullanılabileceğini göstermiştir (Kitts vd. 1994, Patil vd. 2010).

Değişik organizmaların [örneğin bakteriler (Mishra ve Doble 2008, Quintela vd. 2008, Caravelli vd. 2008, Valasquez ve Dussan 2009, Maiti vd. 2009), algler (Sari ve Tuzen 2008) ve mantarlar (Bankar vd. 2009, Das ve Guha 2009)]. Cr (VI) indirgemesi konusunda birçok çalışma bulunmaktadır. Biyogiderim konusunda işlem görmemiş bakterilerin kullanımı literatürde bulunmaktadır, ancak çoğu Cr (VI) giderim çalışması asitlendirilmiş ortam veya biyokütlenin kullanılmasına yöneliktir. Protonlanmış fonksiyonel gruplar, kromat anyonlarına daha kolay bağlanacağı için, giderim ve indirgenmenin düşük pH'da daha hızlı olacağı öngörülür (Park vd. 2005). Dolayısıyla, asitli ortamlarda veya asitle işleme tutulmuş biyokütleyle yapılan çalışmalarda biyoremediasyon ajanlarının daha iyi işlev göreceği tahmin edilmektedir. Ancak bu tür bir yaklaşım doğal ortamların temizlenmesinde kullanılamaz ve yüksek hacimde su kaynaklarının biyoremediasyonu için ekonomik olarak uygun değildir. Dolayısıyla Cr (VI)'yı nötr veya nötre yakın pH' larda etkili bir biçimde indirgeyebilen suşlar önem taşımaktadır. Bu suşlar kullanılacak olan biyokütleyi veya temizlenecek ortamı aside maruz bırakma gerekliliğini ortadan kaldırabilir. Ayrıca, canlı hücreler kromu hem hücre yüzeyinde emip hem de hücre içinde metabolik olarak zararsız hale getirebilirler ve dolayısıyla sürekli bir krom indirgeme kapasitesi gösterirler. STB5'in Cr (VI) indirgemesi, suşun alındığı ortamın pH'ı ile uygun bir pH'da gerçekleşmektedir, dolayısıyla suş tatlısu temizleme işlemlerinde kullanılabilir.

Yarrowia lipolytica mantarıyla yapılan bir çalışmada, Cr (VI) biyogiderimi optimal pH = 1' de 63 mg/g olarak bulunmuştur (Bankar vd. 2009). Benzer bir şekilde, kırmızı alg *Ceramium virgatum*, pH = 2'de 26,5 mg/L maksimum giderim göstermiştir (Sari ve Tuzen 2008). Bu sonuçlar canlı STB5'in Cr (VI) giderim kapasitesinden yüksektir, ancak düşük pH'ların biyogiderim olgusuna büyük katkıları olduğu da göz önüne alınmalıdır (Park vd. 2005). Benzer bir şekilde, yüksek sıcaklıkların ve kimyasal işlemlerin kullanımı, literatürde görülen yüksek biyogiderim kapasitelerinin çoğunun altında yatan sebeptir. Örneğin, gram-negatif bakteri *Aeromonas hydrophila* ile yapılan bir çalışmada, 60° C'de ve pH = 1,5'da etkili biyosorpsiyon kapasitesi (185 mg/g Cr (VI)/kuru biyokütle) gözlemlenmiştir. Literatürde, canlı biyokütleyle yapılan biyogiderim çalışmaları da bulunmaktadır; bu çalışmalar bizim sonuçlarımıza daha yakındır. Canlı hücrelerin Cr (VI) biyoremediasyonunda kullanımı, *Bacillus megaterium* ve *B. circulans* ile yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (Srinath vd. 2002). Cr (VI) giderim yüzdesi, 25 mg/L heksavalen krom başlangıç konsantrasyonu için *B. Megaterium*'da 30,6 mg/g, *B. Circulans*'da ise 33.1 mg/g'dır, bu sonuçlar ise canlı *M. morganii* için elde edilen $19,36 \pm 1,89$ mg/g sonucuna yakındır. Ancak bu biyoakümüülasyon çalışmasında kullanılan pH belirtilmemiştir.

Canlı STB5 hücrelerinin asitlendirilmiş STB5 biyokütlesine benzer bir Cr (VI) indirgeme kapasitesi göstermeleri ilginçtir, normalde asitli ortamların daha fazla biyogiderimi tetiklemeleri beklenir (Park vd. 2005). Bahsedilen suş, Cr (VI)'yi enzimatik olarak indirgeme kapasitesine sahip olabilir, bu durum canlı bakterilerin işlem görmüş biyokütleye nazaran yüksek indirgeme göstermesini açıklamaktadır. Canlı STB5'in yüksek Cr (VI) indirgeme kapasitesi, canlı bakteri çalışmalarında deney süresinin daha uzun olması (72 saat) da olabilir. Ancak, başlangıçtaki Cr (VI) konsantrasyonu yükseltildiğinde, işlem görmüş biyokütlenin giderim kapasitesinde büyük yükselişler bulunmamaktadır (örneğin, $C_0 = 50,07$ mg/L için $21,26 \pm 1,44$ mg/g, $C_0 = 97,50$ mg/L için 97,50 mg/L giderim kapasitesi gözlemlenmiştir). Bu durum asite maruz kalmış STB5 kütlelerinin Cr (VI)'a afinitesinin yüksek olmasına ve dolayısıyla düşük konsantrasyonlarda bile bulunan tüm bağlanma sitelerinin dolmasına yorumlanabilir. Ancak diğer bir ihtimal de STB5'in az sayıda bağlanma bölgesine sahip olmasıdır, bu ise literatürle karşılaştırıldığında asitle işlem görmüş STB5'in gösterdiği

düşük giderim kapasitesini de açıklar. Bu durumda, STB5 yüksek Cr (VI) konsantrasyonlarının temizlenmesinde kullanılamaz. Yüksek su hacimlerinde, düşük konsantrasyonda Cr (VI) kontaminasyonunun biyogideriminde kullanılması daha uygundur.

