

Saccharomyces cerevisiae 4 VE *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2)
SUŞLARININ AĞIR METAL DİRENÇLİLİKLERİ VE HÜCRESEL
TOTAL PROTEİN MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI

Emrah ÖCAL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EKİM 2008
ANKARA**

Emrah ÖCAL tarafından hazırlanan *Saccharomyces cerevisiae* 4 VE *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) SUŞLARININ BİYOSORPSİYONLA AĞIR METAL DİRENÇLİLİKLERİ VE HÜCRESEL TOTAL PROTEİN MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Yavuz BEYATLI
Tez Danışmanı, Biyoloji Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Emir CANSUNAR
Biyoloji, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Yavuz BEYATLI
Biyoloji, Gazi Üniversitesi

Doç. Dr. Nihal YÜCEL
Biyoloji, Gazi Üniversitesi

Tarih: 09/10/2008

Bu tez ile G.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

Prof. Dr. Nermin ERTAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Emrah ÖCAL

Saccharomyces cerevisiae 4 VE *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2)
SUŞLARININ AĞIR METAL DİRENÇLİLİKLERİ VE HÜCRESEL TOTAL
PROTEİN MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI
(Yüksek Lisans Tezi)

Emrah ÖCAL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAZİRAN 2008

ÖZET

Bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* 4 ve *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşlarının farklı konsantrasyonlardaki [NiSO₄, AgNO₃, CuSO₄.5H₂O, CdSO₄, ZnSO₄.7H₂O, CoSO₄] ağır metal tuzlarına karşı hücre gelişimi ve toplam protein miktarlarına etkilerinin belirlenmesi incelenmiştir. Metal tuzlarının, NiSO₄, 100–1700 mg/L; AgNO₃, 5–300 mg/L; CuSO₄.5H₂O, 500–2400 mg/L; CdSO₄, 5–200 mg/L; ZnSO₄.7H₂O, 10–2000 mg/L; CoSO₄, 100–1750 mg/L arasındaki konsantrasyon değerleri kullanılarak suşların metallerle karşı minimal inhibisyon konsantrasyon (MİK) düzeyleri ve istatistiksel olarak probit değerleri belirlenmiştir. *S. cerevisiae* 4 suşunda bu değerler sırasıyla; AgNO₃ için 200 mg/L ve LC₅₀ değeri 117,435 mg/L, CdSO₄ için 100 mg/L ve LC₅₀ değeri 3,420 mg/L, CoSO₄ için 1600 mg/L ve LC₅₀ değeri 717,102 mg/L, CuSO₄.5H₂O için 1700 mg/L ve LC₅₀ değeri 914,851 mg/L, NiSO₄ için 1600 mg/L ve LC₅₀ değeri 566,554 mg/L, ZnSO₄.7H₂O için 1800 mg/L ve LC₅₀ değeri 339,215 mg/L olarak tespit edilirken; *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşunda AgNO₃ için 100 mg/L ve LC₅₀ değeri 52,480 mg/L, CdSO₄ 90 mg/L ve LC₅₀ değeri 0,057 mg/L, CoSO₄ için 1250 mg/L ve LC₅₀ değeri 266,979 mg/L, CuSO₄.5H₂O için 2300 mg/L ve LC₅₀ değeri 1384,050 mg/L, NiSO₄ için 1000 mg/L ve LC₅₀ değeri 624,241 mg/L, ZnSO₄.7H₂O için 1500 mg/L ve LC₅₀ değeri 394,156 mg/L olarak bulunmuştur. Genel olarak *S. cerevisiae* 4 suşunun metal direncinin *S. cerevisiae*

2S1 TP (3-2) suşundan daha fazla olduğu gözlenmiştir. *S. cerevisiae* 4 ve *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşlarının düşük ve yüksek ağır metal konsantrasyonlarında toplam protein miktarları, kontrol besi ortamı ile karşılaştırıldığında, ağır metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak mayaların hücre içi protein miktarlarının azaldığı bulunmuştur.

Bilim Kodu : 203.1.023

Anahtar Kelimeler : *Saccharomyces cerevisiae*, Ağır Metal, Biyosorpsiyon

Sayfa Adedi : 91

Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Yavuz BEYATLI

**DETERMINATION OF HEAVY METAL RESISTANCE AND TOTAL
PROTEIN OF *Saccharomyces cerevisiae* 4 AND *Saccharomyces cerevisiae* 2S1**

TP (3-2)

(M. Sc. Thesis)

Emrah ÖCAL

GAZI UNIVERSITY

INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

JUNE 2008

ABSTRACT

In this study, it is aimed that the effects of heavy metals on *Saccharomyces cerevisiae* 4 and *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) in [NiSO₄, AgNO₃, CuSO₄.5H₂O, CdSO₄, ZnSO₄.7H₂O, CoSO₄] and total protein quantities are determined. By using concentration values of metal salts between NiSO₄, 100–1700 mg/L; AgNO₃, 5–300 mg/L; CuSO₄.5H₂O, 500–2400 mg/L; CdSO₄, 5–200 mg/L; ZnSO₄.7H₂O, 10–2000 mg/L; CoSO₄, 100–1750 mg/L minimal inhibition concentration (MIK) levels and statistical probit values of strains against metals were determined. MIC values in the *S. cerevisiae* 4 were determined as AgNO₃ for 200 mg/L and LC₅₀ values 117,435 mg/L, CdSO₄ for 100 mg/L and LC₅₀ values 3,420 mg/L, CoSO₄ for 1600 mg/L and LC₅₀ values 717,102 mg/L, CuSO₄.5H₂O for 1700 mg/L and LC₅₀ values 914,851 mg/L, NiSO₄ for 1600 mg/L and LC₅₀ values 566,554 mg/L, ZnSO₄.7H₂O for 1800 mg/L and LC₅₀ values 339,215 mg/L respectively; also MIC values in the *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) were determined as AgNO₃ for 100 mg/L and LC₅₀ values 52,480 mg/L, CdSO₄ 90 mg/L and LC₅₀ values 0,057 mg/L, CoSO₄ for 1250 mg/L and LC₅₀ values 266,979 mg/L, CuSO₄.5H₂O for 2300 mg/L and LC₅₀ values 1384,050 mg/L, NiSO₄ for 1000 mg/L and LC₅₀ values 624,241 mg/L, ZnSO₄.7H₂O for 1500 mg/L and LC₅₀ values 394,156 mg/L respectively. Yeast strains grown in low and high heavy metal concentration and total protein quantities were

determined comparing with control medium. It was found that the total protein quantities of yeast decreased with increasing heavy metal concentrations.

Science code : 203.1.023

Keywords : *Saccharomyces cerevisiae*, Heavy Metal, Biosorption

Page Number : 91

Advisor : Prof. Dr. Yavuz BEYATLI

TEŐEKKÖRLER

Bu tez alıőmam sűresince bilgi ve tecrűbelerinden yararlandıđım, her tűrlű őartlar altında yardımlarını ve ilgisini esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Yavuz BEYATLI' ya ve kıymetli tecrűbelerinden yararlandıđım Sayın Prof. Dr. Belma ASLIM' a, laboratuvar çalıőmalarında desteklerini ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Zehra Nur YŐKSEKDAĐ' a ve laboratuvarında çalıőan tűm arkadaőlarım, yűksek lisans eđitimim sűresince maddi ve manevi destekleri ile her zaman yanımda olan Babam İsmail ŐCAL ve Annem Rahime ŐCAL' a ve sevgili kardeőlerime teőekkűrlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

| | Sayfa |
|--|--------------|
| ÖZET | iv |
| ABSTRACT | vi |
| TEŞEKKÜR | viii |
| İÇİNDEKİLER..... | ix |
| ÇİZELGELERİN LİSTESİ | xiii |
| ŞEKİLLERİN LİSTESİ | xvi |
| SİMGELER VE KISALTMALAR | xviii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 2. KAYNAK ARAŞTIRMASI..... | 3 |
| 2.1. Ağır Metal..... | 3 |
| 2.2. Ağır Metal İyonlarının Sağlık Üzerine Etkisi | 5 |
| 2.3. Geleneksel Metal Uzaklaştırma Teknikleri..... | 6 |
| 2.3.1. İndirgeme-çökeltme yöntemi..... | 6 |
| 2.3.2. Yükseltgeme-çökeltme yöntemi | 7 |
| 2.3.3. Nötralizasyon-çökeltme yöntemi..... | 7 |
| 2.3.4. İyon değişimi | 7 |
| 2.4. Metal Biyosorpsiyonunda Biyolojik Süreçler ve Önemi | 7 |
| 2.5. Mayaların Genel Özellikleri | 8 |
| 2.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 'nin Genel Özellikleri..... | 9 |
| 2.7. Adsorpsiyon | 10 |
| 2.7.1. Fiziksel adsorpsiyon..... | 11 |
| 2.7.2. Kimyasal adsorpsiyon | 11 |

Sayfa

| | |
|---|----|
| 2.7.3. İyonik adsorpsiyon | 11 |
| 2.8. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler..... | 12 |
| 2.8.1. pH | 12 |
| 2.8.2. Sıcaklık | 12 |
| 2.8.3. Yüzey alanı | 12 |
| 2.9. Biyosorpsiyon..... | 12 |
| 2.10. Ağır Metal Gideriminde Kullanılan Mikroorganizmalar..... | 13 |
| 2.11. Biyosorbent Olarak <i>S. cerevisiae</i> nin Avantajları | 16 |
| 2.12. Biyosorpsiyon Araştırmasında <i>S. cerevisiae</i> | 17 |
| 2.13. <i>S.cerevisiae</i> ' nin Biyosorpsiyon Kapasitesi..... | 19 |
| 2.13.1. Metal iyonu alınımı..... | 19 |
| 2.13.2. Biyosorpsiyon kapasitesi..... | 19 |
| 2.14. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler..... | 21 |
| 2.14.1. Çevresel koşullar | 21 |
| 2.14.2. pH | 22 |
| 2.14.3. Sıcaklık..... | 22 |
| 2.14.4.Temas süresi | 23 |
| 2.14.5. Yarışan iyonlar/ ko-iyonlar | 23 |
| 2.14.6. Metal iyonların ve biyokütlenin başlangıç konsantrasyonu..... | 23 |
| 2.14.7. Kültür ortamının kompozisyonu..... | 24 |
| 2.14.8. Hücre yaşı..... | 25 |
| 2.15. Metal Tutma İşlemleri | 25 |
| 2.16. <i>S.cerevisiae</i> ' nin Biosorpsiyon Mekanizması | 25 |

| | Sayfa |
|---|--------------|
| 2.16.1. Hücre dışı birikim..... | 26 |
| 2.16.2. Hücre yüzeyinde birikim..... | 27 |
| 2.16.3 Hücre içinde birikim | 28 |
| 3. MATERYAL ve METOT | 32 |
| 3.1. Materyal..... | 32 |
| 3.1.1. Materyal örnekleri..... | 32 |
| 3.1.2. Mayaların aktifleştirilmesi ve gelişmesi | 32 |
| 3.1.3. Araştırmada kullanılan besiyortamı | 32 |
| 3.2. Metot | 33 |
| 3.2.1. Mayaların muhafazası | 33 |
| 3.2.2. Mayaların ağır metal dirençliliklerinin belirlenmesi | 33 |
| 3.2.3. Mayaların hücre gelişiminin ve canlı hücre sayısının belirlenmesi | 33 |
| 3.2.4. Mayaların toplam hücre protein miktarlarının belirlenmesi | 34 |
| 3.2.5. İstatiksel analiz | 35 |
| 4. ARAŞTIRMA BULGULARI..... | 36 |
| 4.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşunun Hücre Gelişimi | 36 |
| 4.1.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO ₃ besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini..... | 36 |
| 4.1.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini..... | 39 |
| 4.1.3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO ₄ besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 42 |

| | |
|---|----|
| 4.1.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 45 |
| 4.1.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO_4 besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 48 |
| 4.1.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 51 |
| 4.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşunun Hücre Gelişimi | 54 |
| 4.2.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO_3 besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 54 |
| 4.2.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 58 |
| 4.2.3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO_4 besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 61 |
| 4.2.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 64 |
| 4.2.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO_4 besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 67 |
| 4.2.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ besi ortamında hücre gelişimi ve total proteini | 69 |
| 5. SONUÇ ve ÖNERİLER | 72 |
| KAYNAKLAR | 83 |
| ÖZGEÇMİŞ | 91 |

