

Siyanürün *Pseudomonas putida* ile Biyolojik Gideriminde Besiyeri Ortamının Etkisi

Hasan Çiftçi

Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi, Maden Mühendisliği Bölümü, Isparta, Türkiye, (ORCID: 0000-0002-3306-783X),
hasanciftci@sdu.edu.tr

(İlk Geliş Tarihi 14.04.2025 ve Kabul Tarihi 14.07.2025)

(DOI: 10.35354/tbed.1675746)

ATIF/REFERENCE: Çiftçi, H. (2025). Siyanürün *Pseudomonas putida* ile Biyolojik Gideriminde Besiyeri Ortamının Etkisi. *Teknik Bilimler Dergisi*, 15(2), 33-39.

Öz

Pek çok endüstri sektöründe siyanür içeren teknolojik süreçler kullanılmaktadır ve bunun sonucu olarak çeşitli endüstrilerin atığı olarak da çevrede siyanür ve türevlerine rastlanılmaktadır. Dünyada üretilen hidrojen siyanür'ün %13'ü sodyum siyanür (NaCN) şeklinde altın ve gümüş madenciliğinde kullanılırken %87'si diğer endüstri kollarında kullanılmaktadır. Metal temizleme, metal kaplama, metal işleme, otomobil parçaları üretimi, çelik sertleştirme, altın ve gümüş madenciliği, fotoğrafçılık, tarım ilaçları ve plastikler gibi çeşitli endüstriyel alanlarda siyanür içeren atık sular oluşmaktadır. Siyanür, canlılar üzerinde oldukça toksik etkiye sahiptir. Bu bakımdan siyanür ve bileşiklerinin arıtımı ve siyanür ile kirlenmiş alanların iyileştirilmesi gereklidir. Siyanür ve bileşiklerinin arıtımı/bozundurulması için çeşitli kimyasal ve biyolojik yöntemler kullanılmaktadır. Ancak biyolojik bozunma yöntemleri, süreç sonunda ortamda herhangi bir toksik madde kalmaması ve ilave bir bozundurmaya gerek duyulmaması açısından avantajlıdır. Bu çalışmada, *Pseudomonas putida* bakterisi kullanılarak siyanürün bozundurulması araştırılmıştır. Bu kapsamda besiyeri ortamının (Luria-Bertani (LB) ve Nutrient Broth (NB)) ve siyanür derişiminin (100–400 mg/L) *Pseudomonas putida* bakterisinin siyanür bozundurmasına etkisi incelenmiştir. Başlangıç siyanür konsantrasyonunun artışıyla siyanür giderim verimi azalmıştır. En yüksek siyanür giderim verimleri 100 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda olup, siyanüre adapte edilmiş bakteriyi içeren 1,25 g/L LB besiyerinde %97,35 siyanür giderimi sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Siyanür, Biyolojik bozundurma, Bakteri, *Pseudomonas putida*.

Effect of Growth Medium on Biological Degradation of Cyanide by *Pseudomonas putida*

Abstract

In many industrial sectors, technological processes involving cyanide are used. As a result, cyanide and its derivatives are encountered in the environment as wastes of various industries. While 13% of the hydrogen cyanide produced in the world is used in gold and silver mining in the form of sodium cyanide (NaCN), 87% is used in other industries. Wastewater containing cyanide occurs in a variety of industrial sectors, including metal cleaning, metal plating, metalworking, automobile parts manufacturing, steel hardening, gold and silver mining, photography, pesticides and plastics. Cyanide has a highly toxic effect on living organisms. In this regard, treatment of cyanide and its compounds and remediation of cyanide-contaminated environments are necessary. Various chemical and biological methods are used for the treatment/degradation of cyanide and its compounds. However, biological degradation methods are advantageous in that they do not leave any toxic substances in the environment at the end of the process and do not require additional degradation. In this study, the degradation of cyanide by *Pseudomonas putida* was investigated. In this context, the effects of the growth medium (Luria-Bertani (LB) and Nutrient Broth (NB)) and cyanide concentration (100–400 mg/L) on cyanide degradation by *Pseudomonas putida* bacteria were studied. Cyanide degradation efficiency decreased with increasing initial cyanide concentration. The highest cyanide removal efficiencies were obtained at an initial cyanide concentration of 100 mg/L. Under these conditions, 97.35% of cyanide removal was achieved in 1.25 g/L LB growth medium containing *Pseudomonas putida* bacteria adapted to cyanide.

Keywords: Cyanide, Biological degradation, Bacteria, *Pseudomonas putida*.

1. Giriş

Siyanür, 1 C ve 1 N atomunun 3 bağ yaparak oluşturduğu anyonik özellikte ve alkali katyonlarla tuz meydana getiren ve çeşitli metal katyonları ile kompleks iyonlar oluşturabilen zehirli bir kimyasaldır. Sodyum, potasyum ve kalsiyum ile oluşturduğu siyanür tuzları oldukça zehirlidir ve suda kolayca çözünür. Asitlerin etkisiyle hidrojen siyanür (HCN) gazı açığa çıkarılır. Kadmiyum, bakır ve çinko ile oluşturdukları zayıf ya da orta kuvvetli kompleksler zayıf-asitte ayrışabilir siyanür olarak tanımlanır (Boikess vd., 1986; Skoog vd., 1995).

Cevherlerden altın ve gümüşün kazanımında uygulanacak yöntemin seçimini; cevherin mineralojik yapısı, altın tanelerinin boyutu ve gang mineralleri belirlemektedir. Serbest ve iri boyutta altın içeren cevherlerden altın kazanımında gravite yöntemleri ile yüksek verimler elde edilebilmektedir. Ancak bu tür cevherlerin giderek azalması nedeniyle ince boyutta altın içeren cevherlerden altın kazanımında hidrometalurjik yöntemlerin kullanılması zorunlu hale gelmiştir. Bu tür cevherlerden altın ve gümüşün alkali siyanür çözeltilerinde çözündürülerek kazanıldığı siyanür liçi, uzun yıllardan beri yaygın olarak uygulanan bir süreçtir (Marsden ve House, 2006).