Cr (VI)'ya maruz bırakılan hücrelerin krom taşıyıcı proteinleri aktive ettiği ve kroma daha dayanıklı hale geldiği bilinmektedir (He vd. 2010). Benzer bir şekilde, *Shewanella oneidensis* MR-1 suşu için Cr (VI)'nın krom indirgenmesi ile alakalı birçok genin üretimini arttırdığı gözlemlenmiştir (Bencheikh-Latmani vd. 2010). Bu tez kapsamında yapılan deney sonuçlar ile literatürdeki sonuçlar ile tutarlık gösterdiği, STB5'in 8 saat – 12 saat arasında yavaş, 12 saat – 24 saat arasında ise nispeten hızlı büyüdüğü gözlemlenmiştir. Bu değişim krom taşınımı ve indirgenmesi hakkındaki genlerin aktivasyonu ile alakalı olabilir; bu durumda krom ilavesinden birkaç saat sonra aktive olan genler, bu sürenin sonrasında ağır metal stresini azaltıp daha hızlı büyümeye sebep olabilir. Giderim ise hücre yüzeyinde hücre salgılarının üretilmesi sayesinde gerçekleştirilebilir, bu sonuç FT-IR' da gözlemlediğimiz polisakkarit-bazlı bantların kayması ile de desteklenmektedir. Heterojen yapı gösteren bakteri hücrelerinin tersine, hücre salgıları homojen ve tek-levhali bir giderim yüzeyi yaratacak, bu şekilde de deneysel sonuçlar ve Langmuir modeli arasındaki uyuşmayı da açıklayacaktır (Çizelge 4.4).

STB5 biyokütlesi, asit veya sıcaklıkla işlev görmeden ve izole edildiği doğal ortamın pH' ında (pH = 8.0) heksavalen kromu indirgeyebilen, dolayısıyla da asit eklenmesi mümkün olmayan doğal tatlısu ortamlarında kullanılabilecek bir suştur. STB5'in asidik olmayan pH' da, 20 mg/L'ye kadar olan Cr (VI) konsantrasyonlarını temizleyebilmesi, bu suşu mevcut rehabilitasyon yöntemlerine rakip olabilecek etkili bir alternatif yapmaktadır. Ayrıca, önceki çalışmalar her ne kadar daha yüksek giderim kapasiteleri gösterebilir de, asitle modifiye edilmiş STB5 biyokütlesi düşük konsantrasyonlarda maksimum giderim kapasitesine sahiptir ve dolayısıyla düşük Cr (VI) konsantrasyonlarıyla kontamine ortamlarda Cr (VI)'un tamamen giderilmesi için kullanılabilir.

Canlı STB5 ile yapılan Cr (VI) temizlenme çalışmaları, suşun pH = 8’de etkili bir Cr (VI) indirgeme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Bu durum biyotemizleme çalışmaları için etkili olabilir, çünkü STB5 biyoakümülyasyonu ve biyogiderimi için pH ve sıcaklık değişimleri gerekmemektedir. Ayrıca, STB5 Cr (VI) varlığında büyüyebilmektedir ve tatlısu bakteriyel faunasının doğal bir parçasıdır. Bu sebeple suş, Cr (VI) ile kontamine edilmiş tatlısu ortamların *in situ* remediyaşyonunda kullanılabilir.



KAYNAKLAR

- Aguilar-Barajas E., Paluscio E., Cervantes C. and Rensing C. 2008. Expression of chromate resistance genes from *Shewanella* sp. strain ANA-3 in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol Lett*, 285, 97-100.
- Alyüz, B. and Veli, S. 2009. Kinetics and equilibrium studies for the removal of nickel and zinc from aqueous solutions by ion exchange resins. *J Hazard Mater*, 167, 482-488.
- Anderson, R.A. 1987. Chromium. In: *Trace Elements in Human and Animal Nutrition* (5 th Edn). Academic Pres, Inc, 225-244, San Diego, CA.
- Anisimova, M. and Gascuel, O. 2006. Approximate likelihood-ratio test for branches: A fast, accurate, and powerful alternative. *Syst Biol*, 55, 539-552.
- Anonim. 2004. Su Kirliliği Kontrolü Yönetmeliği, Resmi Gazete, Sayı: 25687.
- Anonymous. 1988. WHO. World Health Organization
- Anonymous. 1996. WHO. World Health Organization
- Anonymous. 1997. The role of chromium animal nutrition. Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture, National Research Council, National Academy Pres, 80 p., NY. <http://darwin.nap.edu/books/030906354X/html/R1.html> (10.01.2006).
- Aravindhnan, R., Madhan, B., Rao, J.R., Nair, B.U. and Ramasami, T. 2004. Bioaccumulation of chromium from tannery wastewater: an approach for chrome recovery and reuse. *Environ Sci Technol*, 38, 300-306.
- Arias, Y.M. and Tebo, B.M. 2003. Cr (VI) reduction by sulfidogenic and nonsulfidogenic microbial consortia. *Appl Environ Microbiol*.69(3):1847-53.
- Aslan, S., Bozkurt, Z. ve Tekeli, A.N. 2007. Cu (II), Ni (II), Cd (II) ve Cr (VI) İyonlarının Sulu çözeltilerden Biyosorpsiyon Yöntemi ile Giderilmesi, Kocaeli Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi ,Çevre Mühendisliği Bölümü, İzmit-Kocaeli.
- Bankar, A.V., Kumar, A.R. and Zinjarde, S.S. 2009. Removal of chromium (VI) ions from aqueous solution by adsorption onto two marine isolates of *Yarrowia lipolytica*. *J Hazard Mater*, 170, 487-494.
- Baysal, S.H., Onal, S. and Ozdemir, G. 2009. Biosorption of chromium, cadmium, and cobalt from aqueous solution by immobilized living cells of *Chryseomonas luteola* TEM 05. *Prep Biochem Biotechnol*. 39(4):419-28.
- Bencheikh-Latmani, R., Williams, S.M., Haucke, L., Criddle, C.S., Wu, L., Zhou, J. and Tebo, B.M. 2005. Global transcriptional profiling of *Shewanella oneidensis* MR-1 during Cr (VI) and U(VI) reduction. *Appl Environ Microbiol*, 71, 7453-7460.
- Beveridge, T.J. and Murray, G.E. 1976. Uptake and retention of metals by cell walls of *Bacillus subtilis*. *J Bacteriol*, 127, 1502-1518.