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

| Çizelge | Sayfa |
|--|-------|
| Çizelge 2.1. Atık suları kirleten temel endüstri sektörleri | 3 |
| Çizelge 2.2. Metal biyosorbsiyonunda kullanılan bazı mikroorganizmalar | 14 |
| Çizelge 2.3. Bazı metal iyonlarının <i>Saccharomyces cerevisiae</i> tarafından biyosorpsiyon çalışmaları | 20 |
| Çizelge 2.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> nin metal tutma kapasitesi | 21 |
| Çizelge 4.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO ₃ içeren besiortamında hücre gelişimi..... | 36 |
| Çizelge 4.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda AgNO ₃ besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi ... | 37 |
| Çizelge 4.3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı AgNO ₃ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 38 |
| Çizelge 4.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ içeren besiortamında hücre gelişimi | 39 |
| Çizelge 4.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda CdSO ₄ besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi | 40 |
| Çizelge 4.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı CdSO ₄ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 41 |
| Çizelge 4.7. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO ₄ besiortamında hücre gelişimi..... | 42 |
| Çizelge 4.8. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda CoSO ₄ besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi | 43 |
| Çizelge 4.9. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı CoSO ₄ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 44 |
| Çizelge 4.10. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CuSO ₄ .5H ₂ O besiortamında hücre gelişimi | 45 |
| Çizelge 4.11. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda CuSO ₄ .5H ₂ O besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi | 46 |

| Çizelge | Sayfa |
|--|--------------|
| Çizelge 4.12. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 47 |
| Çizelge 4.13. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO_4 besiortamında hücre gelişimi | 48 |
| Çizelge 4.14. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda NiSO_4 besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi... | 49 |
| Çizelge 4.15. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı NiSO_4 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 50 |
| Çizelge 4.16. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi | 51 |
| Çizelge 4.17. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi..... | 52 |
| Çizelge 4.18. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 53 |
| Çizelge 4.19. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO_3 besiortamında hücre gelişimi | 54 |
| Çizelge 4.20. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda AgNO_3 besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi . | 55 |
| Çizelge 4.21. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı AgNO_3 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 56 |
| Çizelge 4.22. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO_4 besiortamında hücre gelişim..... | 57 |
| Çizelge 4.23. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda CdSO_4 besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi .. | 58 |
| Çizelge 4.24. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı CdSO_4 konsantrasyonlarda besiortamında toplam hücre içi protein miktarı | 60 |
| Çizelge 4.25. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO_4 besiortamında hücre gelişimi..... | 60 |
| Çizelge 4.26. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda CoSO_4 besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi .. | 61 |

| Çizelge | Sayfa |
|---|--------------|
| Çizelge 4.27. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı CoSO_4 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 62 |
| Çizelge 4.28. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi | 63 |
| Çizelge 4.29. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi..... | 65 |
| Çizelge 4.30. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 66 |
| Çizelge 4.31. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO_4 besiortamında hücre gelişimi..... | 66 |
| Çizelge 4.32. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda NiSO_4 besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi ... | 67 |
| Çizelge 4.33. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı NiSO_4 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 68 |
| Çizelge 4.34. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi | 69 |
| Çizelge 4.35. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun düşük ve yüksek konsantrasyonlarda $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi..... | 70 |
| Çizelge 4.36. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı | 71 |

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

| Şekil | Sayfa |
|--|--------------|
| Şekil 4.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO ₃ besiortamında hücre gelişimi | 37 |
| Şekil 4.2. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO ₃ probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 38 |
| Şekil 4.3. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ besiortamında hücre gelişimi..... | 40 |
| Şekil 4.4. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 41 |
| Şekil 4.5. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO ₄ besiortamında hücre gelişimi..... | 43 |
| Şekil 4.6. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO ₄ probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 44 |
| Şekil 4.7. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CuSO ₄ .5H ₂ O besiortamında hücre gelişimi | 46 |
| Şekil 4.8. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CuSO ₄ .5H ₂ O probit değerleri ve regresyon grafiği.... | 47 |
| Şekil 4.9. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO ₄ besiortamında hücre gelişimi | 49 |
| Şekil 4.10. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO ₄ probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 50 |
| Şekil 4.11. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO ₄ .7H ₂ O besiortamında hücre gelişimi | 52 |
| Şekil 4.12. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO ₄ .7H ₂ O probit değerleri ve regresyon grafiği .. | 53 |
| Şekil 4.13. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO ₃ besiortamında hücre gelişimi grafiği..... | 54 |
| Şekil 4.14. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO ₃ probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 56 |

| Şekil | Sayfa |
|--|--------------|
| Şekil 4.15. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ besiortamında hücre gelişimi grafiği..... | 58 |
| Şekil 4.16. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO ₄ probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 59 |
| Şekil 4.17. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO ₄ besiortamında hücre gelişimi grafiği..... | 61 |
| Şekil 4.18. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO ₄ probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 62 |
| Şekil 4.19. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CuSO ₄ .5H ₂ O besiortamında hücre gelişimi grafiği..... | 64 |
| Şekil 4.20. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CuSO ₄ .5H ₂ O probit değerleri ve regresyon grafiği..... | 65 |
| Şekil 4.21. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO ₄ besiortamında hücre gelişimi grafiği | 67 |
| Şekil 4.22. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO ₄ probit değerleri ve regresyon grafiği | 68 |
| Şekil 4.23. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO ₄ .7H ₂ O besiortamında hücre gelişimi grafiği..... | 70 |
| Şekil 4.24. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> 4 suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO ₄ .7H ₂ O probit değerleri ve regresyon grafiği | 71 |

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

| Simgeler | Açıklama |
|--------------------|-----------------------|
| °C | Santigrat Derece |
| g/L | Gram/Litre |
| M | Molar |
| mg/mL | Miligram/ Mililitre |
| mL | Mililitre |
| N | Normal |
| nm | Nanometre |
| pH | Asitlik Bazlık Birimi |
| rpm | Devir Sayısı |
| spp | Species (Türleri) |
| subsp | Subspecies (Alt Tür) |
| µg/mL | Mikrogram/ Mililitre |
| µL | Mikrolitre |
| µm | Mikrometre |
| % | Yüzde |
| Kısaltmalar | Açıklama |
| Cfu | Colony forming unit |
| dk | Dakika |
| MTS | Metallotionein |
| OD | Optikal Dansite |

1. GİRİŞ

Biyolojik bilimlerde özellikle de moleküler biyolojide son gelişmeler teknolojiye çok geniş bir uygulama alanının oluşmasını sağlamıştır. Aktiviteleri geleneksel olarak her türlü canlı veya biyolojik sistemden uzak olan birçok endüstri günümüzde canlı hücrelerdeki mevcut potansiyelin farkına varmışlardır. Canlı hücreleri kullanılarak yapılabilecek işlemler arasında ham maddeleri ön uygulamalara tabi tutma, çeşitli üretim operasyonlarında kullanma, ürünleri değiştirme, seçici olarak atık maddeleri temizleme, enerji geri dönüşümü ve koruma gibi uygulamalar yer almaktadır. Çevre açısından ise son yıllarda dünya nüfusunun hızlı artışı ile gelişen teknolojik gelişmeler insanlığa büyük yarar sağlarken, beraberinde istenilmeyen düzeyde atık sorunu yaratmıştır [Wang ve Chen, 2006]. Geçen süreç içerisinde insanlar doğayı tükenmez kaynak zinciri olarak algılamış hiçbir önlem almadan yapılan ve işletilen sanayi işletmeleri tüm dünyaya yayılmıştır. İnsan aktivitesi sonucu meydana gelen aşırı miktardaki organik ve inorganik bileşikler her yıl çevreye bırakılmaktadır [Gavrilescu, 2004]. Ağır metallerin nehirlerde ve sulu ortamlarda birikmesi hem akuatik yaşamı olumsuz yönde etkilemekte hemde besin zinciri içerisinde insan sağlığını tehdit etmektedir [Senthilkumaar ve ark., 2000]. Ayrıca bazıları çevrede lipofil özellik kazanarak su, bitki ve hayvanlar da birikip besin zinciri ile insanlara ulaşmaktadır [Malik, 2004]. Atıkların çevre kirlenmesine neden olmakla beraber ekolojik dengenin bozulmasında da önemli rol oynadığı bilinmektedir. İnsanlık bunun için önlemler almaya ve bu atıkların giderimi için yeni yöntemler aramaya başlamıştır. Bunun için ise üzerinde önemle durulan alan çevre biyoteknolojisidir.

Artan uygulamalar dolayı ağır metal kirliliği bugün en ciddi problemlerden biri haline gelmiştir. Sulu çözeltilerden metal iyonlarının uzaklaştırmasını sağlayan; kimyasal presipitasyon, iyon değiş tokuşu, elektrokimyasal uygulama, membran teknolojileri, aktif karbona absorpsiyon... gibi geleneksel metodlar detaylı olarak çalışılmıştır. Ancak, sulu çözeltilerdeki metal iyon konsantrasyonunun 1–100 mg/L kadar düşük olduğu durumlarda kimyasal presipitasyon ve elektrokimyasal uygulamalar yetersizdir ve yüksek miktarda çamur (tortu) oluşturmaktadır. Birçok farklı mikroorganizma biyosorbentler olarak biyosorbentler metalleri tutma

özelliklerine sahiptirler ve çözeltilerdeki ağır metal iyonlarının konsantrasyonunu düşürebilirler. Bunlar seyreltik karmaşık çözeltilerdeki çözülmüş metal iyonları yüksek bir verimlilikle ve hızlıca bağlayarak çözeltilerden uzaklaştırılabilir. Bu sebeple, biyosorpsiyon yüksek hacimli ve düşük konsantrasyonlu karmaşık atık suların temizlenmesinde ideal bir yöntemdir [Veglio ve Beolchini, 1997].

Bu çalışmada *Saccharomyces cerevisiae* 4 ve *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşlarının çevre kirliliği sorunlarının başında gelen bakır (Cu), nikel (Ni), çinko (Zn), kobalt (Co), kadmiyum (Cd) ve gümüş (Ag) gibi ağır metallere karşı dirençlilikleri ile hücresel total protein miktarlarını belirlemektir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Ağır Metal

Atık ağır metal oluşumuna neden olan işlemlerden bazıları, metal kaplamacılığı, metal cilalama işlemleri, madencilik ve maden cevherleri işlemleri, metal işlemleri, pil ve akümülatör üretim işlemleri, termal güç üretimi, nükleer güç üretimi olarak sıralanabilir [Gavrilescu, 2004]. Çizelge 1.1 de atık sulara metal bırakan temel endüstri sektörleri detaylandırılmıştır [Volesky, 2001].