Siyanürün altın üretim tesislerinde kullanılmasının oluşturduğu olumsuzlukların bir bölümü, taşınması sırasında ya da tesis içi kazalardan kaynaklanabilmektedir. Tesis içi kazalar ise siyanür içeren akışkanların işlenmesi ya da işletme içinde borularla iletilmesinde boru ya da bağlantılarda ortaya çıkan hasarlar ya da atık barajlarında sızma, taşma ya da yıkılma ile siyanürün ve ağır metal içeren pülpün çevreye yayılmasından kaynaklanmaktadır. Böylece, işletmeye yakın alanlarda içme ve sulama suyu kaynakları olumsuz etkilenmektedir (Belay vd., 2024). Siyanür liçi ile altın kazanımında bir diğer tehlikeli durum da süreç sonunda oluşan atık çamur ve atık suda serbest siyanürün hidrojenle birleşip HCN gazı oluşturması, bunun da havada hızla yayılmasıyla ortama dağılmasıdır. Bu riskler nedeniyle siyanür tuzlarının ambalajlanması, taşınması ve depolanmasında uyulacak kurallara bir düzen getirilmesi için dünyanın her yerinde ulusal ve uluslararası komisyonlar kurularak çalışmalar yapılmakta ve standartlar oluşturulmaya çalışılmaktadır (Çabuk, 2005). Siyanür, ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından bilinen en toksik maddelerden biri olarak tanımlanmıştır (Chin ve Calderon, 2000).

Atık suda eğer siyanür bileşikleri bulunuyorsa, atık su çevreye deşarj edilmeden önce mutlaka siyanür konsantrasyonu <1 mg/L düzeyine getirilmelidir (Raybuck, 1992). Atık sulardaki siyanürü bozundurmak için birçok farklı (doğal, kimyasal ve biyolojik) yöntem geliştirilmiştir (Mudder vd., 2001a; Mudder vd., 2001b; Alvillo-Rivera vd., 2021). Uygun yöntemin seçiminde göz önüne alınması gereken en önemli parametreler; atık suda bulunan siyanür bileşikleri ve derişimleri ile bunlar için belirlenen yasal sınırlamalardır (Priyadarshan, 2000).

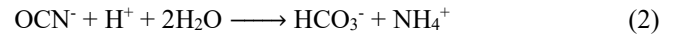
Doğal bozundurma, ekonomik açıdan az maliyetli bir yöntem olmasına karşın bozunma sürecinin çok yavaş olması ve mevsimsel farklılıklardan kolay etkilenmesi sebebiyle istenen oranda bozundurma elde edilememektedir. Bu nedenle kimyasal bozundurma yöntemleri ile desteklenmektedir. Atık sulardan siyanür gideriminde çoğunlukla kimyasal arıtım yöntemleri kullanılmaktadır. Ancak kimyasal arıtım yöntemlerinde yan ürün olarak toksik bileşikler oluşabilmektedir. Ayrıca kimyasal yöntemlerin yüksek maliyetli olması da bir dezavantajdır. Biyolojik bozundurma yöntemleri ise hem siyanürün hem de

kimyasal arıtımla oluşabilecek diğer toksik yan ürünlerin dönüşümü ve bozundurulmasında alternatif potansiyel bir süreçtir (Çabuk, 2005; Raybuck, 1997; Knowles ve Bunch, 1986; Gurbuz vd., 2009; Botz, 2001).

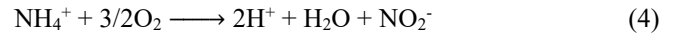
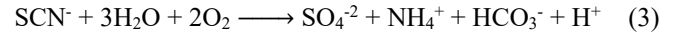
Siyanür içeren maden atık sularında biyolojik bozundurma çeşitli tepkimelerle gerçekleşmektedir. Bu tip tepkimelerde, atık suda bulunan eser metaller biyokütle tarafından sorbsiyon veya çözünemeyen hidroksitler, karbonatlar ve sülfidler formunda çöktürülerek uzaklaştırılırlar (Mudder vd., 2001a; Mudder vd., 2001b; Mudder ve Whitlock, 1984; Mudder, 1998). Mikroorganizmalar aerobik veya anaerobik şartlarda siyanürü bozundurabilirler (Rangel-González vd., 2025). Bazı mikroorganizmalar siyanürü C ve N kaynağı olarak kullanırlar. Ayrıca sahip oldukları metabolik enzimler siyanürü metabolize ederler ve böylece siyanürü bozundururlar. Siyanür, aerobik biyolojik arıtma proseslerinde *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Achromobacter* sp. gibi mikroorganizmalar tarafından siyanata dönüştürülür (Eşitlik 1).



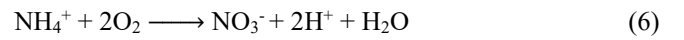
Zayıf-asitte ayrışabilir siyanür, biyokütleyle adsorpsiyonla uzaklaştırılabilir. Demir siyanür gibi güçlü kompleks siyanürler biyolojik olarak arıtmaya uygun değildirler. Ancak çöktürme ve adsorpsiyon ile bir kısmı uzaklaştırılabilir (Mudder vd., 2001a; Mudder vd., 2001b). Siyanat, biyolojik olarak amonyak ve bikarbonata dönüştürülür (Eşitlik 2).



Tiyosiyanat ise aerobik şartlarda amonyak, sülfat ve bikarbonata dönüşür (Eşitlik 3-5).



Nitrifikasyon prosesinin tüm reaksiyon stokiyometrisi ise;



şeklinde.

Biyolojik bozundurma; tasarımının basit ve daha az kontrol gerektirmesi, diğer arıtım süreçlerine göre reaktif maliyetlerinin düşük olması, genel olarak hemen hemen tüm siyanür formlarını gidermesi, ağır metalleri adsorpsiyon ve çöktürme ile uzaklaştırması, süreç sonunda giderim değerlerinin alıcı ortama deşarjı için kabul edilebilir düzeyde olması gibi avantajları olan bir prosestir. Bunların yanı sıra sıcaklığa bağlı olması ve siyanürün geri kazanılamaması gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Mudder vd., 2001a; Mudder vd., 2001b).

Bu çalışmada, *Pseudomonas putida* ile siyanür giderimine farklı besiyeri ortamlarının ve siyanür etkileri araştırılmıştır.

2. Materyal ve Metot

2.1. Bakteri ve Gelişme Ortamı

Bu çalışmada kullanılan *Pseudomonas putida* (DSM-291), mikrobiyoloji kültür koleksiyonu DSMZ (Almanya Mikroorganizmalar ve Hücre Kültürü Koleksiyonu)'den temin edilmiştir. Bakterinin geliştirilmesi için Luria-Bertani (LB) besiyeri ortamı kullanılmıştır. Hazırlanan LB sıvı besiyeri, bakteri

ekimi (aşılması) yapılmadan önce otoklavda 121 °C sıcaklık ve 1 atm. basınçta 15 dk sterilize edilmiştir. Daha sonra steril şartlarda ekim yapılmış ve bakteri kültürü çalkalamalı inkübatörde 125 d/dk'da ve 30 °C'de 7 gün süreyle inkübe edilmiştir. Ayrıca çoğalma sağlanan stok kültürden, yeni hazırlanan steril besiyeri ortamlarına ekimler yapılarak bakterinin alt kültürleri oluşturulmuştur.