- Bhide, J.V., Dhakephalkar, P.K., and Paknikar, K.M. 1996. Microbiological process for the removal of Cr (VI) from chromate-bearing cooling tower effluent. *Biotechnology Letters*, 18, 667- 672.
- Bose, R.N., Moghaddas, S. and Gelerinter, E. 1992. Long-lived chromium(IV) and chromium(V) metabolites in the chromium(VI) glutathione reaction – NMR, ESR, HPLC, and kinetic characterization. *Inorg Chem*, 31, 1987-1994.
- Branco, R., Chung, A.P., Johnston, T., Gurel, V., Morais, P. and Zhitkovich A. 2008. The chromate-inducible chrBACF operon from the transposable element TnOtChr confers resistance to chromium(VI) and superoxide. *J Bacteriol*, 190, 6996-7003.
- Butron, J.I. 1995. Supplemental chromium: its beneficial to the bovine immune system. *Anim Feed Sci Tech*, 53, 117-133.
- Bux, F. and Kasan, H.C. 1994. Comparison Of Selected Methods For Relative Assessment Of Surface Charge On Waste Biomass. *Water Science And Technology*, 20, 73-76.
- Caballero-Flores, G.G., Costa-Navarrete, Y.M., Ramirez-Diaz, M.I., Silva-Sanchez, J. and Cervantes, C. 2012. Chromate-resistance genes in plasmids from antibiotic-resistant nosocomial enterobacterial isolates. *FEMS Microbiol Lett*, 327, 148-154.
- Caravelli, A.H., Giannuzzi, L. and Zaritzky, N.E. 2008. Reduction of hexavalent chromium by *Sphaerotilus natans* a filamentous micro-organism present in activated sludges. *J Hazard Mater*, 156, 214-222.
- Castresana, J. 2000. Selection of conserved blocks from multiple alignments for their use in phylogenetic analysis. *Mol Biol Evol*, 17, 540-552.
- Cefalu, W.T. and Hu, F.B. 2004. Role of chromium in human health and in diabetes. *Diabetes Care*, 27, 2741-2751.
- Cervantes, C., Campos-Garcia, J., Devars, S., Gutierrez-Corona, F., Loza-Tavera, H., Torres-Guzman, J.C. and Moreno-Sanchez, R. 2001. Interactions of chromium with microorganisms and plants. *FEMS Microbiol Rev* 25, 335-347.
- Cervantes, C., Ohtake, H., Chu, L., Misra, T.K. and Silver, S. 1990. Cloning, nucleotide sequence, and expression of the chromate resistance determinant of *Pseudomonas aeruginosa* plasmid pUM505. *J Bacteriol*, 172, 287-291.
- Chabalala, S. and Chirwa, E.M. 2010. Uranium(VI) reduction and removal by high performing purified anaerobic cultures from mine soil. *Chemosphere*, 78, 52-55.
- Chatterjee, S.K., Bhattacharjee, I. and Chandra G. 2010. Biosorption of heavy metals from industrial waste water by *Geobacillus thermodenitrificans*. *J Hazard Mater*. 175(1-3):117-25.
- Cheng, C.Y. and Hsu M. 1997. Effect of dietary organic chromium on egg yolk cholesterol level. *AAAP Presentation*, 2p., Taiwan.

- Chevenet, F., Brun, C., Bañuls, A.L., Jacq, B. and Christen, R. 2006. TreeDyn: towards dynamic graphics and annotations for analyses of trees. *BMC Bioinformatics*, 7, 439.
- Chirwa, E.N. and Wang, Y.T. 1999. Simultaneous Chromium(VI) reduction and phenol degradation in an anaerobic consortium of bacteria. *Water Res*, 34(8); 2376-2384.
- Christodoulatos, C. and Koutsospyros A. 1998. Bioslurryreactors. In *Biological treatment of hazardous wastes* "Edited by: Lewandowsky GA, DeFilippi LJ. New York: John Wiley & Sons, Inc; 69-103.
- Cotton, A. F. and Wilkinson G. 1988. In *Advanced Inorganic Chemistry*. 5th edn., 680p., Wiley, J. and Sons., New York.
- Czako-Ver, K., Batie, M., Raspor, P., Sipiczki, M. and Pesti, M. 1999. Hexavalent chromium uptake by sensitive and tolerant mutants of *Schizosaccharomyces pombe*. *FEMS Microbiol Lett*, 178, 109-115.
- Das, S.K. and Guha, A.K. 2009. Biosorption of hexavalent chromium by *Termitomyces clypeatus* biomass: kinetics and transmission electron microscopic study. *J Hazard Mater*, 167, 685-691.
- Debski, B., Niemiec, J. and Zalewski, W. 1998. Chromium supplementation reduces egg cholesterol content. 14 th Annual Symposium on Biotechnology in feed Industry, April 20-22; Lexington, Ky.
- Dereeper, A., Audic, S., Claverie, J.M. and Blanc, G. 2010. BLAST-EXPLORER helps you building datasets for phylogenetic analysis. *BMC Evol Biol*, 10, 8.
- Dereeper, A., Guignon, V., Blanc, G., Audic, S., Buffet, S., Chevenet, F., Dufayard, J.F., Guindon S., Lefort V., Lescot M., Claverie J.M. and Gascuel O. 2008. Phylogeny.fr: robust phylogenetic analysis for the non-specialist. *Nucleic Acids Res*, 36, 465-469.
- Edgar, R.C. 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Res*, 32, 1792-1797.
- Eleuterio, L. and Batista, J.R. 2010. Biodegradation studies and sequencing of microcystin-LR degrading bacteria isolated from a drinking water biofilter and a fresh water lake. *Toxicon*, 55, 1434-1442.
- Espinoza-Quñones, F.R., Martin, N., Stutz, G., Tirao, G., Palácio, S.M., Rizzutto, M.A., Módenes, A.N., Silva, F.G. Jr, Szymanski, N. and Kroumov, A.D. 2009. Root uptake and reduction of hexavalent chromium by aquatic macrophytes as assessed by high-resolution X-ray emission. *Water Res*. 43(17):4159-66
- Francisco, R., Alpoim, M.C. and Morais, P.V. 2002. Diversity of chromium resistant and reducing bacteria in a chromium contaminated activated sludge. *J Appl Microbiol*, 92, 837-843.
- Gadd, G. M. 1990. Biosorption. *Journal Of Chemistry And Industry*. 421-426.
- Gibb, H.J., Lees, P.S.J., Pinsky, P.F. and Rooney, B.C. 2000. Lung cancer among workers in chromium chemical production. *Am J Ind Med*, 38, 115-126.