Çizelge 2.1. Atık suları kirleten temel endüstri sektörleri

| Endüstri | Metaller | Bulunması Muhtemel Diğer Metaller |
|-----------------------------|---|-----------------------------------|
| Maden İşlemleri | Katyonlar; Cu, Zn, Pb, Mn, U Anyonlar; Cr, As, Se, V.. | Fe, Al Sülfatlar, fosfatlar |
| Akım ile kaplama işlemleri | Cr, Ni Cd, Zn | Fe, yüzey aktif maddeleri |
| Metal işleme | Cr, Zn, Mn | Fe, Al, yüzey aktif maddeleri |
| Yanmış kömür güç kaynakları | Cu, Cd, Mn, Zn | Fe, Al |
| Nükleer endüstri | U, Th, Ra, Sr, Eu, Am | Fe |
| Özel işlemler | Hg, Au ve diğer metaller | |

Toksik etkisi gösteren metaller, suda düşük konsantrasyonlarda bulunmaları durumunda bile insan sağlığına zararlı hastalıklara ve hatta ölümlere yol açabilmektedirler. Eser miktarda bile toksik etkisi yapabilen bu maddeler arasında en önemlileri; Ag, Cd, Cr, Pb, Mn, Ni, Se, Zn gibi elementler oluşturmaktadır [Uslu ve Türkman, 1987]. Söz konusu elementler ağır metal grubuna girmektedir. Ağır metallerin önemli bir kirletici grubunu oluşturdukları bilinmektedir. Bunların toksik ve kanserojen etkileri olduğu gibi, canlı organizmalarda birikme eğilimi de söz konusudur. Krom, Civa, kurşun, kadmiyum, mangan, kobalt, nikel, bakır ve çinko gibi metaller doğada genellikle sülfür, oksit, karbonat, ve silikat, mineralleri şeklinde

bulunmaktadır. Bunların suda çözünürlükleri oldukça düşüktür. Atık suyun içindeki bor, ağır metal ve benzeri toksik maddeler; yörenin iklim şartına ve toprak özelliklerine bağlı olarak toprakta birikebilir. Bitki tarafından alınabilir veya suda kalabilir. Çok küçük miktarlarda bile genellikle kuvvetli toksik etkisine sahip olan ağır metaller, kirlenmiş sularda metal, katyon, tuz ve kısmen anyon şeklinde bulunurlar. Bunlar hem kirlenmiş suların kendiliğinden temizlenmesini engelleyebilir, hem de suların arıtılmış halde sulamada kullanılmasını ve arıtma çamurlarının gübre olarak kullanılmasını sınırlandırabilirler. Suların kendiliğinden temizlenmesi için gerekli mikrobiyal aktivite 10 mg/L konsantrasyonu ile büyük ölçüde engellenmektedir. Mangan ve demir, ağır metaller arasında en zehirsiz metaller sayılırlar. Litrede 0,5 mg/L demir veya mangan içeren içme suları, mürekkep tadını veya mürekkep kokusu vermektedir. Demir de mangan gibi, tedrici olarak zehirsiz sayılmaktadır. Buna rağmen sulardaki yüksek demir konsantrasyonu mikrofloranın büyük ölçüde değişmesine neden olur. Demir oksit, demir hidroksit ve iki değerlikli demir bileşikleri fazla zararlı değildir. Demir hidroksit balıkların solungaçlarını tıkayarak ölmelerine neden olur. İçme sularında ise 0,5 mg/L Fe, renk ve tat ile anlaşabilecek bir konsantrasyondur. Krom, kirlenmiş sularda hem katyon, hem de anyon (kromat, bikromat veya kromik asit) olarak bulunabilir. Anyon formu katyon formundan daha etkilidir. İçme sularında en fazla 0,05 mg/L Pb bulunmalıdır. Belirli konsantrasyonlarda çinko, sulardaki mikroflorayı olumsuz yönde etkilemektedir. Bakır ve nikel, çinkonun toksik etkisini artırır. İçme suyunda 5 mg/L düzeyindeki çinko zararsız kabul edilmektedir. Bakır özellikle küçük canlılar için yüksek derecede zehirlidir. Hafif alkali sularda hidroksit, çürüyen organik madde içeren sularda sülfür şeklinde çökelir. Sert sularda toksik etkisi daha azdır. İçme sularında en fazla 0.05 mg/L Cu bulunmalıdır [Wang ve Chen, 2006].

Biyosorpsiyon alanında yer alan ağır metaller genellikle üç katagori şeklinde sınıflandırılır: toksik metaller (Hg, Cr, Pb, Zn, Cu, Ni, Cd, As, Co, Sn... gibi), değerli metaller (Pb, Pt, Ag, Au, Ru...) ve radyonuklidler (U, Th, Ra, Am...) bu metaller özgül ağırlıkları genellikle 5.0 g/cm³ ten daha fazladır [Volesky, 1990a].

2.2. Ağır Metal İyonların Sağlık Üzerine Etkisi

Metallerin bir kısmı büyüme için gerekli olup, yokluğunda büyümeyi durdurucu etkiler ortaya çıkmaktadır. Sodyum, potasyum, kalsiyum ve magnezyum gibi hafif metaller, hücre ve enzimler için gerekli olup hücreler arasındaki elektronötraliteyi sağlarlar. Diğer ağır metaller (çinko, demir, kalay, krom, mangan vb.) ise canlı yapısında düşük konsantrasyonlarda bulunurlar ve bazıları proteinlerin, bazıları enzimlerin (biyokatalizörler) yapısında yer alırlar. Ağır metaller genelde protein molekülleri ile kuvvetli bağlar oluşturma eğilimindedirler ve birçok durumda enzim-metal kompleksini oluşturmaktadırlar. Çoğu enzim fonksiyonu özel bir protein-metal iyonu kombinasyonuna bağlı olarak yürümektedir. Bununla beraber, civa, kurşun, vb. ağır metaller organizma için gerekli olan eser elementlerle rekabet içinde olup, bu eser elementlerin yerini almakta, bakır, çinko gibi bazı metallerin yüksek konsantrasyonları belirli proteinlerin işlevini durdurmakta veya bozabilmektedir. Havada bulunan partiküllerin % 0,01-3'ünü sağlık yönünden toksik etkiler gösteren eser elementler meydana getirir. Bunların sağlık yönünden önemi insan dokularında birikime uğramalarından ve muhtemel sinerjik etkilerinden kaynaklanmaktadır. Havadan solunum yolu ile alınan partiküllere ek olarak, tüketilen besinler, içilen su aracılığı ile de önemli miktarda metalik partiküller maddeler vücuda alınmaktadır. Atmosfer kirliliğinin bir bölümünü oluşturan metaller; fosil yakıtların yanması, endüstriyel işlemler, metal içerikli ürünlerin insineratörler de yakılması sonucunda ortama yayılmaktadır [Seventekin ve Özdoğan, 1998; Seventekin, 1995].

İnsan sağlığını geniş çapta olumsuz yönde etkileyen metaller arasında atmosferde yaygın olarak bulunan; kurşun, kadmiyum, nikel, civa metalleri ve asbest önem taşımaktadır. Diğer metallerin bir kısmı insan yaşamında temel yönden önem taşır, diğer bir kısmının konsantrasyonu ise insan sağlığını tehdit edecek boyutta olmadığından önem göstermez. Belirli limitlerin dışında bulunabilecek her türlü metal, insan sağlığı üzerinde toksik etki gösterir [Seventekin ve Özdoğan, 1998; Seventekin, 1995].

Canlı organizmada *krom etkisi*; dermatit ve ülser oluşması ve akciğer kanseri, *civa etkisi*; akut ve kronik zehirlenmeler sonucu, bulantı, ruhi bozukluklar, titreme ve konuşma bozuklukları, *kurşun etkisi*; sinir sistemi bozuklukları ve yüksek kan basıncına, *arsenik etkisi*; merkezi sinir sisteminde, kan dolaşımında rahatsızlıklar ve cilt kanseri, *kadmiyum etkisi*; ciğer ve böbrek fonksiyonlarında bozukluklar, kobalt etkisi; ağırlık kaybı ve anemi, *nikel etkisi*; yüksek derecede alerjik bir madde, *bakır etkisi*; süt bebeklerinde akciğer hastalıkları, *çinko etkisi*; yüksek konsantrasyonlarda toksik hatta öldürücü bir etki gösterirler [Seventekin ve Özdoğan, 1998; Seventekin, 1995].

Ağır metallerin toksik özelliklerinin ortaya çıkış şekilleri.

- 1- Toksikite doğada çok uzun bir süre kalabilir.
- 2- Bazı ağır metaller uygun az toksik türlerden belirli bir çevrede daha toksik şekillere dönüşebilirler (örnek civa) .
- 3- Ağır metallerin besin zinciri yoluyla biyoakümüasyonu ve biyoagümentasyonu normal fizyolojik aktiviteye zarar verebilir ve sonuçta insan yaşamını tehlikeye sokabilir.
- 4- Metaller sadece değerlik ve tür olarak biçim değiştirebilir veya değişebilir ancak biyo uygulamayı içeren hiçbir yöntem ile ayrıştırılamazlar.
- 5- Ağır metallerin toksisitesi 1,0- 10 mg/L gibi düşük konsantrasyonda bile oluşabilmektedir. Hg ve Cd gibi daha güçlü bir toksisiteye sahip metaller ise 0,001–0,1 mg/L gibi daha düşük konsantrasyonlarda bile çok toksiktirler [Volesky, 1990a; Bishop, 2002].

2.3. Geleneksel Metal Uzaklaştırma Teknikleri

Ağır metal içeren atıksuların arıtımı genelde işletmenin kapasitesine, atıksu debisi ve karakteristiklerine, işleme, arıtma tesisine, kullanılan kimyasallara bağlı olmakla birlikte, temeli kimyasal olarak metal iyonunun çökebilen bir bileşiği şekline dönüştürülmesi ilkesine dayanır ve başlıca dört kısımda incelenebilir [Saltabaş, 1998; D.S.İ. Genel Müdürlüğü, 1980].

2.3.1. İndirgeme-çökeltme yöntemi

Bu yöntemle yüksek değerlikli metal, çökebilene bir şekline indirgendikten sonra, nötrale edilir, reaktifin aşırısı metali çökeltir. Çöktürmede karıştırma, flokülasyon, koyulaştırma ve süzme işlemleri yapılır. Bu yöntem özellikle kromlu atıkların arıtımında kullanılır [Saltabaş, 1998; D.S.İ. Genel Müdürlüğü, 1980].

2.3.2. Yükseltgeme-çökeltme yöntemi

Bu yöntemde indirgenmiş metal, kararlı, yükseltgenmiş ve çözünmeyen şekillerine dönüştürülür. Bu tür bir atık arıtma işleminde, havalandırma-sedimentasyon-filtrasyon olmak üzere ardışık üç basamakla gerçekleşir. Bu yöntem özellikle demir ve mangan içeren atıkların arıtımında kullanılır [Saltabaş, 1998; D.S.İ. Genel Müdürlüğü, 1980].

2.3.3. Nötralizasyon-çökeltme yöntemi

Krom(VI), bakır(II), çinko(II), nikel(II), demir(II), kadmiyum(II) gibi ağır metal iyonları ortama kireç, soda ve/veya sodyum hidroksit katılarak nötrale edilir, hidroksitleri şeklinde çöktürülerek atıksudan uzaklaştırılır [Saltabaş, 1998; D.S.İ. Genel Müdürlüğü, 1980].

2.3.4. İyon değişimi

Bu yöntem ağır metal iyonlarının, elektrostatik kuvvet ile fonksiyonel grup halinde katı yüzeyinde tutularak, ortamdaki farklı türdeki iyonlarla değiştirilmesi ilkesine dayanır. Bu amaçla iyon değiştirici reçineler kullanılır [Saltabaş, 1998; D.S.İ. Genel Müdürlüğü, 1980].

2.4. Metal Biyosorpsiyonunda Biyolojik Süreçler ve Önemi

Biyolojik süreçlerle metal arıtımı, özellikle mikropsal hücrelerle yapılan metal biyosorpsiyonu etkili ve alternatif bir teknoloji oluşturacak güçtedir. Metallerin biyosorpsiyon sürecinin temelde iki hedefi vardır. Birincisi altın, gümüş ve platin gibi ticari değere sahip paslanmaz metallerin geri kazanımını; ikincisi ise canlı sistemleri ve çevresi için çok az derişimlerde bile son derece toksik olan civa, bakır, demir, kurşun, krom, kadmiyum, nikel ve çinko gibi ağır metallerin kirli sulardan uzaklaşımıdır [Costa, 1991]. Arıtım sistemlerinde, özellikle biyolojik arıtım süreçlerinde mikroorganizmaların kullanılması arıtımın daha etkili ve randımanlı yapılmasını da sağlayacaktır [Sağlam ve Cihangir, 1995].

2.5. Mayalar'ın Genel Özellikleri

Mayalar mantar ailesinin geniş bir bölümünü oluştururlar. Doğada çok yaygın olarak bulunan mayaların hücre yapıları büyük oranda proteinler, polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitlerden oluşur. Hücre büyüklüğüne göre bakterilerle yüksek mantarlar arasında yer alırlar. Maya hücre zarı genellikle protein, lipid ve fosfat yapıdadır. Genel olarak maya hücrelerinin %75'i su geri kalanı ise diğer maddelerdir. Diğer maddelerin yaklaşık yarısını proteinler, geri kalan kısmını da karbonhidratlar, yağlar, aminoasitler, peptidler, vitaminler ve enzimler oluşturur. Mayalarda bulunan enzimler hidrolazlar ve desmolazlar olarak iki ana gruba ayrılabilir. Hidrolaz enzimleri karbohidrolaz, proteaz ve esterazlardır. Desmolaz enzimleri yükseltgenme ve indirgenme tepkimelerini katalizler. Ayrıca hücre zarında permaz enzimleri dış ortamdan hücre içine madde transferini sağlar [Walker, 2000].