2.2. Deneysel Çalışmalar

Siyanür bozundurma deneyleri 250 ml'lik erlenmeyerlerde 150 ml çalışma hacminde yürütülmüştür. Deneysel çalışmalar, daha başlangıç siyanür derişimi olarak 100 ile 400 mg/L aralığında sentetik siyanür solüsyonu hazırlanarak yapılmıştır. Siyanür solüsyonu hazırlamak için analitik saflıkta NaCN (Merck) ve distile su kullanılmıştır. Siyanür konsantrasyonunun ve bakterinin gelişme ortamlarının (LB ve NB besiyerleri) *Pseudomonas putida*'nın siyanür giderim performansına etkisi incelenmiştir. Deneysel çalışmalar boyunca hidrojen siyanür oluşumunu en aza indirmek için çözeltinin pH'ı, 10 M NaOH kullanılarak 10,5 ile 11 arasında ayarlanmıştır. Çözeltinin pH'ı Eutech marka pH 700 model pH metre ile belirlenmiştir. Besiyeri ve 100-400 mg/L aralığında siyanür derişimlerini içeren ve %10 bakteri aşılama yapılmış erlenmeyerler, 30 °C ve 125 d/dk'ya ayarlanmış çalkalamalı inkübatöre yerleştirilmiştir. Ayrıca bakteri içermeyen kontrol testleri de (100 ve 400 mg/L) gerçekleştirilmiştir.

2.3. Analiz Yöntemleri

Erlenmeyerlerden deneyler boyunca steril şartlarda belirli sürelerde 4 ml numune alınmıştır. Alınan numuneler Nüve marka NF800 model santrifüj cihazında 5 dk boyunca 4.100 d/dk hızda santrifüj edilmiştir. Daha sonrasında numunelerde pH ölçümleri ve WAD siyanür analizleri gerçekleştirilmiştir. Her numune alımında çözeltinin pH'ı, 10 M NaOH kullanılarak 10,5 ile 11 arasında ayarlanmıştır.

Siyanür analizi, pikrik asit ölçüm yöntemi ile yapılmıştır. Serbest siyanür ve zayıf-asitte ayrışabilir siyanür, pikrik asitle reaksiyona girerek UV Spektrofotometre cihazında 520 nm dalga boyunda kolorimetrik olarak ölçülebilen turuncu bir renk vermektedir. Çözünmüş alkali metal pikrat, siyanür ile izo-purpurik asidin renkli tuzuna dönüştürülmekte ve böylece konsantrasyonu ölçülebilmektedir. Tüm kolorimetrik yöntemlerde olduğu gibi, karşılaştırma amacıyla standartlar hazırlanmış ve kalibrasyon eğrileri (belirlilik katsayısı $R^2=0,99$) oluşturulmuştur. Deney tüplerine pikrik asit çözeltisi ve santrifüj edilmiş numuneler alındıktan sonra 30 dk boyunca ısıtıcı manyetik karıştırıcıda yaklaşık 95 °C sıcaklıktaki su banyosunda bekletilerek siyanürün pikrik asitle tepkimesi sağlanmıştır. Isıtma işleminden sonra deney tüpleri soğuk su banyosunda bekletilerek oda sıcaklığına kadar soğutulmuştur. Numuneler UV Spektrofotometre cihazında ölçüm kuvvetlerine konularak 520 nm'de absorbans değerleri belirlenmiştir.

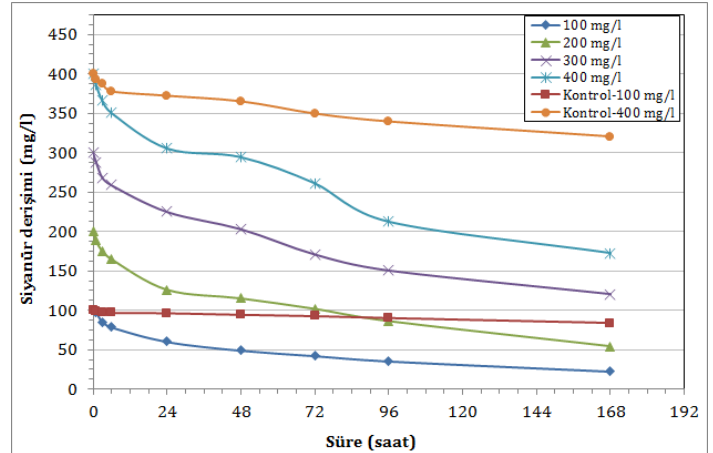
Protein tayininde en çok kullanılan yöntemlerden biri olan Bradford yöntemi kullanılmıştır. Bradford protein tayin yöntemi, Coomassie Brilliant Blue G-250 boya molekülünün, protein varlığında ve asidik ortamda, absorbans kaymasına dayanır. Bu absorbans kayması daha kırmızı formdaki olan boyanın, protein bağlanmasıyla mavi hale dönüşüne dayanır. Burada boya öncelikle eşlenmemiş elektronlarını proteinin iyonlaşabilen gruplarına vererek proteinin hidrofobik bölgelerini ön plana çıkarır. Bu esnada proteinin hidrofobik bölgeleri, van der Waals kuvvetleriyle boyanın apolar uçlarına bağlanarak, oluşan mavi

kompleksi sağlamlaştırır. Artan protein miktarıyla, oluşan mavi renk artar. Mavi renkli kompleksin maksimum dalgaboyu 595 nm'de elde edilir (Kaygusuz, 2011). Protein tayininde Coomassie (Bradford) protein test kiti kullanılmıştır (Thermo Fisher, 2021).

3. Araştırma Sonuçları ve Tartışma

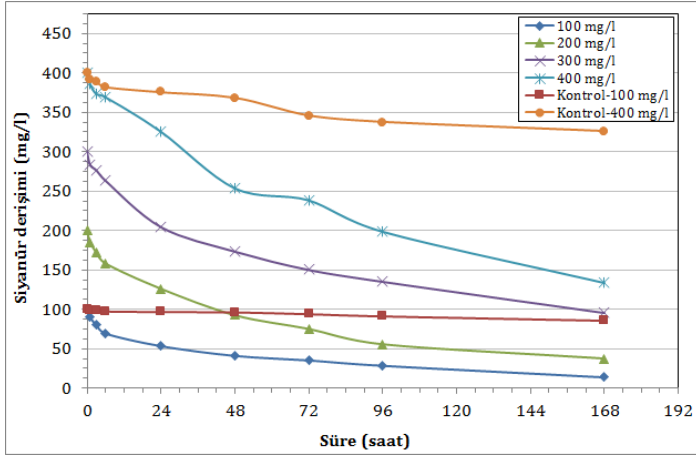
3.1. Luria-Bertani (LB) Besiyeri Ortamının Etkisi