- Greif, D., Wesner, D., Regtmeier, J. and Anselmetti, D. 2010. High resolution imaging of surface patterns of single bacterial cells. *Ultramicroscopy*, 110, 1290-1296.
- Guindon, S. and Gascuel, O. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol*, 52, 696-704.
- Gurnham, F.C. 1965. *Industrial Waste Water Control*. Academic Press, 169-196 p., 339-356 p., USA.
- Hasan, S.H., Srivastava, P., Ranjan, D. and Talat, M. 2009. Biosorption of Cr (VI) from aqueous solution using *A. hydrophila* in up-flow column: optimization of process variables. *Appl Microbiol Biotechnol*, 83, 567-577.
- Hatay, İ. 2006. Bazı Organik Maddelerin İnorganik Destekler Üzerine İmmobilizasyonu ve Adsorban Olarak Uygulamaları. Yüksek Lisans Tezi. Selçuk Üniversitesi, Konya.
- He, M., Li X., Guo, L., Miller, S.J., Rensing, C. and Wang, G. 2010. Characterization and genomic analysis of chromate resistant and reducing *Bacillus cereus* strain SJ1. *BMC Microbiol*, 10, 221.
- Henne, K.L, Turse, J.E., Nicora, C.D., et al. 2009b. Global proteomic analysis of the chromate response in *Arthrobacter* sp. strain FB24. *J Prot Res*, 8, 1704–1716.
- Ji, G. and Silver, S. 1995. Bacterial resistance mechanism for heavy metals of environmental concern. *J Ind Microbiol*, 14, 61-75.
- Joho, M., Inouhe, M., Tohoyama ,H. and Murayama, T. 1995. Nickel resistance in yeast and other fungi. *J Ind Microbiol*, 14, 164-168.
- Jonathan, R. Lloyd. 2002. Bioremediation of metals; the application of micro-organisms that make and break minerals. *Microbiology today vol 29*, 67-69.
- Juhnke, S., Peitzsch, N., Hubener, N., Große, C. and Nies, D.H. 2002. New genes involved in chromate resistance in *Ralstonia metallidurans* strain CH34. *Arch Microbiol*, 179,15-25.
- Kahvecioglu, Ö., Kartal, G., Güven, A. ve Timur, S. 2003. Metallerin Çevresel Etkileri. İTÜ Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü. İstanbul.
- Kalabegishvili, T.L., Tsibakhashvili, N.Y. and Holman, H.Y.N. 2003. Electron spin resonance study of chromium(V) formation and decomposition by basalt-inhabiting bacteria. *Environ Sci Technol* 37, 4678-4684.
- Kang, S.Y., Lee, J.U., Mooni S.H. and Kimi K.W. 2004. Competitive adsorption characteristics of Co²⁺, Ni²⁺, and Cr³⁺ by IRN-77 cation exchange resin in synthesized wastewater. *Chemosphere*, 56, 141-147.
- Kanmanii P., Aravindi J. and Prestoni D. 2012. Remediation of chromium contaminants using bacteria. *Int J Environ Sci Technol*, 9, 183-193.
- Kanoi F., Abe I., Kamayai H. and Uedai I. 2000. Fractal Model for Adsorption on Activated Carbon Surfaces: Langmuir and Freundlich Adsorption. *Surface Science*, 467, 131-138.
- Kaoi W.C., Huangi C.C. and Changi J.S. 2008. Biosorption of nickel, chromium and zinc by MerP expressing recombinant *Escherichia coli*. *J Hazard Mater*. 158(1):100-6.