Mayaların üremeleri bölünerek ya da tomurcuklanarak olmaktadır. Maya hücreleri, hücre boyutları, şekilleri ve renkleri bakımından geniş bir dağılım gösterirler. Hücre şekilleri genellikle küresel, elipsoidal, uç kısımları küresel silindirik veya oval olabilmektedir. Mayaların hücre çapları bazı türlerde farklılık göstermesine karşın, genellikle 1-10 µm aralığında değişmektedir. Mayaların gelişebilmeleri ve aktivitelerini devam ettirebilmeleri için bazı ortam şartlarına ve bazı besin

maddelerine ihtiyaçları vardır. Mayaların üremelerini etkileyen en önemli ortam şartları pH, sıcaklık ve havalandırmadır. Mayalar asidik ortamda gelişebilen mikroorganizmalardır. Mayalar havalandırılmalı ve havasız ortamda üreyebilirler. Ancak havalandırılmalı ortamda daha hızlı ürerler. Havasız ortamda ise besin maddesini etil alkole dönüştürürler. Maya büyümesine ortam şartları dışında bazı besin maddeleri de doğrudan etki eder. Heterotrof bir mikroorganizma olan mayaların en önemli ve üremesini kısıtlayan ve kontrol eden besin maddesi karbonhidratlardır. Bu karbonhidrat kaynağı glukoz, sakkaroz, fruktoz, mannoz veya laktoz olabilir. Mayaların üremesine etki eden bir diğerk önemli madde ise azottur. Bunun yanında potasyum, fosfor, kalsiyum, magnezyum gibi maddelere de ihtiyaç duyarlar [Walker, 2000].

Mayaların çevresel biyoteknolojide önemi gittikçe artmaktadır. Atıksulardan biyosorpsiyon ve biyobirikim yöntemleriyle ağır metal iyonlarının ve boyarmaddelerin giderimi ve geri kazanımı çalışmalarında çeşitli türdeki mayalar başarıyla kullanılmaktadır. Mayaların zorlu ortam koşullarında, örneğin, asidik ve toksik etkiye sahip ağır metal iyonu içeren ortamlarda üreyebilme dayanıklılığı göstermesi ve bu tür maddeleri hücre içersine alabilme özelliğinin bulunması (biyobirikim), mayaların diğerk mikroorganizmalara göre üstünlüğünü göstermektedir. İlaç endüstrisinde aşı üretimi ve özellikle insan tedavi amaçlı proteinlerin, hormonların ve kan faktörlerinin üretiminde de mayalar kullanılmaktadır. Tek hücre proteinlerinin üretilmesi ve bunların farklı fonksiyonel gruplar içermesi önemli uygulamalardan sayılabilir [Walker, 2000].

2.6. *Saccharomyces cerevisiae* 'nin Genel Özellikleri

S. cerevisiae normal yaşam alanları meyve yüzeylelidir, fakat bilenen en önemli yeri ekmek ve maya endüstrisidir. Bira mayası olarak da bilinir ve toplu olarak bulunur. Dimetil sülfat ve etil ester ile bileşiklere tat verir. Mayalar vitamin ve hayvansal yem olarak geri dönüşümlü bir şekilde kullanılabilir [Klis ve ark., 2006].

Hücre duvarının 4 önemli fonksiyonu

- 1- İçsel osmotik basıncı korur. Hücre dışından hücre içerisine sıvıların girmesini engeller.
- 2- Fiziksel strese korur. Hücre duvarı sadece osmotik basıncı dengelemez, bunun yanında koruyucu bir yapısı vardır.
- 3- Hücreye şekil verir. Hücre şekli ovaldir fakat nitrojen gibi gerekli bazı maddeler kısıtlandığı zaman uzun şekli aldığı da gözlenmiştir.
- 4- Hücre duvarında proteinler yapı iskeletini oluşturur. Glikoprotein maya hücrelerinin dışında yapı iskeletinin en önemli proteindir ve hücrede stres şartlarında görev yapar [Klis ve ark., 2006].

Hücre Duvarının Moleküler Yapısı

S. cerevisiae metabolik enerjisinin büyük kısmını hücre duvarı yapımı için kullanır. Toplam biyomasın % 10-25 arası hücre kuru ağırlığı teşkil eder. Hücre kuru ağırlığının da büyük kısmını polisakkaritler, karbonhidratlar, madensel tuzlar ve yağlardan oluşur. Polisakkaritin önemli bölümünü 1,3- β -glukan kapsar. 1,3- β -glukan moleküller sadece hidrojen bağları ile ilişkilendirilir ve sonuçta üç boyutlu ağ ile süreklilik kazanır. Bu ağ normal osmotik koşullar altında oldukça elastik bir yapıyı almıştır. Karbonhidratlar; trehaloz, glikojen, manan ve glükandır. Madensel maddeler; potasyum, fosfor, magnezyum, kalsiyum ve sodyumdur [Klis ve ark., 2006].

2.7. Adsorpsiyon

Adsorpsiyon, akışkan fazda çözünmüş haldeki belirli bileşenlerin bir katı adsorbent yüzeyine tutunmasına dayanan ve faz yüzeyinde görülen yüze tutunma olayıdır.

Katı örgüsü içinde bulunan iyonlar çekim kuvvetlerince dengelenmiştir. Ancak katı yüzeyindeki atomların dengelenmemiş kuvvetleri, çözültideki maddeleri katı yüzeyine çekerler ve yüzey kuvvetleri dengelenmiş olur. Bu şekilde çözültideki maddelerin katı yüzeyine adsorpsiyonu gerçekleşir.

Atom, iyon ya da moleküllerin bir katı yüzeyinde tutulmasına adsorpsiyon, tutulan taneciklerin yüzeyden ayrılmasına desorpsiyon, katıya adsorblayıcı (adsorbent), katı yüzeyine tutunan maddeye ise adsorblanan (çözünen) adı verilir.

Günümüzde adsorpsiyon, birçok doğal fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemde önem taşımaktadır. Ayrıca adsorpsiyon işlemi, atıksulardaki organik ve kimyasal kirleticilerin uygun bir katı yüzey üzerine tutularak giderilmesi işleminde de sıklıkla kullanılmaktadır.

Adsorplayan madde yüzeyi ile adsorplanan kimyasal arasındaki çekim kuvvetlerine bağlı olarak gerçekleşen üç tür adsorpsiyon işlemi tanımlanmaktadır.

2.7.1. Fiziksel adsorpsiyon

Katı yüzey ile adsorplanan madde molekülleri arasındaki çekim kuvvetleri sonucu oluşan adsorpsiyon olayıdır. Burada zayıf Van der Waals kuvvetleri etkindir ve işlem tersinirdir. Adsorbant katının kristal örgüsü içine girmez ve çözünmez fakat yüzeyi tamamen kaplar. Adsorpsiyon sonucu yoğunlaşma enerjisinden biraz fazla ısı açığa çıkar [Yalçuk, 1999; Bahadır 2005].

2.7.2. Kimyasal adsorpsiyon

Adsorplanan madde ile katı yüzey arasındaki fonksiyonel grupların kimyasal etkileşimi ile oluşan adsorpsiyon tipidir. Adsorpsiyon tersinirdir ve tek tabakalıdır. Adsorpsiyon sırasında açığa çıkan ısı reaksiyon ısısından daha yüksektir [Yalçuk, 1999; Bahadır 2005].

2.7.3. İyonik adsorpsiyon

Elektrostatik çekim kuvvetlerinin etkisi ile iyonlar yüzeydeki yüklü bölgelere tutunmaktadır. Burada adsorplayan ile adsorplananın iyonik güçleri önemlidir. İyonlar eş yüklü ise daha küçük olan tercihli olarak yüzeye tutulur.

Fiziksel, kimyasal ve iyonik Adsorpsiyon arasında kesin bir ayrım yapılamaz, üçü aynı anda veya ardı ardına gerçekleşebilir [Yalçuk, 1999; Bahadır 2005].

2.8. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler

2.8.1. Ph

Adsorpsiyonu etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Hidrojen ve hidroksil iyonları kuvvetle absorbe olduklarından diğer iyonların adsorpsiyonun da çözelti pH' ı etkilidir. Ayrıca asidik ve bazı bileşiklerin iyonizasyon derecesi de adsorpsiyonu etkiler [Harward ve ark., 1964; Oğuz 1986].

2.8.2. Sıcaklık

Adsorpsiyon işlemi genellikle ısı veren bir tepkime biçiminde gerçekleşir. Bu nedenle azalan sıcaklık ile adsorpsiyon büyüklüğü artar. Açığa çıkan ısının genellikle fiziksel adsorpsiyon yoğunlaşma ve kristalizasyon ısıları seviyesinde kimyasal adsorpsiyon da ise kimyasal reaksiyon ısıları seviyesinde olduğu bilinmektedir [Harward ve ark., 1964; Oğuz 1986].

2.8.3. Yüzey alanı

Adsorpsiyon bir yüzey işlemi olduğundan, özgül yüzey alanı ile orantılıdır. Adsorplayıcının partikül boyutunun küçük, yüzey alanının geniş ve gözenekli yapıda olması adsorpsiyonu artırır. İyonlaşma arttıkça adsorpsiyon azalır. Yüklü türler için adsorpsiyon minimum, nötral olanlar için maksimumdur [Harward ve ark., 1964; Oğuz 1986] .

2.9. Biyosorpsiyon

Biyosorpsiyon, çeşitli bileşiklerin (organik, inorganik, metal iyonu vb), biyolojik kökenli maddeler tarafından (biyokütle, biyopolimer vb.) ortam pH' na bağlı olarak

aktif ya da pasif alınımı olarak tanımlanır. Pasif alınımlar biyosorbent yüzeyindeki aktif merkezlere yüzey adsorpsiyonu, kompleks ve şelat oluşumu gibi mekanizmalarla gerçekleşirken, aktif alınımlar ise kirleticinin hücre içine alınımı şeklinde olup, kovalent bağ oluşumu, yüzey çöktürme, redoks reaksiyonları, hücre zarından sitoplazmaya taşınım ve sitoplazmadaki protein, lipid gibi yapılara bağlanma şeklinde olur [Yılmaz, 2006].

Canlı ya da cansız hücrelerle biyosorpsiyonda ise cansız hücre kullanımının birçok avantajı vardır. Örneğin mikroorganizmanın yüksek miktarda kirletici adsorplamasıyla veya endüstriyel atık suda ki yüksek kirletici derişimi ile ortaya çıkan aşırı kirletici birikimi, canlı hücre üzerinde toksik etki yaparak mikrobiyal büyümeyi inhibe eder. İnaktive edilmiş hücre sistemlerinde ise bu tür bir problem olmadığı canlı sistemlerdeki gibi besin ihtiyaçları da yoktur [Yılmaz, 2006].

Biyosorpsiyon oldukça hızlı bir süreç olmasının yanında çoğunlukla seçicidir. İyon veya moleküllerin mikroorganizmaya biyosorpsiyonu hızı ve kapasitesi ortam pH' ı, sıcaklık, başlangıç kirletici derişimi, biyosorbent miktarı, ortamda bulunan diğer anyon ve katyon değişimleri gibi pek çok parametreye bağlıdır [Aksu, 1998].

Mikroorganizmalarla yapılan, adsorpsiyon işlemi "biyosorpsiyon" olarak tanımlanmaktadır. Biyosorpsiyon aslında fiziksel ve kimyasal adsorpsiyon, iyon değişimi, koordinasyon, kompleksleşme, mikro çökelme vb. gibi birçok pasif giderim işlemlerini adlandırmaktadır.