Luria-Bertani (LB) besiyeri gelişme ortamının bakterinin siyanür giderimine etkisini belirlemek için yapılan çalışmalar kapsamında, 25 g/L miktarında LB besiyeri kullanılarak farklı başlangıç siyanür derişimlerinde (100–400 mg/L) *Pseudomonas putida* (DSM-291) kültürünün siyanür giderim sonuçları Şekil 1'de verilmiştir. Başlangıç siyanür konsantrasyonu arttıkça siyanür giderimi azalmıştır. Başlangıç siyanür konsantrasyonu 100 mg/L ile yapılan deneyde en yüksek siyanür giderim verimi (%) elde edilmiş olup, bu deneyde 168 saat sonunda siyanür derişimi 22,7 mg/L olarak ölçülmüştür. Aynı şartlarda bakteri içermeyen kontrol testinde ise 168 saat sonunda siyanür derişimi 83,6 mg/L'dir. Bu testte başlangıçta 100 mg/L siyanür içeren deneyde 168 saat sonunda doğal bozunma sonucu %16,4 siyanür bozunması gerçekleşirken, siyanürün biyolojik bozundurulması ile %77,7 giderim sağlanmıştır. LB ortamında başlangıç siyanür konsantrasyonunun en yüksek olduğu 400 mg/L'de ise deney sonunda siyanür giderim verimi %56,9'dur (Şekil 1). Bu bakımdan ortamda siyanür konsantrasyonunun artışıyla siyanür gideriminin azalmasının nedeni olarak, bakterinin gelişiminin olumsuz etkilenmesi ve buna bağlı olarak bakterinin siyanür bozundurma etkinliğinin ve performansının düşmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.



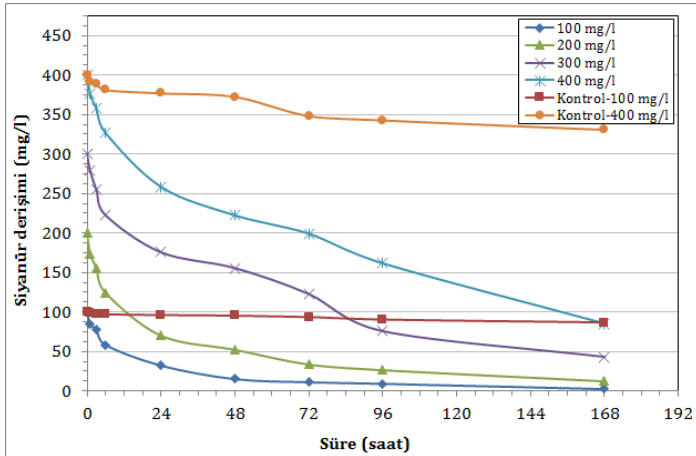
Şekil 1. *P. putida* ile 25 g/L LB besiyeri ortamında bozundurma deneyleri boyunca siyanür konsantrasyonunun değişimi

Literatürde bakterinin gelişmesi için önerilen miktar olan litrede 25 g LB besiyeri ortamı; 10 g/L tripton, 5 g/L maya özü ve 10 g/L NaCl içermektedir. Kültür ortamında bakteri için tripton azot ve amino asit kaynağı iken, maya özü ise hem azot hem de karbon kaynağı olarak yer almaktadır. Siyanür içeren ortamda bakterinin gelişimini desteklemek amacıyla ortama eklenen LB'nin bakteriler tarafından gelişimleri/üremeleri için karbon ve azot kaynağı olarak kullanılırken, ortamdaki siyanürü ise karbon ve azot kaynağı olarak bakterilerin yeterince kullanmadıkları kanaatine varılmıştır. Bu nedenle önerilen miktarın %20'si olarak 5 g/L LB içeren ortamda deneyler yapılmıştır. 5 g/L LB içeren ortamda farklı başlangıç siyanür derişimlerinde (100–400 g/L) siyanür giderim sonuçları Şekil 2'de verilmiştir.



Şekil 2. *P. putida* ile 5 g/L LB besiyeri ortamında bozundurma deneyleri boyunca siyanür konsantrasyonunun değişimi

5 g/L miktarında LB içeren ortamda 100 mg/L siyanür derişiminde 168 saat sonunda %86,4 bakteriyel siyanür giderimi sağlanırken, abiyotik şartlarda ise siyanür bozunması %14,5'tir. 5 g/L LB ortamında bakteri içeren tüm deneylerde 25 g/L LB ortamına göre daha yüksek siyanür giderimleri gerçekleşmiş ve deney sonunda siyanür giderimlerinde %8,26-9,72 aralığında artış sağlanmıştır. Ayrıca daha düşük miktarda LB içeren besiyeri ortamında da siyanür bozundurma deneyleri yapılmıştır. Bu deneyler öncesinde *Pseudomonas putida* kültürünün 1,25 g/L LB besiyeri ve kademeli olarak 10 mg/L ve 20 mg/L siyanür derişimlerini içeren ortamlarda geliştirilmesi ile bakterinin siyanüre adaptasyonu (uyum sağlaması) çalışmaları yapılmıştır. Bakterinin adaptasyon çalışmaları sonrasında 1,25 g/L LB besiyeri ortamında 100-400 mg/L başlangıç siyanür derişimlerinde siyanür giderim sonuçları Şekil 3'de verilmiştir.

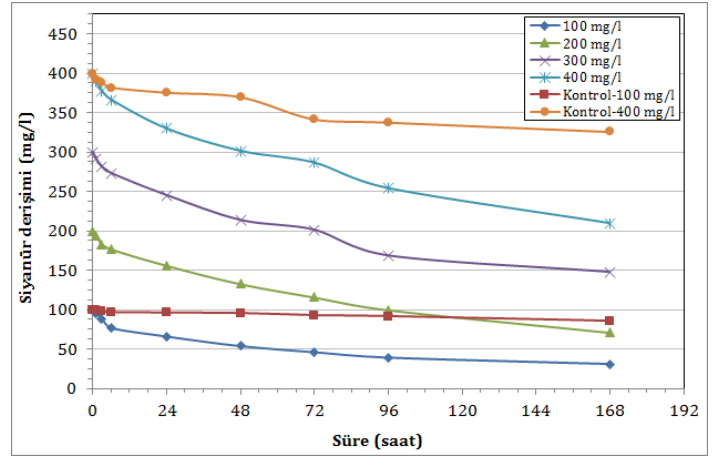


Şekil 3. *P. putida* ile 1,25 g/L LB besiyeri ortamında bozundurma deneyleri boyunca siyanür konsantrasyonunun değişimi