- Keskinler, B., Çakıcı, A. ve Yıldız, E. 1994. Çevre Mühendisliğinde Temel İşlemler ve Prosesler. A.Ü., Mühendislik Fakültesi, Çevre Müh. Böl., Ders Notları No:35, 356 s., Erzurum.
- Kiliç, N.K. and Dönmez, G. 2008. Environmental conditions affecting exopolysaccharide production by *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus* sp., and *Ochrobactrum* sp. *J Hazard Mater*, 154, 1019-1024.
- Kimbrough, D.E., Cohen, Y., Winer, A.M., Creelman, L. and Mabuni, C.A. 1999. Critical Assessment of Chromium in the Environment. *Crit. Rev. Env. Sci. Technol.* 29(1); 1-46.
- Kitts, C.L., Cunningham, D.P. and Unkefer, P.J. 1994. Isolation of three hexahydro-1,3,5-trinitro-1,3,5-triazine-degrading species of the family Enterobacteriaceae from nitramine explosive-contaminated soil. *Appl Environ Microbiol*, 60, 4608-4611.
- Kloprogge, J.T., Hickey, L. and Frost, R.L. 2005. The effect of varying synthesis conditions on zinc chromium hydrotalcite: A spectroscopic study. *Materials Chemistry and Physics*, 89, 99-109.
- Koseoglu, H. and Kitis, M. 2009. The recovery of silver from mining wastewaters using hybrid cyanidation and high-pressure membrane process. *Miner Eng* 22, 440-444.
- Kovacevic, Z.F., Sipos, L. and Briksi, F. 2000. Biosorption of Chromium, Copper, Nickel and Zinc Ions onto Fungal Pellets of *Aspergillus niger* from Aqueous Solutions. *Food Tech. Biotech*, 38, 211-216.
- Kroliczewska, B., Zawadzki, W., Dobrzanski, Z. and Kaczmarek-Oliwa, A. 2004. Changes in selected serum parameters of broiler chicken fed supplemental chromium. *J. Anim. Physiol Anim. Nutr.*, 88, 393-400.
- Langard, S. 1980. *Metals in the Environment*. Academic Press, New York, NY.
- Langard, S. 1990. 100 years of chromium and cancer – a review of epidemiological evidence and selected case-reports. *Am J Ind Med* 17, 189-215.
- Losi, M.E., Amrhein, C. and Frankenberger, W.T. 1994. Environmental biochemistry of chromium. *Rev Environ Contam Toxicol* 136, 91-131.
- Maiti, S.K., Bera, D., Chattopadhyay, P. and Ray, L. 2009. Determination of kinetic parameters in the biosorption of Cr (VI) on immobilized *Bacillus cereus* M(1)(16) in a continuous packed bed column reactor. *Appl Biochem Biotechnol* 159, 488-504.
- Malek, A. and Farooq, S. 1996. Comparison of isotherm models for hydrocarbon adsorption on activated carbon, *AIChE Journal* 42(11); 3191-3201.
- Malik, A. 2004. Metal bioremediation through growing cells. *Environment International* 30:261-278
- Martins, M., Faleiro M.L., Chaves S., Tenreiro R., Santos E. and Costa M.C. 2010. Anaerobic bio-removal of uranium (VI) and chromium (VI): comparison of microbial community structure. *J Hazard Mater*, 176, 1065-1072.

- McEntee, J.D., Woodrow, J.R. and Quirk, A.V. 1986. Investigation of cadmium resistance in *Alcaligenes* sp. *Appl Environ Microbiol*, 51, 515-520.
- McGrath, S.P. and Smith, S. 1990. Chromium and nickel. *Heavy metals in Soils*. (Alloway, B.J.) 125-150, Wiley, New York.
- McLean, J. and Beveridge, T.J. 2001. Chromate Reduction by a *Pseudomonad* Isolated from a Site Contaminated with Chromated Copper Arsenate. *Appl Environ Microbiol*, 67, 1076-1084.
- Mertz, W. 1969. Chromium occurrence and function in biological systems. *Physiol Rev*, 49, 163-239.
- Mishra, S. and Doble, M. 2008. Novel chromium tolerant microorganisms: Isolation, characterization and their biosorption capacity. *Ecotoxicol Environ Saf.* 71(3); 874-879.
- Misra, T.K. 1992. Bacterial resistance to inorganic mercury salts and organomercurials. *Plasmid* 27, 4-16.
- Morais, P.V., Branco, R. and Francisco, R. 2011. Chromium resistance strategies and toxicity: what makes *Ochrobactrum tritici* 5bv11 a strain highly resistant. *Biometals*, 24, 401-410.
- Morales, D.K., Ocampo, W. and Zambrano, M.M. 2007. Efficient removal of hexavalent chromium by a tolerant *Streptomyces* sp. affected by the toxic effect of metal exposure. *J Appl Microbiol*. 103(6):2704-12.
- Murata, K., Fukuda, Y., Shimosaka, M., Wantanabe, K., Saikusa, T., and Kimura, A. 1985. Phenotypic character of the methylglyoxal resistance gene in *Saccharomyces cerevisiae*: expression in *Escherichia coli* and application to breeding wild-type yeast strains. *Appl Environ Microbiol*, 50, 1200-1207.
- Muter, O., Lubinya, I., Miller, D., Grigorjeva, L., Ventinya, E. and Rapoport, A. 2002. Cr (VI) Sorption by inactivated dehydrated *Candida utilis* cells in the presence of the other metals. *Process Biochemistry*. 38(1), 123-131.
- Nies, A., Nies, D.H. and Silver, S. 1990. Nucleotide sequence and expression of plasmid encoded chromate resistance determinant from *Alcaligenes eutrophus*. *J Biol Chem*, 265, 5648-5653.
- Nies, D.H. and Silver, S. 1995. Ion efflux systems involved in bacterial metal resistances. *J Ind Microbiol*, 14, 189-199.
- Okeke, B.C. 2008. Bioremoval of hexavalent chromium from water by a salt tolerant bacterium, *Exiguobacterium* sp. GS1. *J Ind Microbiol Biotechnol*. 35(12):1571-9.
- Ortega, R., Fayard B., Salome M., Deves G. and Susini, J. 2005. Chromium oxidation state imaging in mammalian cells exposed in vitro to soluble or particulate chromate compounds. *Chem Res Toxicol*, 18, 1512-1519.
- Pal, A. and Paul, A.K. 2004. Aerobic chromate reduction by chromium resistant bacteria isolated from serpentine soil. *Microbiol Res*. 159(4):347-54.
- Palmer, C.D. and P.R. Wittbrodt, 1991. Processes Affecting the Remediation of Chromium-Contaminated Sites. *Environmental Health Perspectives*, 92: 25-40.