2.10. Ağır Metal Gideriminde Kullanılan Mikroorganizmalar

Metal biyosorpsiyonunda etkin olarak kullanılacak biyolojik moleküller oldukça geniş bir spektruma sahiptir. Özellikle mikroorganizma grubu içerisinde alglerde dahil olmak üzere çeşitli bazı bakteri, maya, mantar türleri gösterilmiştir (Çizelge 2.2) [Sağlam ve Cihangir, 1999].

İlk olarak Polikarpov (1966), radyoaktif elementlerin sulu ortamda mikroorganizmalar tarafından doğrudan adsorplana bildiğine dikkat çekerek, bu özelliğin

mikroorganizmalarda yaşam fonksiyonlarından bağımsız olduğunu iddia etmiştir [Tsezos and Volesky, 1981].

Tezuka (1968), aktif çamur bakterisinin tersinir flokulasyonunun negatif yüklü hücre yüzeyleri ile çözeltideki Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi iki değerlikli katyonlar arasında kurulan iyonik bağ köprülerinin bir sonucu olduğunu ileri sürmüştür. Bu konuda Chiu (1972) yaptığı çalışmalarda, uranyum giderebilen bir fungal kültürü atıktan izole etmeyi başarmıştır [Tsezos and Volesky, 1981].

Beveridge ve Murray (1976), *Bacillus subtilis*' in saf hücre duvarının yüksek atom numaralı elementleri adsorpladığını ve daha sonra bu elementlerin geri kazanılabileceğini göstermiştir.

S. cerevisiae' nın uranyum adsorpsiyonu üzerine pH, sıcaklık ve ortamda bulunan diğer anyon ve katyonların derişimlerinin etkisini incelemiştir [Shumate ve ark., 1980].

Çizelge 2.2. Metal biyosorpsiyonunda kullanılan bazı mikroorganizmalar

| Organizma | Metal Biyosorpsiyon Çeşitleri |
|---------------------------------|---------------------------------------|
| 1) Bakteri Türleri | |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | Kadmiyum |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | Nikel |
| <i>Citrobacter sp.</i> | Uranyum |
| <i>Arthrobacter sp.</i> | |
| 2) Maya Türleri | |
| <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | Çinko/ Bakır/ Uranyum/Kadmiyum |
| <i>Sporobolomyces roseus</i> | Kobalt/Gümüş/Nikel/Kurşun |
| <i>Kluyveromyces maxianus</i> | |
| <i>Candida utilis</i> | |
| 3) Küf Türleri | |
| <i>Neurospora crassa</i> | Nikel |

| | |
|-------------------------------|----------------------------|
| <i>Pleurotus ostreatus</i> | Kadmiyum |
| <i>Rhizopus arrhizus</i> | Uranyum |
| <i>Penicillium spinulosum</i> | |
| <i>Aspergillus niger</i> | |
| 4) Alg Türleri | |
| <i>Chlorella homosphaera</i> | |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | Çinko/Kurşun/Kobalt |
| <i>Aseophyllum nodosum</i> | Kadmiyum/Altın |
| <i>Scenedesmus carinatus</i> | |
| <i>Sargassum natans</i> | |
| 5) Bitki Türleri | |
| <i>Azolla pinnata</i> | |
| <i>Eiehharnia erassipes</i> | Kurşun/Çinko |
| <i>Lycopersian esculentum</i> | Kadmiyum/Civa |
| <i>Nicotiana tobaccaeum</i> | |

Prokaryotlar ve ökaryotların hücre duvarları, temel yapı taşı olarak polisakkarit içerir. Doğal polisakkaritlerin iyon değiştirici özellikleri üzerinde çalışmışlardır. Benzer çalışmalar devam etmiş ve Tsezos ve Volesky (1981), uranyum ve toryum adsorpsiyonunda değişik türde mikroorganizmalar kullanarak, farklı sıcaklık ve pH değerlerinde adsorpsiyon izotermelerini çıkarmış, sonuçları aktif karbon ve iyon değiştirici reçineler ile yapılan adsorpsiyon çalışmalarıyla karşılaştırmış ve mikroorganizmaların daha etkin adsorptif özelliklere sahip olduklarını göstermişlerdir.

Darnall ve arkadaşları (1986) ise, *C.vulgaris*'e metal iyonlarının farklı pH değerlerinde seçici olarak bağlandığını gözlemişlerdir.

Bu konuda ülkemizde Aksu ve Kutsal (1990) tarafından yapılan çalışmalarda, yeşil alglerden *Chlorella vulgaris* ile Cu^{+2} , Pb^{+2} , Zn^{+2} , Cr^{+6} ve Fe^{+2} gibi metallerin tek bileşenli adsorpsiyonu kesikli karıştırmalı kaptı ve akışkan yatak reaktörde

incelemişler, sonuçların adsorpsiyon izotermlerine uygunluğu gösterilerek, alglerin yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip biyosorbentler olduğunu bildirmişlerdir.

Aynı konudaki çalışmalara Sağ ve Kutsal (1993) tarafından devam edilmiş ve bu araştırmacılar daha farklı türdeki mikroorganizmalarla Cr^{+6} , Cu^{+2} , Ni^{+2} , Pb^{+2} ve Fe^{+3} adsorpsiyonunu kesikli karıştırılmalı kaptta, akışkan yatak reaktörde ve tutuklanmış mikroorganizma ile dolgululu kolon reaktörde incelemişlerdir. Çoklu metal iyonu karışımlarıyla ilgili çalışmalar Ting ve arkadaşları (1991) tarafından başlatılmış ve bu araştırmacılar ışık varlığında ve yokluğunda *C. vulgaris* ile kadmiyum(II) ve çinko(II) iyonlarının, metabolizmaya bağlı ve yarışmalı giderimini araştırmışlardır. Sürekli sabit ışık altında, hücresel metabolizma için temel bir element olan, çinko(II) gideriminin, kadmiyum(II) iyonları tarafından açıkça inhibe edildiğini gözlemişler; aynı deneysel koşullarda hücresel metabolizma için temel bir element olmayan kadmiyum(II) gideriminin ise, çinko(II) varlığından etkilenmediğini belirtmişlerdir. Ölü veya canlı hücrelerin metal alabilme kapasiteleri karşılaştırılmış, çoğu kez ölü durumdaki mikroorganizmanın daha yüksek adsorplama kapasitesine sahip olduğu gözlenmiştir. Ölü hücre yüzeyinin yapısındaki değişikliklerin olduğunda bildirilmiştir. Ölü mikroorganizmalarla yapılan adsorpsiyon işlemi biyosorpsiyon olarak tanımlanmıştır [Tsezos and Volesky, 1981; Khummongkol ve ark., 1982; Aksu ve ark.,1992; Sağ, 1993; Wilde ve ark., 1993; Wehrheim ve ark., 1994; Brady and Duncan, 1994a].

2.11. Biyosorbent Olarak *S. cerevisiae*' nin Avantajları

S. cerevisiae' yi basit fermantasyon teknikleri kullanılarak kolayca geliştirilebilirler. Bunların ötesinde biyokütle verimleri de çok yüksektir [Kapoor ve Viraraghavan, 1995].

Ayrıca *S. cerevisiae* biyokütlesi çeşitli gıda ve içecek endüstrisinden sağlanabilir. *S. cerevisiae* nin fermantasyon endüstrisinden bir ara ürün olarak elde edilmesi de kolaydır.

S. cerevisiae genellikle güvenli olarak kabul edilir. Bu yüzden *S. cerevisiae* ile yapılan biyosorbentler, pratik olarak uygulandıklarında toplum tarafından kolayca kabul edilmektedir [Kapoor ve Viraraghavan, 1995].

S. cerevisiae metal iyonu giderimindeki metal biyosorpsiyonu mekanizmasını belirlemek özellikle de metal-mikrop etkileşimlerini moleküler seviyede araştırmak için ideal bir model organizmadır. Pregol ve howell (1997), *S. cerevisiae* nin tüm genomik dizisinin elde edilebilir oluşu ve kolay genetik manipülasyon imkanı sebebiyle mayaların model sistemleri olarak kullanımının özellikle cazip olduğunu bildirmiştir. Aslında biyolojide model bir sistem olarak *S. cerevisiae* moleküler biyolojide tamamen araştırılmıştır. Mayaların moleküler biyolojisi hakkındaki bilgi birikimi, metal iyonu giderimindeki biyosorpsiyonun moleküler mekanizmasını tanımlamak için yararlıdır. Ayrıca *S. cerevisiae* nin genetik ve morfolojik olarak kolayca manipüle edilebilmesi metal gideriminin çeşitli özellikler içinde, daha uygun şekilde, genetik olarak modifiye edilebilmeleri bakımından yararlıdır [Eide, 1997].

2.12. Biyosorpsiyon Araştırmalarında *S. cerevisiae*

Farklı araştırma çalışmalarında farklı biçimlerdeki *S. cerevisiae* türü çalışılmıştır [Kapoor ve Viraraghavan, 1995]. Bunlara örnek olarak canlı hücre/ölü hücre, doğal hücre/aktif olamayan hücre, immobilize hücre/serbest hücre, ham madde/ön muamele edilmiş hücre, yabancı tip/mutant hücre, tüylü (flocculent) hücre/tüysüz hücre, genetik mühendisliği uygulanmış hücre/ genetik mühendisliği uygulanmamış hücre, laboratuvar kültürü hücresi/atık endüstri hücresi ve farklı endüstriden elde edilen hücreler verilebilir [Park ve ark., 2003].

Farklı biçimlerdeki mayaların kullanıldığı metal biyosorpsiyonu sonuçlarının karşılaştırılması *S. cerevisiae* tarafından metal alımının mekanizmasının anlaşılması için faydalı bir bilgi sağlayabilir. Örneğin Ramsay ve Gadd (1997) adlı araştırmacılar vakuolsüz mutant ve yabancı tip *S. cerevisiae* hücrelerinin çeşitli toksik metallere karşı olan tepkilerini test ederek ve karşılaştırarak yaptıkları çalışmalarında; vakuolsüz suşların yabancı tip suşlara kıyasla Zn, Mn, Co, Ni metallerine daha duyarlı

olduklarını ve bu metalleri alma kapasitelerinin geniş ölçüde azaldığını, fakat Cu veya Cd metalleri için herhangi bir değişikliğin olmadığını gözlemlemişlerdir.

İmmobilizasyon tekniği özellikle ölü biyokütle ile yapıldığında, biyosorpsiyonun pratik olarak uygulanmasında ana unsurlarından birini teşkil etmektedir. *S. cerevisiae* suşları farklı tutuklayıcı materyaller kullanarak, çeşitli immobilize hücreleri çalışılmıştır. Park ve arkadaşları iki farklı *S. cerevisiae* suşunu Cd biyosorpsiyonu açısından karşılaştırmıştır. Bu suşlardan biri 1-fenilasetil karbinol (1-PAC) üretimi için kullanılan ATCC 834, diğeri ise etanol üretimi için kullanılan ATCC 24858 suşudur. Araştırmacılar *S. cerevisiae* ATCC 834 suşu için daha kalın manan tabakası ve daha geniş özellikli yüzey tabakasının kadmiyum alımını olumlu yönde etkilediğini belirtmişlerdir [Park ve ark., 2003].

Veglio ve Beolchini (1997) serbest hücreler genelde katı/sıvı dağılımı problemine bağlı olarak pratik uygulama için pek uygun görülmemektedir. Ancak serbest hücrelerin metal alımı performansları üzerine yapılan araştırmaların pratik uygulama için yararlı olan biyosorpsiyon metodunun dengesi hakkında temel bilgi sağlayabileceğini bildirmişlerdir. Aynı zamanda havlı hücrelerin biyosorpsiyon için kullanımının serbest hücrelerin dağılması probleminin üstesinden geleceği konusunda öneride bulunmuşlardır.