Şekil 3'den de görüldüğü üzere, başlangıç siyanür derişimi 100 mg/L'de bakteri kullanılarak yapılan siyanür bozundurma deneyinde 168. saat sonunda siyanür konsantrasyonu 2,65 mg/L'ye düşerken, aynı şartlarda bakteri içermeyen deneyde ise deney sonunda siyanür derişimi 86,4 mg/L'dir. Bakterinin siyanüre adaptasyonunun ve düşük miktarda (1,25 g/L) LB gelişme ortamının kullanılmasının bakterinin siyanür bozundurma etkinliğini arttırdığı belirlenmiştir. Başlangıç siyanür derişimi 400 mg/L içeren deneyde %78,7 siyanür giderimi elde edilmiştir. Aynı siyanür konsantrasyonunda 25 g/L LB ve 5 g/L LB içeren ortamlarda siyanür giderim verimleri sırasıyla %56,9 ve %66,6'dır (Şekil 1-3).

3.2. Nutrient Broth (NB) Besiyeri Ortamının Etkisi

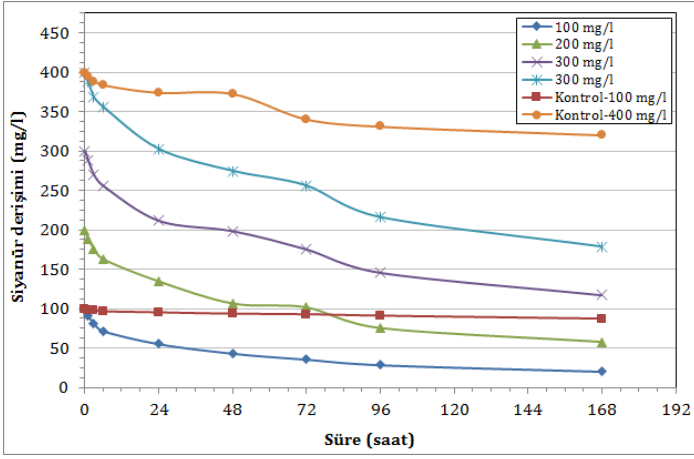
Nutrient Broth (NB) besiyeri; 1 g/L et özü, 2 g/L maya özü, 5 g/L pepton ve 5 g/L NaCl içermektedir ve deneylerde ilk olarak bakterilerin gelişimi için literatürde önerilen miktar olan 13 g/L NB kullanılmıştır. NB besiyeri ortamında 100-400 mg/L başlangıç siyanür derişimlerinde siyanür giderim sonuçları Şekil 4'de verilmiştir. LB gelişme ortamında yapılan deneylerdekine benzer şekilde siyanür konsantrasyonu artışıyla siyanür giderim verimi azalmıştır. Örneğin 100 mg/L siyanür derişiminde deney sonunda %69 siyanür giderimi sağlanırken, 400 mg/L siyanür derişiminde giderim %47,6'dır. Şekil 1 ve Şekil 4'den görüldüğü üzere, LB gelişme ortamına kıyasla NB ortamında deney boyunca daha yüksek siyanür derişimleri ölçülmüş olup, bu bakımdan NB ortamında siyanür giderimi verimleri daha düşüktür. NB gelişme ortamının LB ortamına göre daha fazla bileşeni içermesi, bakterinin gelişimi/üremesi için gerekli besin ve vitaminleri bu bileşenlerden yeterince sağlaması nedeniyle NB ortamında bakteri tarafından siyanür bozundurmasının/yıkımının düşük olduğu kanaati oluşmuştur.



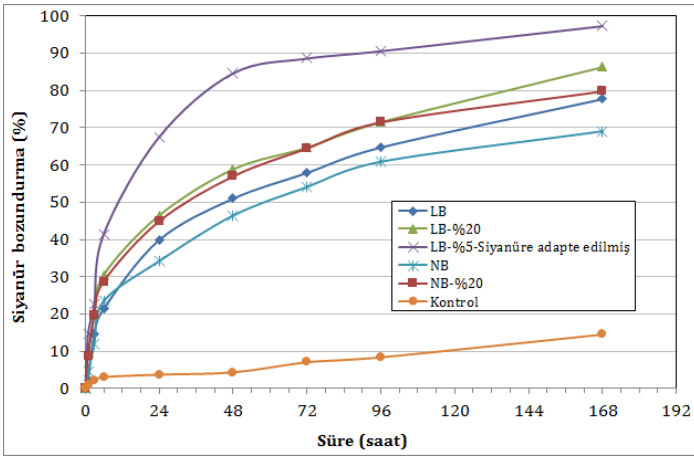
Şekil 4. *P. putida* ile 13 g/L NB besiyeri ortamında bozundurma deneyleri boyunca siyanür konsantrasyonunun değişimi

NB miktarı %20 kullanılarak litrede 2,6 g NB besiyeri ortamında ayrıca deneyler yürütülmüştür. Bu deneysel çalışmalardan elde edilen siyanür bozundurma sonuçları Şekil 5'te verilmiştir. Bu deneylerde 2,6 g/L NB besiyeri ortamında tüm siyanür derişimleri için 13 g/L NB ortamındakine göre daha yüksek siyanür giderimleri elde edilmesine karşın, %20 LB ile yapılan deneyler ile kıyaslandığında ise siyanür giderim verimleri daha düşüktür (Şekil 2 ve 5). 2,6 g/L NB besiyeri ortamında en yüksek siyanür giderim verimi %79,9 ile başlangıç siyanür derişimi 100 mg/L olan deneyde elde edilmiştir. Aynı şartlarda kontrol deneyinde ise siyanür bozunması %12,8 olup, diğer besiyeri ile yapılan deneylerdekine göre siyanürün doğal bozunması daha düşük gerçekleşmiştir.

LB ve NB gelişme ortamlarında yapılan deneyler sonucunda en yüksek siyanür giderimleri 100 mg/L siyanür derişiminde sağlanmıştır. Bu bakımdan 100 mg/L siyanür derişiminde bakteri kültürünün farklı besin ortamları ve miktarlarında bozundurma etkinliğini kıyaslamak üzere Şekil 6'da siyanür giderim verimleri verilmiştir.