- Pandey, S., Singh, N.K., Bansal, A.K., Arutchelvan, V. and Sarkar, S. 2015 Alleviation of toxic hexavalent chromium using indigenous aerobic bacteria isolated from contaminated sites of tannery industry. *Prep Biochem Biotechnol.* 2015 Oct 12. [Epub ahead of print]
- Park, D., Yun, Y.S. and Park, J.M. 2005. Studies on hexavalent chromium biosorption by chemically-treated biomass of *Ecklonia* sp. *Chemosphere*, 60, 1356-1364.
- Park, H.J., Jeong, S.W., Yang, J.K., Kim, B.G. and Lee, S.M. 2007. Removal of heavy metals using waste eggshell. *J Environ Sci.* 19(12):1436-41.
- Patil, P., Phugare, S., Jadhav, S. and Jadhav, J. 2010. Communal action of microbial cultures for Red HE3B degradation. *Journal of Hazardous Materials*, 263-270.
- Patterson, J.W. 1997. *Wastewater Treatment*, Science Publishers, USA.
- Peitzsch, N., Eberz, G. and Nies, D.H. 1998) *Alcaligenes eutrophus* as a bacterial chromate sensor. *Appl Environ Microbiol*, 64, 453-458.
- Pekin, B. 1996. *Fizikokimya 2. Cilt: 2., İkinci Baskı, Çağlayan Kitabevi, İstanbul.*
- Petrilli, F.L. and De Flora, S. 1977. Toxicity and mutagenicity of hexavalent chromium on *Salmonella Typhimurium*. *Appl Environ Microbiol*, 33, 805-809.
- Pimentel, B.E., Moreno-Sanchez, R. and Cervantes, C. 2002. Efflux of chromate by *Pseudomonas aeruginosa* cells expressing the ChrA protein. *FEMS Microbiol Lett*, 212, 249-254.
- Polti, M.A., Amoroso, M.J. and Abate, C.M. 2010. Chromate reductase activity in *Streptomyces* sp. MC1. *J Gen Appl Microbiol*, 56, 11-18.
- Quintelas, C., Fernandes, B., Castro, J., Figueiredo, H. and Tavares, T. 2008. Biosorption of Cr (VI) by three different bacterial species supported on granular activated carbon: a comparative study. *J Hazard Mater*, 153, 799-809.
- Quintelas, C., Fonseca, B., Silva, B., Figueiredo, H., Tavares, T. 2009. Treatment of chromium(VI) solutions in a pilot-scale bioreactor through a biofilm of *Arthrobacter viscosus* supported on GAC. *Bioresour Technol.* 100, 220-226.
- Rai, D., Sass, B. M. and Moore, D. A. 1987. Chromium (III) Hydrolysis Constant and Solubility of Chromium (III) Hydroxide, *Inorg Chem*, 26(3); 345-349.
- Ramirez-Diaz, M.I., Diaz-Perez, C., Vargas, E., Riveros-Rosas, H., Campos-Garcia, J. and Cervantes, C. 2008. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. *Biometals*, 21, 321-332.
- Ranjan, D., Srivastava, P., Talat, M. and Hasan, S.H. 2009. Biosorption of Cr (VI) from water using biomass of *Aeromonas hydrophila*: central composite design for optimization of process variables. *Appl Biochem Biotechnol*, 158, 524-539.
- Reynolds, M.F., Peterson-Roth, E.C., Beshpalov, I.A., Johnston, T., Gurel, V.M., Menard, H.L. and Zhitkovich, A. 2009. Rapid DNA double-strand breaks resulting from processing of Cr-DNA cross-links by both MutS dimers. *Cancer Res*, 69, 1071-1079.

- Roberts, A.P. and Oris, J.T. 2004. Multiple biomarker response in rainbow trout during exposure to hexavalent chromium. *Comparative Biochem and Physiol Part C*;138:221–228.
- Ruan, B., Kong, L.Y., Takaya, Y., Niwa, M. 2007. Studies on the chemical constituents of *Psoralea corylifolia* L. *J Asian Nat Prod Res*, 9, 41-44.
- Salnikow, K. And Zhitkovich, A. 2008. Genetic and epigenetic mechanisms in metal carcinogenesis and cocarcinogenesis: nickel, arsenic, and chromium. *Chem Res Toxicol*, 21, 28-44.
- Sarikaya, Y. 2004. *Fizikokimya*. 5. Baskı, Baran Ofset, Ankara.
- Sari, A. and Tuzen, M. 2008. Biosorption of total chromium from aqueous solution by red algae (*Ceramium virgatum*): equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. *J Hazard Mater*, 160, 349-355.
- Sawyer, C.N. and McCarty, P.L. 1978. *Chemistry For Environmental Engineering*. 3. Ed., 519 p., McGraw Hill Inc., Singapore.
- Scott, J.A. and Palmer, S. J. 1990. Sites of cadmium uptake in bacteria used for biosorption. *Appl Environ Microbiol* 33, 221-225.
- Scott, J.A., Sage, G.K. and Palmer, S. J. 1988. Metal immobilization by microbial capsular coatings. *Biorecovery* 1, 51-58.
- Shanker, A.K., Carlos, Cervantes, Herminia, Loza-Taverac, S. and Avudainayagam, 2005 Chromium Toxicity in Plants, *Environ. Int.*, 31, 739-753.
- Shi, X. and Dalal, N.S. 1990b. On the hydroxyl radical formation in the reaction between hydrogen peroxide and biologically generated chromium(V) species. *Arch Biochem Biophys*, 277, 342-350.
- Shumate, S.E., Strandberg, G.W. 1985. Accumulation Of Metals By Microbial Cell. In *Compherensive Biotechnology*, 4, 235-240.
- Silver, S., Nucifors, G., Chu, L., and Misra, T.K. 1989. Bacterial resistance ATPases: Primary pumps for exporting toxic cations and anions. *Trends Biochem Sci*, 14, 76-80.
- Singh, A. and Malaviya, P. 2015. Optimization of culture parameters for tannery effluent bioremediation by *Bacillus galactosidilyticus* APBS5-3. *Journal of Environmental Biology*;Sep2015, Vol. 36 Issue 5, p1149
- Sobol, Z. and Schiestl, R.H. 2012. Intracellular and extracellular factors influencing Cr(VI and Cr(III) genotoxicity. *Environ Mol Mutagen*, 53, 94-100.
- Srinath, T., Verma, T., Ramteke, P.W. and Garg, S.K. 2002. Chromium (VI) biosorption and bioaccumulation by chromate resistant bacteria. *Chemosphere*, 48, 427-435.
- Stoyanova, M.A. 2004. Determination of Chromium (VI) by a Catalytic Spectrophotometric Method in the Presence of p-Aminobenzoic Acid, *Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem*. 29, 204-207.
- Sultan,S, Hasnain,S.2007.Reduction of toxic hexavalent chromium by *Ochrobactrum* intermedium strain SDCr-5 stimulated by heavymetals. *Bioresour Technol*. 98(2):340-4.