Canlı ya da canlı olmayan hücrelerin biyosorpsiyon için kullanılıp kullanılmayacağı halen tartışma aşamasındadır. Ağır metal iyonlarının biyosorpsiyonu üzerine yapılan araştırmalarda canlı hücreler kullanılmıştır [Veglio ve Beolchini, 1997]. Ancak canlı hücreler ile kıyaslandıklarında ölü hücrelerinde aynı hatta daha yüksek metal iyonu alımı kapasitesine sahip olduğu görülmüştür. Aynı zamanda ölü hücreler besin gerekliliği uç pH değerlerine veya metal iyonu konsantrasyonlarına karşı duyarlılığı gibi, canlı hücrelerin sınırlandığı bazı durumlarda üstünlük göstermişlerdir. Bu sebeple ölü/ön muameleye tabi tutulmuş biokütlenin kullanıldığı çalışmalar 1980–1990 lı yıllarda daha baskındır. Ancak ölü hücrelerde biyosorpsiyonun endüstriyel uygulamasının sınırlılığı bazı pilot fabrikalarından kaynaklanmıştır. Örneğin atık

biyokütle ile istenilen biyosorbentin üretim maliyeti immobilize tekniklerin kullanılması ve çeşitli ön uygulamalardan dolayı ekonomik değildir [Malik, 2004].

Yenilenme ve aynı anda yeniden kullanma yöntemleri hem karmaşık hemde çok pahalıdır. Gerçek atık sular içerse sulu çözeltilerde birlikte bulunan iyonlar ve organik maddeler problemleri daha da zor ve kompleks hale getirmiştir. Son yıllarda canlı hücreleri kullanarak hatta fizikokimyasal yöntemlerle birlikte biyosorpsiyon, biyopresipitasyon ve biyoakümülyasyon gibi hibrit biyoteknolojilerin kullanılması tavsiye edilmektedir. Tüm bu çalışmalarda *S. cerevisiae*' nin canlı yada ölü hücreleri aynı öneme sahiptir. Fermantasyon sonucu oluşan atık bir mikrobial biyokütle olarak mayaların ölü hücreleri üzerinde yapılan çalışmalar da sayıca fazla ve aynı zamanda gereklidir. Metal alımı mekanizması çalışmalarının özelliklede metal mikrop etkileşimlerinin araştırılmalarında moleküler düzeyde özgül araştırmaların yapılabilmesi için *S. cerevisiae*' nin canlı hücreleri kullanılmalıdır [Veglio ve Beolchini, 1997; Malik 2004].

2.13. *S. cerevisiae*' nin Biyosorpsiyon Kapasitesi

2.13.1. Metal iyonu alınımı

Birçok araştırma *S. cerevisiae*' nin farklı oranlarda sulu çözeltilerdeki toksik metalleri uzaklaştırabildiğini ve radyonükleotitleri temizleyebildiğini kanıtlamıştır. Schott ve Gardner (1997) *S. cerevisiae* tarafından alüminyum gibi hafif metallerin geri kazanıldığını bildirmişlerdir. Brady ve ark. (1994) sıcak alkali ile muamele edilmiş *S. cerevisiae* hücrelerinin geniş bir aralıktaki (Fe^{+3} , Cu^{+2} , Cr^{+3} , Hg^{+2} , Pb^{+2} , Cd^{+2} , Co^{+2} , Ag^{+} , Ni^{+2} ve Fe^{+2}) ağır metal katyonlarını biyoakümüle edilebildiğini kanıtlamışlardır. *S. cerevisiae* tarafından tipik metal biyosorpsiyonları çizelge 2.3 de listelenmiştir.

Pb, Cd, Cu, Zn, Cr, Ni, Ag ve Ur gibi metaller Co, Mo, Fe, Mn, Rd, Se, La gibi değerli metallere daha çok çalışılmıştır. *S. cerevisiae*' nin Selenyum türleri (Se IV ve Se VI), antimon türleri (Sb III ve Sb V) ve civa türleri (CH_3Hg ve Hg II) gibi

farklı metal türleri toksisitelerine bağlı olarak ayırt edildiğine dikkat edilmelidir. Bu özellikler *S. cerevisiae*' yi sadece biyoremidasyon için değil aynı zamanda metal iyonlarının uzaklaştırılması ve geri kazanımı ile bunların analitik ölçüleri için de uygun kılmaktadır [Brady ve Duncan, 1994b].

Çizelge 2.3. Bazı metal iyonlarının *S. cerevisiae* tarafından biyosorpsiyon çalışmaları

| Metal Sınıfları | | |
|-----------------|------------------|------------------|
| Toksik Metaller | Değerli Metaller | Radionükleoidler |
| Pb | Pd | U |
| Cu | Pt | Pu |
| Zn | Au | Am |
| Cd | Ag | Ce |
| Hg | | Cs |
| Co | | Sr |
| Ni | | Se |
| Cr | | Sb |
| As | | |

2.13.2. Biyosorpsiyon kapasitesi

Metal alımı hızına biyosorbent ile belirlenmesi çoğunlukla sorpsiyon sisteminin dengesine bağlıdır. Sorpsiyon alım hızı oranı (q) genellikle bir gram sorbent tarafından alınan veya metalin miligram, mmol/g veya meq/g olarak ifade edilmesidir. *S. cerevisiae* tarafından metal iyonu alımı çeşitli sayıdaki önemli makalelerde bildirilmiştir. Çizelge 2.4 farklı metal iyonları için farklı forumlardaki mayaların biyosorpsiyon kapasiteleri hakkındaki verileri göstermektedir [Kratochvil ve ark., 1998].

Çizelge 2.4. *S. cerevisiae* nin metal tutma kapasitesi

| Metal | Kaynak veya Biçimi | Tutma kapasitesi ^a |
|------------------|---|-------------------------------|
| Pb | Serbest hücreler | 79.2 |
| Pb | İmmobilize hücreler | 41.9 |
| Pb | Laboratuarda işlenmiş 100 °C kurutulmuş topraktan | 270.3 |
| Pb | Etanolla işlem görmüş ekmek mayası atığı | 17.5 |
| Cu | Ayarlanmış ve gelişmiş hücreler | 2.04–9.05 |
| Cu | Ticari işletmelerden alınan kuru hücreler | 2.98–12.03 |
| Cu | Atık fermantasyon endüstrisinden alınan ve 120 °C otoklavlanan hücreler | 4.93 |
| Cu | Serbest hücreler | 6.4 |
| Cu | İmmobilize hücreler | 4.7 |
| Zn | Atık fermantasyon endüstrisinden alınan ve 120 °C otoklavlanan hücreler | 1.95–3.45 |
| Zn ²⁺ | Serbest hücreler | 23.4 |
| Zn | İmmobilize hücreler | 35.3 |
| Cd | Mayanın protonlanmasını gidermek | 9.91–86.3 |
| Cd | Laboratuarda aktifliği geçici süre durdurulmuş hücre | 35.5–58.4 |
| Cd | İmmobilize hücre | 10.9 |
| Cd | Etanolla işlem görmüş ekmek mayası atığı | 15.6 |
| Cd | Ölü hücreler | 70 |
| Hg ²⁺ | Serbest hücreler | 64.2 |
| Co ²⁺ | Serbest hücreler | 9.9 |
| Ni | Atık fermantasyon endüstrisinden alınan ve 120 °C otoklavlanan hücreler | 1.44 |
| Ni | Serbest hücreler | 8 |
| Ni | Laboratuarda işlenmiş 100 °C kurutulmuş topraktan | 46.3 |
| Cr(VI) | Laboratuarda işlenmiş 100 °C kurutulmuş topraktan | 32.6 |
| Pd ²⁺ | İmmobilize hücre | 40.6 |
| Pt ⁴⁺ | İmmobilize hücre | 44 |
| Ag | Laboratuarda dondurulup öldürülen endüstriyel suş | 41.7 |

^a (mg metal/g)

2.14. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler

2.14.1. Çevresel koşullar

Besinsel ve çevresel faktörlerin mikrobiyal biyokütlenin kalitesine olan etkilerini anlamak istenilen tipteki organizmaları ucuz besin kaynaklarında kültüre almada ve bunu direk uygulama için uygun bir şekilde kullanmada yardımcı olabilir [Goyal ve ark., 2003].

2.14.2. pH

Ağır metal iyonlarının biyosorpsiyonu için pH en önemli çevresel faktörlerin biridir. Çözeltinin pH değeri sadece biyokütlenin yüzey dağılımını etkilemekle kalmaz aynı zamanda ağır metallerin çözelti kimyasını da etkiler: hidroliz, organik ve/veya inorganik ligandlarla kompleksleşme, redoks reaksiyonları presipitasyon ve ağır metallerin biyosorpsiyon ile alınımı bunlara örnektir [Esposito, 2002].

Metal katyonlarının biyosorptif kapasitesi sorpsiyon sisteminin pH değerinin yükseltilmesiyle artar fakat bu artış doğrusal değildir. Ayrıca çok yüksek pH değerleri metal komplekslerinin presipitasyonuna yol açabileceğinden bu deneyler sırasında önlenmesi gereken bir durumdur. Metal iyonlarının farklı biyosorpsiyon sistemleri için en uygun pH değeri değişiklik gösterir. *S. cerevisiae* tarafından bakır biyosorpsiyonu için optimal pH değeri 5-9; uranyum biyosorpsiyonu içinse 4-5 tir. Mapolle ve Torto Cd^{2+} , Cr^{3+} , Cu^{6+} , Pb^{2+} ve Zn^{2+} iyonlarının biyosorpsiyon kapasitelerinin pH' a bağlı olduğunu kanıtlamışlardır. Çalıştıkları tüm iyonlar için optimal pH değerleri 5'den büyüktür. Cd ve Pb biyosorpsiyonu için optimal pH 5,8 iken Cr (III) ve Pb için bu değer 5,2 dir.

2.14.3. Sıcaklık

Sıcaklık metal iyonlarının biyosorpsiyonu üzerinde etkilidir ancak bu etki biyosorpsiyonda meydana gelen iyon değişim mekanizmasını oldukça sınırlayan etkiye sahiptir [Wang, 2002].

Brady ve Duncan (1994b) sıcaklığın (5-40 C°) çözeltideki serbest *S. cerevisiae* hücreleri tarafından Cu, Co veya Cd iyonların akümülyasyonu (biriktirme, depolama) seviyeleri üzerinde az bir etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Adsorpsiyon reaksiyonları sıcaklığın düşmesiyle biyosorpsiyon kapasitesi artar. 15–40 C° aralığında inaktif *S. cerevisiae* tarafından Pb (II), Ni(II) ve Cr (VI) iyonlarının en yüksek eş biyosorpsiyon kapasitesine 25 C° de ulaşılmıştır. 25 ile 40 C° arasındaki

daha düşük sıcaklıklardaki biyosorpsiyon kapasitesindeki düşüş bu metal iyonlarının *S. cerevisiae* tarafından biyosorpsiyon sürecinin ekzotermik olduğunu ortaya koymaktadır. Daha yüksek sıcaklıklarda biyosorpsiyon kapasitesinde meydana gelen düşüş biyokütlenin aktif bağlanma bölgelerinin zarar görmesine bağlı olduğu gösterilmiştir [Özer ve Özer, 2003].

2.14.4. Temas Süresi

S. cerevisiae tarafından ağır metal biyosorpsiyon süreci genellikle hızlı bir şekilde tamamlanır. Bakır, çinko, kurşun ve uranyum gibi metallerin gelişmeye *S. cerevisiae* hücreleri tarafından biyosorpsiyonu hızlı bir süreçtir ve genellikle birkaç saatte dengeye ulaşır. Pu, Am ve Ce' nin immobilize *S. cerevisiae* hücreleri tarafından biyosorpsiyonun da dengeye 60 dakikada, U için ise 100 dakikada dengeye vardığı gösterilmiştir [Dass ve ark., 2002].

2.14.5. Yarışan iyonlar/ ko-iyonlar

Gerçek endüstriyel atık sular genellikle metal katyonları ve anyonları da dahil olmak üzere çeşitli iyonik bileşenler içerirler. Bazı çalışmalar, ilgilenilen iyonlara ek olarak bulunan katyon ve anyonların metal akümülyasyonu üzerine genellikle zararlı etki yaptığını göstermiştir [Suh ve Kim, 2002].

Bir metal iyonunun biyosorpsiyon kapasitesi genellikle çözültide mevcut olan diğer metal iyonları ve anyonlar da dahil olmak üzere ko-iyonlar tarafından engellenir ve azalır.

2.14.6. Metal iyonların ve biyokütlenin başlangıç konsantrasyonu

Biyokütle miktarı değişmeden tutulduğunda başlangıç konsantrasyonunun artması ile birlikte metal iyonu alım oranı da artar. Bunun tersine, metal iyonlarının başlangıç konsantrasyonu sabit tutulduğunda, metal iyonlarının biyosorptif kapasitesi başlangıçtaki biyokütle konsantrasyonuna zıt orantılıdır [Wang, 2002].