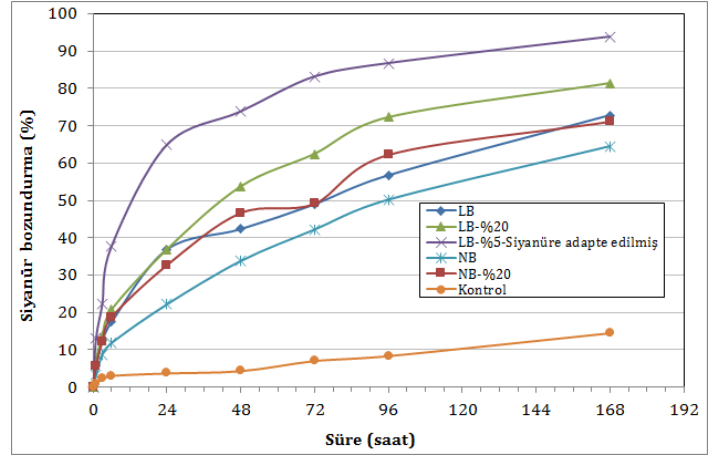
Şekil 5. *P. putida* ile 2,6 g/L NB besiyeri ortamında bozundurma deneyleri boyunca siyanür konsantrasyonunun değişimi



Şekil 6. 100 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda farklı besiyeri ortamları ve miktarlarında siyanür giderim verimleri

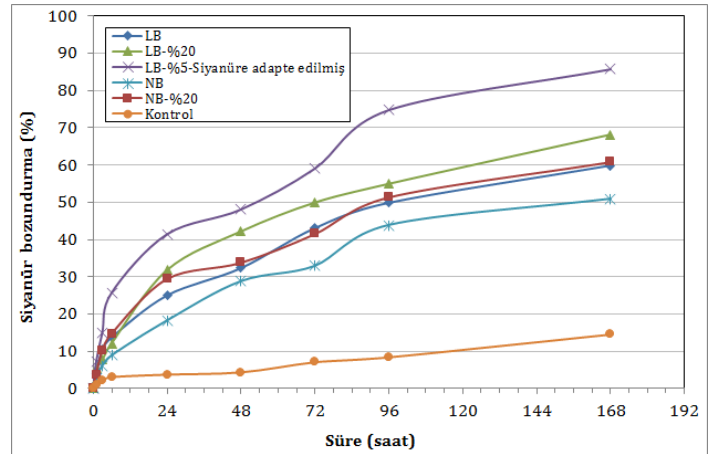
Siyanüre adapte edilmiş bakteri ile 1,25 g/L miktarında (%5 oranında) LB içeren ortamda siyanür gideriminin diğer deneylere göre özellikle 6. saatten sonra oldukça etkin bir şekilde sağlandığı Şekil 6'dan görülmektedir. Ancak bu deneyde 48. saatten sonra siyanür giderim hızı azalmıştır. Ayrıca 1,25 g/L LB içeren gelişme ortamı dışındaki diğer deneylerde birbirine yakın siyanür giderim verimleri elde edilmiştir (Şekil 6).

LB ve NB gelişme ortamlarını içeren diğer siyanür konsantrasyonlarında da (200, 300, 400 mg/L) bakterinin siyanür bozundurma etkinliğini kıyaslamak amacıyla siyanür giderim verimleri Şekil 7-9'da verilmiştir. Bu deneylerde genel olarak LB gelişme ortamında daha yüksek siyanür giderimi sağlanmıştır. Ayrıca LB besiyeri ortamının yanı sıra bakterinin siyanüre adapte edilmesinin de siyanürün biyolojik bozundurulmasında daha etkili olduğu yüksek siyanür derişimi içeren deneylerde de görülmektedir. 200 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda en yüksek siyanür gideriminin sağlandığı siyanüre adapte bakterileri içeren %5 oranında LB içeren ortamda ilk 24 saatte %65'e yakın siyanür giderimi elde edilirken, bakteri içermeyen kontrol deneyinde ise bu sürede sadece %6,54 siyanür bozunması söz konusudur (Şekil 7). Bu süreden sonra bakterinin siyanür bozundurma hızında önemli bir azalma olmuştur. Örneğin %5 LB ortamında 24 saat sonrasında 144 saat sürede sadece %30 siyanür giderimi sağlanabilmiştir.

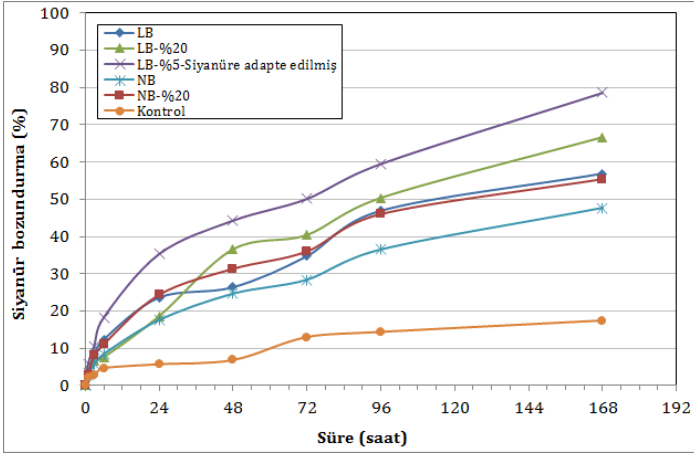


Şekil 7. 200 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda farklı besiyeri ortamları ve miktarlarında siyanür giderim verimleri

Başlangıç siyanür derişiminin 300 mg/L olduğu deneylerde en yüksek siyanür bozundurma verimi 168 saat sonunda %85,7 olarak elde edilmiştir (Şekil 8). Siyanüre adapte bakterilerin kullanıldığı %5 oranında LB içeren ortamda diğer deneylere göre özellikle 72. saatten sonra daha hızlı siyanür giderimi sağlanmıştır. Bakterilerin daha düşük siyanür derişimlerine adapte edilmesinden dolayı özellikle başlangıç siyanür konsantrasyonu 300 mg/L ve 400 mg/L olan deneylerde *Pseudomonas putida* kültürünün yüksek konsantrasyonlardaki siyanürden olumsuz etkilendiği ve bu nedenle siyanür bozundurma etkinliklerinin düştüğü Şekil 8 ve Şekil 9'dan görülmektedir. 400 mg/L siyanür konsantrasyonunda 168 saat sonunda siyanür giderimi %80'lerin altında kalmıştır. Akcil vd. (2003) tarafından yapılan bir çalışmada, bakterinin gelişimi için %2 peynir altı suyu içeren ortamda 100 ile 400 mg/L aralığındaki siyanür derişimlerinde *Pseudomonas* sp. kültürünün siyanür giderimleri incelenmiştir. Bu çalışmada *Pseudomonas* sp.'nin 100 mg/L siyanür derişimini 45 saat sonunda 1 mg/L'nin altına düşürerek siyanürü etkin şekilde bozundurduğu bildirilmiştir. Ancak 400 mg/L siyanür konsantrasyonun test edilen bakterilerin gelişimini olumsuz etkilediği ve yaklaşık 50 saat sonra bakterisidal etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (Akci vd., 2003). Bu çalışmada da buna benzer şekilde özellikle 300 ve 400 mg/L siyanür konsantrasyonlarının farklı gelişme ortamlarında da (LB ve NB) *Pseudomonas putida*'nın siyanür bozundurma performansının olumsuz etkilendiği belirlenmiştir.