- Sumner, E.R., Shanmuganathan, A., Sideri, T.C., Willetts, S.A., Houghton, J.E. and Avery, S.V. 2005. Oxidative protein damage causes chromium toxicity in yeast. *Microbiology*, 151, 1939-1948.
- Suzuki, T., Miyata, N., Horitsu, H., Kawai, K., Takamizawa, K., Tai, Y. and Okazaki, M. 1992. NAD(P)H-dependent chromium(VI) reductase of *Pseudomonas ambigua* G-1: Cr (VI) intermediate is formed during the reduction of Cr (VI) to Cr(III). *J Bacteriol*, 174, 5340-5345.
- Şahin, K., Ertaş, O. N., Güler, T. ve Çiftçi, M. 2001. Düşük çevre sıcaklığında yetiştirilen yumurta tavuklarında rasyona katılan kromun verim ve ham besin maddelerinin sindirilme derecesi üzerine etkisi. *Türk J Vet Anim Sci*, 25, 823-830.
- Şahin, N. and Şahin, K. 2001. Optimal dietary concentrations of vitamin C and chromium picolinate for alleviating the effect of low ambient temperature (6.20C) on egg production, some egg characteristics, and nutrient digestibility in laying hens. *Vet Med- Czech*, 46, 229-236.
- Şencan, A., 2006. Sulu çözelti ve deri endüstrisi atıksuyundan Cr6+ iyonunun aktif çamur biyokütlesi ile biyosorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi. Süleyman Demirel Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Isparta.
- Tagliaferro, F.S., Fernandes, E.A.N., Bacchi, M.A. and Campos, E.A. 2006. INAA for the validation of chromium and copper determination in copper chromite by infrared spectrometry. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*. 269: 403-406.
- Tagliaferro, F.S., Fernandes, E.A.N., Bacchi, M.A. and Campos, E.A. 2006. INAA for the validation of chromium and copper determination in copper chromite by infrared spectrometry. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 269, 403-406.
- Tekir, O. 2006. Fındık Zurufundan Aktif Karbon Eldesi ve Bazı Ağır Metal İyonlarının Adsorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi. Sakarya Üniversitesi. Sakarya.
- Tuzen, M., Uluozlu, O.D. and Soylak, M. 2007. Cr (VI) and Cr(III) speciation on *Bacillus sphaericus* loaded diaion SP-850 resin. *J Hazard Mater*. 144(1-2):549-55
- Urvashi Thacker, Rasesh Parikh, Yogesh Shouche and Datta Madamwar. 2006. Hexavalent chromium reduction by *Providencia* sp. *Process Biochemistry* 41:1332-1337
- Velásquez L. and Dussan J. 2009. Biosorption and bioaccumulation of heavy metals on dead and living biomass of *Bacillus sphaericus*. *J Hazard Mater*, 167, 713-716.
- Vincent, J.B. 1999. Mechanisms of chromium action: low-molecular-weight chromium-binding substance. *J of the Americann Collage of Nutrition*, 18, 6-12.
- Vinod, V.T., Sashidhar, R.B. and Sreedhar, B. 2010. Biosorption of nickel and total chromium from aqueous solution by gum kondagogu (*Cochlospermum gossypium*): A carbohydrate biopolymer. *J Hazard Mater*, 178, 851-860.

- Viti, C. and Giovannetti, L. 2007. Bioremediation of soils polluted with hexavalent chromium using bacteria: A challenge. *Environmental Bioremediation Technologies*, 57-76.
- Wagner, H., Siebert, T., Ellerby, D.J., Marsh, R.L. and Blickhan, R. 2005. ISOFIT: a model-based method to measure muscle-tendon properties simultaneously. *Biomech Model Mechanobiol*, 4, 10-19.
- Yıldız, A.Ö., Parlat, S.S. and Yazgan, O. 2004. The effects of organic chromium supplementation on production traits and some parameters of laying ouails. *Revue Med. Vet*, 155, 642-646.
- Zahoor, A. and Rehman, A. 2009. Isolation of Cr (VI) reducing bacteria from industrial effluents and their potential use in bioremediation of chromium containing wastewater. *J Environ Sci (China)*, 21, 814-820.
- Zayed, A.M. and Terry, N. 2003. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation. *Plant Soil*, 249, 139-156.
- Zhitkovich, A. 2011. Chromium in drinking water: sources, metabolism, and cancer risks. *Chem Res Toxicol*, 24, 1617-1629.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Zeynep ERGÜL ÜLGER
Doğum Yeri : Ankara
Doğum Tarihi : 13.08.1980
Medeni Hali : Evli
Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise :Sincan Lisesi (1997)
Lisans : Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü (2003)
Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü,
Disiplinlerarası Hepatoloji Tezli Yüksek Lisans Programı (2005)