Biyosorpsiyon sisteminin biyokütle konsantrasyonundaki artış, artan sorpsiyon alanı etkileşimlerine neden olabilir. Biyokütle konsantrasyonu düşük olduğunda, çözeltideki metal iyonları sadece biyokütlenin yüzeyine adsorbe olmayabilir. Ayrıca metal iyonunun konsantrasyon farkının kolaylaştırması ile hücre içine de alınabilir. Metal iyonlarının biyosorptif kapasitesinin, başlangıçtaki metal iyonu konsantrasyonunun, biyokütle konsantrasyonuna olan oranıyla ilişkili olduğu bildirilmiştir.

2.14.7. Kültür ortamının kompozisyonu

Glikoz

Glikoz yaygın olarak kullanılan bir karbon kaynağıdır. Ayrıca önemli bir enerji kaynağı olarak da rol oynar. Canlı hücrelerin biyosorpsiyonu için biyosorpsiyon sistemine glikoz ve diğer iz elementlerini ilavesi canlı hücrelerin gelişimini artırır ve metal biyosorpsiyonunu kolaylaştırır. Stoll ve Duncan (1996) Glikozun metal biyosorpsiyonu üzerindeki rolünü araştırmışlardır. *S. cerevisiae* tarafından elektroforlanmış artık sudan Cu^{2+} , Cr^{6+} , Cd^{2+} , Ni^{2+} ve Zn^{2+} nin uzaklaştırılmasını incelemişlerdir. Maya hücrelerinin glikoz ile ön muameleye tabi tutulmasının uzaklaştırılan metal miktarını artırdığını ancak maya-atık su karışımı olan çözeltiliye doğrudan glikoz ilave edilmesinde herhangi bir etkisinin olmadığını göstermişlerdir.

Kültürel Besi Ortamının Diğer Bileşenleri

Goyal ve arkadaşları (2003) *S. cerevisiae*'nin besi ortamına sistein, glikoz, amonyum sülfat, fosfat ve amonyum klorit eklenmesinin Cr(VI) alınımını artırdığını gözlemişlerdir. Cr(VI)'nin *S. cerevisiae* tarafından en iyi geri kazanımı besiyatına sistein ilave edilmesi ve bunu takiben glikoz, fosfat, amonyum sülfat ve amonyum klorit bakımından zengin bir besi ortamında geliştirildiğinde elde edildiği bildirilmiştir.

Dostaleka ve arkadaşları (2004) sınırlı C^- , N^- , P^- , S^- , Mg^- ve K^- elementlerin *S. cerevisiae* hücreleri tarafından Cd^{2+} , Cu^{2+} ve Ag^{2+} iyonlarının biyosorpsiyonunu araştırmışlardır. Maya hücrelerinin kadmiyum bağlama kapasitesi gösterilen şekilde azalmıştır: sınırlı $K >$ sınırlı $Mg \approx$ sınırlı $C >$ sınırlı $N \approx$ sınırlı $S >$ sınırlı P . Ag^+ iyonları için: sınırlı $P >$ sınırlı $K >$ sınırlı $C >$ sınırlı $N \approx$ sınırlı $Mg >$ sınırlı S . Bakır iyonları için: sınırlı $K >$ sınırlı $Mg \geq$ sınırlı $C >$ sınırlı $N \approx$ Sınırlı $P >$ Sınırlı S .

2.14.8. Hücre yaşı

Biyokütlenin hücre yaşı metal biyosorpsiyonunda etkilidir. Metal iyonları için Lag fazındaki ya da gelişmenin ilk evresindeki hücreler durgun fazdaki hücrelerden daha yüksek biyosorptif kapasiteye sahip olduğu gösterilmiştir [Goyal ve ark., 2003].

2.15. Metal Tutma İşlemleri

Genel olarak metal biyosorpsiyon işlemleri, canlı hücrelerde iki aşamada gerçekleşir. İlk olarak, hücre yüzeyinde metal fonksiyonel grupları arasında etkileşimleri karboksil, fosfat, hidroksil, amino, sülfür, sülfid gibi fonksiyonel gruplar tarafından hücreler yüzeyde metal iyonlarını absorplar. Bu aşamada biyosorpsiyon pasif olarak adlandırılır, koordinasyon, iyon değişimi, fiziksel absorpsiyon (elektrostatik) veya inorganik çökmeler de metabolizmaya bağımlı değildir. Metal bağlayıcı mekanizmalar bir arada veya tek başına, birkaç dakika içinde hızla kazanılır. Pasif biyosorpsiyon bir dinamik dengedir, absorpsiyon ve desorpsiyon tersinirdir. Chelating ajan veya asit, diğer iyonlar tarafından metal iyonlarının yüzeyine yapışır. İkinci aşamada aktif biyosorpsiyon olarak adlandırılır ve metal iyonları hücre içine ve hücre membranına geçer. Metal tutma aslında ölü hücrelerde pasif tarzdadır [Madrid ve Camara, 1997].

Goyal ve arkadaşları (2003) *Streptococcus equisimilis*, *S. cerevisiae* ve *Aspergillus niger* Cr ve Fe biyosorpsiyonu incelendiğinde mikroorganizmaların iki yolla metal tuttuğu doğrulanmıştır: pasif tutmanın hemen meydana geldiği aktif tutmanın ise yavaş gerçekleştiği gözlenmiştir. İlk önce hücre yüzeyinde fiziksel absorpsiyon ve

iyon değişimi, 30-40 dk sonunda fiziksel absorpsiyon hızlandığı ve dengeye ulaştığı düşünölmüştür. *S. cerevisiae*' nin 24 saatlik bir periyotta Cr tutmasının benzer bir olay olduğu gözlenmiştir.

2.16. *S. cerevisiae*' nin Biosorpsiyon Mekanizması

Metal biosorpsiyonu karışık ve tamamıyla anlaşılamayan bir mekanizmadır. Biomasın durumu, biomateryal tipleri, metal solüsyon kimyasal özellikleri, çevre/çevresel faktörler pH gibi, bunların tümü metal biosorpsiyonunu etkileyen faktörlerdir. Birkaç yıl sonra bazı çalışmalarda fiziksel-kimyasal mekanizma, metal zehir etkisinin giderilmesi, moleküler biyoloji ve transfer mekanizmalarının gelişmesi ile biosorpsiyon mekanizması farklı açılardan ele alarak değerlendirecektir [White ve Gadd, 1995].

Volesky (1990) *S. cerevisiae*' nin ölü veya aktif olmayan hücreleri pasif mod ve canlı hücreler aktif mod olarak iki tip olarak çalışılmıştır. Pasif mod da, özellikle hücre duvarı ve hücreler önemli olarak kimyasal işlevsel gruplar, bağımsız enerji vardır. Aktif moda metal transferi ve metali bırakmayla ilgili metabolizma bağımlıdır. Bu yüzden hücrede metal tutma aktivitesi pasif olarak gerçekteşmektedir. Bunlar; hücre dışı, hücre yüzeyi ve hücre içi ile metal birikimi aşağıdaki şekilde açıklanmıştır.

2.16.1. Hücre dışı birikim

Bazı probiyotik ve ökaryotik mikroorganizmalar polisakkaridler, glukoprotein, lipopolisakkarit ve peptit gibi hücre dışı polimerik maddeler (EPS) üretirler. Bu maddeler negatif işlevsel grupları metal iyonlarını absorplama da çok önemli göreve sahiptirler. Referans olarak EPS ile metal biosorpsiyonunda *Bacillus*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, sülfat indirgeyen bakteriler, *Cyanobacteria*' ler, *Lactobacillus*' lar, mantar ve algler gibi bakteriyal organizmalar verilmektedir [Liu ve ark., 2001; Mohammed 2007].

Suh ve arkadaşları; poliformik bir mantar olan *Aureobasidium pullulans*' in Pb gideriminde EPS nin etkisini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlardan *A. pullulans*' in yalnız EPS varlığında hücre yüzeyinde Pb' yi biriktirmediği, oysaki bakterinin hücre içindeki bölümlere Pb' nin alındığını gözlemişlerdir. Detaylı çalışmalar sonucunda hücrelerin, EPS salgıladıktan sonra Pb tutma kapasitesi miktarının arttığında bildirilmiştir. EPS yolu ile Pb gideriminin % 90 dan fazla olduğu, maksimum miktarda Pb biriktirdiği gözlenmiştir. *A. pullulans* canlı hücrelerde EPS bulunmasından dolayı, ölü hücrelerden daha çok yaşayan hücrelerin daha fazla Pb biriktirdiği bu yüzden *S. cerevisiae*' nin ölü hücrelerin yaşayanlardan daha düşük Pb biriktirdiği tespit edilmiştir [Suh ve ark., 1999].

EPS' nin maya ve mantar metal biosorpsiyon işleminde genellikle EPS nin rolü ihmal edilmektedir. Bakteri hücreleri ile ilgili hücre dışı katmanlar göze çarptığı halde, *S. cerevisiae* EPS yi üretimi karışıktır. *S. cerevisiae* yüzeyindeki özel protein (lektin gibi) bileşimi EPS ye benzemektedir ve metal tutmada rol oynamaktadır [Liu ve ark., 2001; Suh ve ark., 1999; Suh ve ark., 1998].

2.16.2. Hücre yüzeyinde birikim

Hücre duvarındaki yapıların metal iyonları ile temas etmek için eğilimleri vardır, bakteri hücreleri ile ilgili var olan hücre dışı tabakaları dışında tutmak gerekir. İki basit mekanizma ile hücre duvarı aşağıdaki metal tutabilir. Hücre duvarı bileşimi olan fosfat, karboksil, fosfodiester kadar iyi olan aminle, ve fizikokimyasal inorganik tortuları absorpsiyon veya inorganik çökelti yoluyla fonksiyonel gruplar arasındaki stohiometrik etkileşimle metal tutabilirler. Organizma tarafından metal tutma işlemi iyon değişimi, absorpsiyon (elektron çekimi veya van der waals kuvvetiyle), inorganik mikro çökelmeler, oksidasyon veya indirgeme işlemlerine sahip olduğunu göstermektedir [Volesky, 1990a; Volesky 1990b].

Brady ve duncan *S. cerevisiae*' nin Cu indirgeme kapasitesinin hücre duvarında tek başına amino, karboksil veya hidroksil grupların engellediğini, bu grupların rollerini protein ve karbonhidrat bölümleri içinde Cu yu bağlayarak hücre duvarında ağır

metal katyonlarını tutarak gözlemişlerdi [Brady ve Duncan, 1994a]. Wang (2002), methanol ve formaldehit tarafından değiştirilmiş sudaki *S. cerevisiae* tarafından Cu' nun indirgeme de hücre duvarındaki karboksil ve amino grubunun önemli rol oynadığını doğrulamıştır.

Kimyasal enzimatik metodlarla *S. cerevisiae* mayasının hücre duvarından kısmen arıtma işlemleri ile glukun, manan ve sitin izole edilmiştir. Metal biosorpsiyonu izole edilen bileşikler elde edilerek hücre duvarında her bir bileşen yüksek miktarlarda katyonları biriktirdiği bildirilmiştir. Protein % 29,5 oranında kobalt, bakır ve kadmiyum gibi ağır metalleri indirgediği, maya hücre duvarı protein bileşenleri olmadan metal birikiminin azaldığı bildirilmiştir. Veriler hücre duvarı katmanlarındaki dışsal manan proteinin, hücre katmanları içindeki glukun-kitin in ağır metal katyonları birikiminde daha önemli olduğunu göstermiştir [Brady ve ark., 1994g].

Simmons ve Singleton (1996), amino asitlerin metal tutma bileşenlerinde proteinin sülfhidril grupların önemli olduğunu açıklamışlardır. Bununla beraber bütün hücre kıyaslandığında Ag indirgemedde hücre duvarının az katkıda bulunduğu açıklamışlardır.