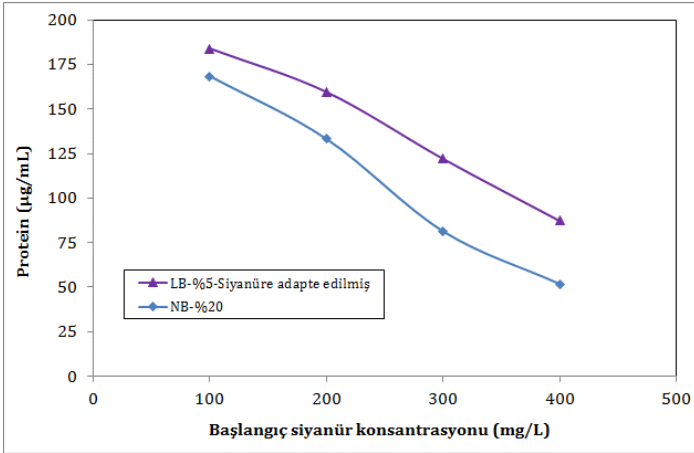


Şekil 8. 300 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda farklı besiyeri ortamları ve miktarlarında siyanür giderim verimleri



Şekil 9. 400 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda farklı besiyeri ortamları ve miktarlarında siyanür giderim verimleri

Siyanürün biyolojik bozundurulmasında *Trametes versicolor* (ATCC 2000801) fungusu kullanılarak yapılan bir çalışmada, 100 mg/L başlangıç siyanür derişiminde 42 saat sonunda yaklaşık %73 siyanür giderimi sağlandığı belirtilmiştir (Çabuk, 2005). Çeşitli mikro algler tarafından siyanürün bozunmasının incelendiği başka bir çalışmada 25 saat boyunca 50 ve 100 mg/L serbest siyanürün biyodetoksifikasyonu gözlenmiştir. *S. obliquus* siyanürü %99 oranında bozundururken, *Chlorella* sp. aynı zaman diliminde siyanürün sadece %86'sını detoksifiye edebildiği bildirilmiştir (Gurbuz vd., 2002; Gurbuz vd., 2004). Literatürde siyanür bozunma hızının *Pseudomonas* sp. türü bakterinin kültür koşullarına ve ortam sıcaklığına bağlı olduğu belirtilmiştir (Akcil vd., 2003). Adams vd. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada dört *Pseudomonas* sp. bakteri kültürü aynı koşullar altında büyütülmüş, ancak bu bakteriler önemli ölçüde farklı siyanür bozundurma hızları sergilemişlerdir ve siyanür bozundurma hızları 1.5-5 mg/L/mg protein/dk arasında değişmiştir. Siyanüre adapte edilmiş bakterileri içeren 1,25 g/L LB ortamında ve 2,6 g/L NB ortamında yapılan deneyler sonunda ölçülen protein değerleri Şekil 10'da gösterilmiştir.



Şekil 10. Siyanüre adapte edilmiş bakterileri içeren 1,25 g/L LB ortamında ve 2,6 g/L NB ortamında yapılan deneylerde protein miktarlarının değişimi

Siyanür konsantrasyonunun artışıyla her iki gelişme ortamında da protein miktarlarının azaldığı belirlenmiştir (Şekil 10). LB ortamında 100 mg/L siyanür konsantrasyonunda yapılan deneyde 183,7 mg/L protein ölçülürken, aynı ortamda başlangıç siyanür konsantrasyonu 400 mg/L'da protein değeri 87,4 mg/L'ye düşmüştür. Bu azalma siyanür artışıyla bakterinin gelişiminin ve

ayrıca enzim üretiminin azaldığını göstermektedir. 1,25 g/L LB ortamında ve 2,6 g/L NB ortamında yapılan deneylerde ortamda protein oluşma hızı 0,31 – 1,09 mg/L/saat aralığında değişmiştir (Şekil 10). Aynı deneylerde siyanür giderim hızları ise 0,48 – 1,87 mg/L/saat aralığında değiştiği gözlenmiştir (Şekil 3 ve 5). *Aerococcus viridans* bakterisi kullanılarak farklı karbon ve azot kaynakları (soya unu, mısır unu, glikoz, gliserol, pepton vb.) içeren besiyeri ortamlarında yapılan deneylerde 200 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda 72 saat sonunda %84,1 ve 150 mg/L başlangıç siyanür konsantrasyonunda 56 saat sonunda %86,7 siyanür giderimi sağlanmıştır. Gelişme ortamındaki azot ve karbon kaynağının *A. viridans*'ın siyanür gideriminde önemli bir etkisinin olduğu gösterilmiştir (Jiang vd., 2022).

4. Sonuç

Bu çalışmada, başlangıç siyanür konsantrasyonunun ve besiyeri ortamının *Pseudomonas putida* bakterisinin siyanür bozundurma performansına etkileri belirlenmiştir.

Farklı besiyeri ortamlarının (LB ve NB) etkisinin incelendiği deneysel çalışmalarda, başlangıç siyanür konsantrasyonu olarak 100 mg/L ile 400 mg/L aralığında çalışılmıştır. Tüm deneylerde başlangıç siyanür konsantrasyonu artışıyla siyanür giderim verimi azalmıştır. LB besiyeri ortamının kullanıldığı deneylerde NB besiyeri ortamına göre daha yüksek siyanür giderimi gerçekleşmiştir. NB besiyeri ortamının LB ortamına göre daha fazla bileşeni içermesi, bakterinin gelişimi/üremesi için gerekli besin ve vitaminleri bu bileşenlerden yeterince sağlaması nedeniyle NB besiyeri ortamında bakteri tarafından siyanür bozundurmasının düşük olduğu sonucuna varılmıştır.

Siyanüre adapte edilmiş *Pseudomonas putida* kültürü ile %5 oranında LB içeren ortamda diğer deneylere göre özellikle 6. saatten sonra daha etkin bir siyanür giderimi sağlanmıştır. En yüksek siyanür giderim verimi; 168 saat sonunda %97,35 ile siyanüre adapte edilmiş bakteriyi içeren 1,25 g/L LB gelişme ortamında elde edilmiştir. Her iki gelişme ortamında besiyeri miktarının azalmasının bakterinin siyanür bozundurmasında olumlu etki yaptığı gözlenmiştir. Siyanür konsantrasyonunun artışıyla her iki besiyeri ortamında da protein miktarlarının azaldığı belirlenmiştir.