Çalıştığı Kurumlar

09.2005 - 02.2009 Makro Sağlık Ürünleri A.Ş.
10.2009 - 05.2015 Bilkent Üniversitesi, UNAM (Malzeme Bilimi ve
Nanoteknoloji Araştırma Enstitüsü)
01/10/2015- Algela Biyoteknoloji, Gıda, İş Güvenliği LTD.STİ

SCI Yayınlar

Ulger Z. E., Karatayli S. C., Ergul A. A., Keskin O., Karatayli E., Albayrak R., Ozkan M., Idilman R., Yalcin K., Bozkaya H., Uzunalimo_glu O., Yurdaydin C. and Bozdayi A. M. 2013. Tumour necrosis factor-alpha, interleukin-10,interferon-gamma and vitamin D receptor gen polymorphisms in patients with chronic hepatitis delta. Journal of Viral Hepatitis Volume 21, Issue 4, pages 297–304, April 2014 DOI: 10.1111/jvh.12139,

Tunca E., Ucuncu E., Ozkan A.D.,**Ulger Z.E.**, Tekinay T. 2013. Tissue Distribution and Correlation Profiles of Heavy Metal Accumulation in the Freshwater Crayfish. Archives of Environmental Contamination and Toxicology DOI: 10.1007/s00244-012-9863-3.

Tunca E., Ucuncu E., Ozkan A.D.,**Ulger Z.E.**, Cansızoğlu A.E., Tekinay T. 2013. Differences in the Accumulation and Distribution Profile of Heavy Metals and Metalloid between Male and Female Crayfish (Astacus leptodactylus).

Archives of Environmental Contamination and Toxicology, Volume: 64, Issue: 4, Pages: 676-691, DOI: 10.1007/s00244-012-9863-3, MAY 2013

Üçüncü E., Özkan A. D., Kurşungöz C., **Ülger Z.E.**, Tekinay T., Ortaç B., Tunca E. (2014). Interaction Modelling of Laser Ablated Silver Nanoparticle Phytoremediation by *Lemna minor*. Chemosphere, Volume: 108, Pages: 251–257, DOI:10.1016/j.chemosphere.2014.01.049 Accepted, January 2014

Ulger Z.E., Ozkan A.D., Tunca E., Tekinay T. 2013. Chromium (VI) (2014) Biosorption and Bioaccumulation by Live and Acid-modified Biomass of a Novel *Morganella morganii* Isolate. Separation Science and Technology DOI:10.1080/01496395.2013.866681-49 (6), 907-914, APR 13 2014

Üçüncü E., Özkan A. D., Kurşungöz C., **Ülger Z. E.**, Olmez T.T., Tekinay T., Ortaç B., Tunca E..(2014).Effects of laser ablated silver nanoparticles on *Lemna minör*. Chemosphere, Volume: 108 Pages: 251-257, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2014.01.049, AUG 2014

Astrit Kuçi, Tayfun Alaçam, Özer Yavaş, **Zeynep Ergul-Ulger**, GuvenKayaoglu (2014)Sealer penetration into dentinal tubules in the presence or absence of smear layer--a confocal laser scanning microscopy study. 40(10):1627-31. doi: 10.1016/j.joen.2014.03.019.

Ulusal Kongre Sunum

Hepatit Delta Virüs İnfeksiyonlarında Konağa ait Sitokin Gen Polimorfizmleri

- IV. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 25–28 Nisan 2006, Ankara
- V. Ulusal Hepatoloji Kongresi, 5–7 Haziran 2005, İstanbul
- Aylık Gastroenteroloji Toplantıları, 25 Kasım 2004, Ankara

Kronik HBV Enfeksiyonlu Hastaların Serumunda Gerçekten HBV cccDNA var mı?

- IV. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 25–28 Nisan 2006, Ankara

HBV cccDNA' yı Belirleyen 3 Farklı Yöntemin Karşılaştırılması

- V. Ulusal Hepatoloji Kongresi, 5–7 Haziran 2005, İstanbul

Ödüller

Probiyotik *Laktobasillus*ların Endüstriyel Üretimi, Mayıs 2011

- Erzurum Üniversitesi ATA Teknokent A.Ş. tarafından düzenlenen 1. Erzurum Teknolojik Atılım Projeleri yarışmasında ‘ ‘ Arge ve İnovasyon’ ‘ dalında (1. ' lik Ödülü)

Probiyotik Laktobasillusların Endüstriyel Üretimi, Mayıs 2011

- Hacettepe Teknovasyon 2011 yarışmasında Fen Bilimleri ve Mühendislik alanında (Mansiyon Ödülü)

Kronik HBV Enfeksiyonlu Hastaların Serumunda Gerçekten HBV cccDNA var mı? (1. ' lik Ödülü)

- IV. Ulusal Moleküler ve Tanısal Mikrobiyoloji Kongresi, 25–28 Nisan 2006, Ankara

HBV cccDNA' yı Belirleyen 3 Farklı Yöntemin Karşılaştırılması (2. ' lik Ödülü)

- V. Ulusal Hepatoloji Kongresi, 5–7 Haziran 2005, İstanbul

Posterler

Tunca E., Ucuncu E., Ozkan A.D.,**Ulger Z.E.**, Kuşungöz C., Ortaç B., Tekinay T. “Effect of Silver Nanoparticles in Different Concentrations on the Growth of Lemna minor in an Alkaline Environment” June 18-21 2013 Cappadocia International Conference on Environmental Science and Technology ICOEST

Tunca E., Ucuncu E., Ozkan A.D.,**Ulger Z.E.**, Tekinay T. “Prediction of Body Weight from Length Measurements in the Crayfish Astacus leptodactylus” June 18-21 2013 Cappadocia International Conference on Environmental Science and Technology ICOEST