Siyanür ve bileşiklerinin biyolojik olarak bozundurulması, ekonomik açıdan ilk yatırım ve işletme maliyetleri düşük olan bir süreçtir. Yapılan çalışmaların azlığı ve literatür eksikliği bu yöntemin önemini ve uygulamasını yeterince desteklememektedir. Çevre ile etkileşimi açısından düşünüldüğünde ise biyolojik bozundurma yöntemi toksik etkiyi minimum düzeye indirmektedir. Siyanür ve bileşiklerini bozundurmak için çeşitli kimyasal yöntemler kullanılabilir. Ancak bu yöntemlerin birçoğu yüksek ilk yatırım ve işletme maliyetine ve ayrıca karmaşık yapıya sahiptir. Biyolojik bozundurma, kimyasal ve doğal bozundurmaya alternatif bir süreçtir. Biyolojik siyanür giderim süreçleri düşük maliyetli olmasının yanı sıra ayrıca kimyasal yöntemler kadar da etkili olabilmektedir. Kimyasal bozundurmanın çevreye olan toksik etkisi ve yüksek maliyeti, doğal bozundurmanın ise düşük reaksiyon hızı gibi dezavantajları düşünüldüğünde biyolojik bozundurmanın iyi bir tercih/alternatif olacağı düşünülmektedir.

5. Teşekkür

Bu çalışmayı 5088-YL1-17 no'lu proje ile destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri

Koordinasyon Birimi Başkanlığı'na, deneysel çalışmalardaki yardımları için Müh. Nazmiye Yılmaz'a ve analizlerdeki teknik desteklerinden dolayı SDÜ YETEM personeline teşekkür ederim.

Kaynakça

- Boikesss, R., Breslauer, K., Edelson, E. (1986). Elements of chemistry, general, organic, and biological. Prentice-Hall., 768 p.
- Skoog, D.A., West, D.M., Holler, F.J. (1995). Fundamentals of analytical chemistry. 7th edition, Brooks Cole, 870 p.
- Marsden, J., House, I. (2006). The chemistry of gold extraction. 2nd edition, The Society for Mining Metallurgy and Exploration Inc., USA, 318-392.
- Belay, G., Suarez, C., Paul, C.J., Simachew, A. (2024). Biodegradation of cyanide using soda lake-derived alkaliphilic microbial consortia. Water, 16, 2956. <https://doi.org/10.3390/w16202956>
- Çabuk, A. (2005). Beyaz çürükçül funguslarla siyanür biyodegradasyonu. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Chin, R.G., Calderon, Y. (2000). Acute cyanide poisoning: a case report. Journal of Emergency Medicine, 18, 441-445.
- Raybuck, S.A. (1992). Microbes and microbial enzymes for cyanide degradation. Biodegradation, 3(1), 3-18.
- Mudder, T.I., Botz, A.M., Smith, A. (2001a). Chemistry and treatment of cyanidation wastes. Second Edition, Mining Journal Books Ltd., London, 373 p.
- Mudder, T., Botz, M., Smith, A. (2001b). The cyanide compendium. Published by Mining Journal Books, London, England, 1000+ pages on CD.
- Alvillo-Rivera, A., Garrido-Hoyos, S., Buitrón, G., Thangarasu-Sarasvathi, P., Rosano-Ortega, G. (2021). Journal of Materials Research and Technology, 12, 1418-1433.
- Priyadarshan, G. (2000). Removal and stabilization of cyanide from process waters. MSc Thesis, University of Nevada, Reno, 82 p.
- Knowles, C.J., Bunch, A.W., (1986). Microbial cyanide metabolism, Adv. in Microbial Physiology, 27, 73-111.
- Gurbuz, F., Ciftci, H., Akcil, A. (2009). Biodegradation of cyanide containing effluents by *Scenedesmus obliquus*. Journal of Hazardous Materials, 162, 74-79.
- Botz, M.M. (2001) Overview of cyanide treatment methods. Mining Environmental Management. Mining Journal Ltd, London, UK, 28-30.
- Mudder, T.I., Whitlock, J. (1984). Biological treatment of cyanidation waste waters. Mining, Metallurgy and Exploration, 1, 161-165.
- Mudder, T., 1998. The cyanide monograph. Mining Journal Books, London, England.
- Rangel-González, M.G., Solís-Domínguez, F.A., Herrera-Martínez, A., Carrillo-González, R., López-Luna, J., Del Carmen Angeles González-Chávez, M., Rodríguez, M.D. (2025). Cyanide biodegradation: a scoping review. International Journal of Environmental Science and Technology, 22, 2047-2072. <https://doi.org/10.1007/s13762-024-05885-1>
- Kaygusuz, H. (2011). Biyopolimer-kil nano kompozitlerinden kontrollü protein salınımı. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi, İstanbul.
- Thermo Fisher (2021). Pierce™ bradford protein assay kit. <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/23200#/23200> (Erişim Tarihi: 02.03.2021).
- Akcil, A., Karahan, A.G., Ciftci, H., Sagdic, O. (2003). Biological treatment of cyanide by natural isolated bacteria (*Pseudomonas* sp.). Minerals Engineering, 16 (7), 643-649. [https://doi.org/10.1016/S0892-6875\(03\)00101-8](https://doi.org/10.1016/S0892-6875(03)00101-8)
- Gurbuz, F., Karahan, A., Akcil, A., Ciftci, H. (2002). Degradation of cyanide by natural algae species. In: Extended Abstracts of the Third International Congress 'Environmental, Micropaleontology, Microbiology and Metobentholog' (EMMM'2002), September 1-6, Vienna, Austria.
- Gurbuz, F., Ciftci, H., Akcil, A., Karahan, A.G. (2004). Microbial detoxification of cyanide solutions: a new biotechnological approach using algae. Hydrometallurgy, 72 (1-2), 167-176. <https://doi.org/10.1016/j.hydromet.2003.10.004>
- Adams, D.J., Komen, J.V., Pickett, T.M. (2001). Biological cyanide degradation. In: Young C, ed. Cyanide: Social, Industrial and Economic Aspects. United States: The Metal Society, pp. 203-213, ISBN 0-87339-479-8.
- Jiang, W., Lu, Y., Feng, Z., Yu, H., Ma, P., Zhu, J., Wang, Y., Sun, J. (2022). Biodegradation of cyanide by a new isolated *Aerococcus viridans* and optimization of degradation conditions by response surface methodology. Sustainability, 14(23), 15560. <https://doi.org/10.3390/su142315560>