2.16.3.Hücre içinde birikim

Hücre dışında metal iyon konsantrasyonu hücre içinden yüksek olduğunda, biomas serbest difüzyon tarafından yüzey ve hücre duvarı boyunca, metal iyonları hücre içine geçer. Doğal güç ya da yapay güç tarafından hücre duvarı bozulduğunda metal iyonları hücre içine alınır. Metabolizma bağımsız olarak işlem görür. Bunun yanında hücre içi birikme işlemi öncelikle canlı hücre biomasında gözlenmiştir ve aktif metabolizmaya bağımlı olarak çalışmaktadır [Eide, 1997; Eide 1998].

Geçmiş on yılda *S. cerevisiae* mayasının metal iyon taşınmasıyla ilgili bilgiler yayınlanmıştır. Ekmek mayası tek metal iyon biriktiren 2 veya daha fazla subsurata özel taşıma sistemlerine sahip olduğu bulunmuştur. Metal iyonları az olduğu zaman,

S. cerevisiae' nin yüksek ilgisi, etkinliği sınırlıdır. Metal iyonları yüksek olduğu zaman bir veya daha fazla düşük ilgili sistemler rol oynuyorlar. Son yıllarda genetik çalışmalarda *S. cerevisiae*' nin metal iyonu tutma sistemlerinde aracılık eden transkripsiyon ve translasyon mekanizmaları tanımlanmıştır. Aynı zamanda birçok metal taşıyan veya düzenleyen maya genlerinin görevleri doğrulanmıştır [Eide, 1997; Eide 1998].

Metal iyonları hücre içine girişten sonra, hücre içinde organellerde farklı bölgelere ayrılır (mitokondri, vakuol). Vijver ve ark. (2004), özetle metal iyonu biriktirme stratejisini, özellikle iç bölgelerde biriktirdiğini bildirmiştir. Perego ve Howell (1997), alışmalarında *Schizosaccharomyces pombe* ve *S. cerevisiae* mayalarının toksik metal iyonlarına duyarlılık kontrolündeki mekanizmalarını ve genlerini belirlemişlerdir. Araştırmacılar taşınmanın genlerle ilgili olduğunu metal iyonların taşınma ve sekresyonunda dolaylı olarak ve doğrudan genlerdeki çalışmaların içerdiğini gözlemişlerdir. Zorunlu metallerin, aktif salgılama ile metal tutma kapasiteleri ve stratejileri, ana hedef metali hareketsiz veya salgılayarak depolamaktır. Zorunlu olmayan metaller, metal artığı hücrede dış konsantrasyon artışı ile hücrede önemli stratejisi hücre içinde metal konsantrasyonu biriktirmektir. Hücre sekresyon mekanizmasını başlıca iki tipe sahip olduğunu, proteinlerin kararlı sıcaklığı metalleri bağlamaktadır ve hücreye farklı şekilde dahil ederek oluşmaktadır. İlk başta üç tip granülün bağlandığı: tip A, şekilsiz çökelti, örnek Zn; tip B çoğunlukla asit fosfatızı kapsar, Cd, Cu, Hg ve Ag biriktirmesi; ve tip C, hemosiderin gibi granüller içindeki demiri kapsar [Perego ve Howell,1997].

Sonraki mekanizmada çoğunlukla, sisteince zengin ve düşük moleköl ağırlıklı olan, genellikle bazı prokaryotlar, ökaryotik mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar aleminde meydana gelen özel metal bağlayan protein metalloprotein (MTs) anlatılmaktadır. Cd, Cu, Hg, Co, Zn gibi ağır metal iyonlarını kapsayarak MTs birçok maddede etkindir. MTs' nin metal giderimi uygulama potansiyeli dikkatli olarak ele alınmıştır. MTs' ye ilaveten, kararsız sülfid, phytochelatinler, diğer hücrelerde thioller, toksik metalleri içine almada glutatyon (GSH) duyarlıdır. Tripeptid glutatyon metal iyonların toksik etkisini giderme gibi nitrojen ve hücrede

sülfürün depolanması, molekül ağırlığı düşük hücrelerde tiyol depolama gibi özelliği vardır [Wang ve Yang, 1996].

Glutatyon (GSH) *S. cerevisiae* de hücre kuru ağırlığının % 1 kadardır. *S. cerevisiae*' nin yabani tipine kıyasla mutant suşda GSH yetersizdir, hücredeki Zn ve Ni artışları, Te, Co, Cu ve Mn içeriği sabittir değişmez, fakat Cr azalması *S. cerevisiae* de hücrelerdeki durumu değişir. Bunun yanında mutant suşlar kadminyum ve selenite yüksek duyarlılık gösterir ve hücrede Cd ve Se miktarı artar. Deneysel veriler glutatyon aktivitesini hücrelerde bağımsız olarak Te, Zn, Co, Mn, Ni ve Cr toleranslı olarak gösterir, Se ve Cd un toksinliğinin giderilmesinde GSH ın rolünü doğrulanmıştır. Vakuolün metal iyonları toksisitesini giderilmesindeki rolü araştırıldı ve vakuolün yetersiz olduğu durumda Zn, Mn, Co ve Ni biosorpsiyon kapasitesinin azaldığı ve suşun yüksek duyarlılık gösterdiği gözlenmiştir.

Bunun yanında *S. cerevisiae*' nin mutant ve normal tipi arasında metal biosorpsiyonunda veya duyarlılığında Cd ve Cu da kayda değer farklılık olmadığı gözlemlenmiştir [Perego ve Howell, 1997].

S. cerevisiae' nin hatalı mutantı ve eksik vakuolünde her bir metalin hücredeki miktarının azalması ile kromat ve tellurite yüksek duyarlılık gösterdiği, selenyumun hücredeki içeriğine selenite duyarlılık artmıştır. *S. cerevisiae* canlı hücrelerinde vakuolde Sr^{2+} birikimi gerçekleştiği açıklanmıştır [Ramsay ve Gadd, 1997].

Brady ve Duncan (1994b), *S. cerevisiae*' nin hücre içinde bakırı tutma, bakır dirençlilik mekanizmasını ispatlamıştır.

Metal iyonlarının detoksifikasyonu ayrıca oksidasyon, redoksiyon, metilasyon veya demetilasyon ile de gerçekleşebilir. As (V)' in bir detoksifikasyon mekanizmasının, arsenat reduktaz enzimi ile katalizlenen bir süreç olan As (V)' in As(III) 'e indirgenmesi olduğunu ispatlanmıştır. Redüksiyon mekanizması ile metal remidasyonu üzerine daha fazla çeşitli metal indirgeyen organizmalar tarafından

Cr^{6+} , U^{6+} , Te^{3+} , Co^{3+} , Se^{6+} , Pu^{3+} ve Hg^{2+} 'nin indirgendiği Lovely ve Coatest (1997)'in çalışmasından yararlanılabilir.

Metal iyonlarının alınımını, detoksifikasyonunu yada bu iyonlara toleransı sağlayan birçok gen tanımlanmıştır. Örneğin *S. cerevisiae* Arr4p geni metal iyonlarına toleransta önemli bir rol oynar.

Metal alınım mekanizmasından temel alınarak hücre yüzey gösterim teknolojisinde dâhil olmak üzere genetik teknolojileri, zltiden metalin uzaklaştırılmasında biyokütlenin performansını artırmak için uygulanmıştır. Kuro da ve arkadaşları (2002) histidin hegzapeptit özelliği gösteren, yüzeyi modifiye edilmiş *S. cerevisiae* mayası geliştirmişlerdir. Mühendislik uygulanmış mayanın ağır metal kirliliğinin biyoremidasyonu için potansiyel uygulanabilirliğin bir göstergesi olarak bakır iyonu şelatlayabilir ve tek başına agregasyon özelliğini taşıdığını bildirmişlerdir [Kuroda ve ark., 2002].

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Materyal örnekleri

Bu çalışma da Ankara Üniversitesi Veterinerlik fakültesinden yerli üzümünden izole edilen *Saccharomyces cerevisiae* 4 ve referans suş olarak ta *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) kullanılmıştır.

3.1.2. Mayaların aktiveştirilmesi ve geliştirilmesi

Çalışmada kullanılan tüm test mayaları uygun sıvı besiortamı ve 30 °C sıcaklıkta 24 saat inkübe edilerek aktiveştirilmiştir.

3.1.3. Araştırmada kullanılan besiortamı

YEPD (yeast pepton dekstroz) Sıvı Besiortamı

| <u>Maddeler</u> | <u>g/L</u> |
|-----------------|------------|
| Pepton | 20,00 |
| Yeast Extract | 10,00 |
| Dekstroz | 20,00 |

Maddeler 1000 mL distile suya ilave edilmiştir. Besiortamının pH' ı 6,2±0,2' dir. Amaca uygun olacak şekilde besiortamına %1,5 oranında agar ilave edilip katı besi ortamı hazırlanmıştır. Besiortamı 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir.

3.2. Metot

3.2.1. Mayaların muhafazası

1,5 mL' lik ağız kapaklı tüplere yaklaşık 400 µL gliserol ilave edilerek, 121 °C'de 15 dakika sterilize edilmiştir. Mayalar uygun sıvı besiortamında iki kez ard arda aktifleştirilip, aktif kültürlerden 600 µL gliserol içeren steril tüplere paralelli olarak aktarılmıştır.

Uygun yatık besi ortamı hazırlanmıştır. Mayalar ile aşılana ortam 48 saat 30 °C inkübe edilmiştir ve daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere +4 de buzdolabında muhafazaya alınmıştır.

3.2.2. Mayaların ağır metal dirençliliklerinin belirlenmesi

S. cerevisiae 4 ve *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşlarının ağır metal dirençlilikleri Dostalek ve arkadaşlarının (2004) metodunu modifiye edilerek uygulanmıştır. NiSO₄, 100–1700 mg/L; AgNO₃, 5–300 mg/L; CuSO₄.5H₂O, 500–2400 mg/L; CdSO₄, 5–200 mg/L; ZnSO₄.7H₂O, 10–2000 mg/L; CoSO₄, 100–1750 mg/L arasındaki konsantrasyon değerleri kullanılmıştır.

3.2.3. Mayaların hücre gelişiminin ve canlı hücre sayısının belirlenmesi

Farklı ağır metal konsantrasyonlarının suşların gelişimi üzerine etkisi spektrofotometrik ve YEPD (yeast pepton dekstroz) agarlı petri üzerinde dilusyon metoduyla canlı mikroorganizma sayısı saptanarak belirlenmiştir.

Farklı ağır metal konsantrasyonlarının hücre gelişim üzerine etkisi YEPD sıvı besi ortamlarında spektrofotometrik olarak aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir.

- 10 mL' lik YEPD broth besiortamına son ağır metal konsantrasyonu NiSO₄, 100–1700 mg/L; AgNO₃, 5–300 mg/L; CuSO₄.5H₂O, 500–2400 mg/L; CdSO₄, 5–200 mg/L; ZnSO₄.7H₂O, 10–2000 mg/L; CoSO₄, 100–1750 mg/L olacak şekilde 0,45

$\mu\text{m}'$ lik disposable filtreden geçirilerek sterilize edilmiş. Stok ağır metal çözeltilerinden sırası ile 10–170 μl , 0,5–30 μl , 50–240 μl , 0,5–20 μl , 1–200 μl ve 10–175 μl arasında 10 ml YEPD besiortamına ilave edilmiştir.

- Aktif suşlar, farklı konsantrasyonlarda ağır metal içeren besi ortamına aşılanarak, $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- Ayrıca kontrol olarak metal içermeyen besiortamı aktif kültür ile aynı oranda aşılanmıştır.
- İnkübasyon sonunda optikal yoğunluk (OD) değerleri 600 nm dalga boyundaki spektrofotometrede (Digilab Hitachi U–1800) örneklerin optikal yoğunlukları ölçülmüştür.

Farklı ağır metal konsantrasyonlarının gelişim üzerine etkisi YEPD agarlı petride belirlenmesi

- Suşların aktif kültürlerinden, 10 mL'lik YEPD broth besiortamına son ağır metal konsantrasyonları NiSO_4 , 100–1700 mg/L; AgNO_3 , 5–300 mg/L; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 500–2400 mg/L; CdSO_4 , 5–200 mg/L; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 10–2000 mg/L; CoSO_4 , 100–1750 mg/L olacak şekilde %2 oranında inoküle edilmiş, $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ ' de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon sonunda örneklerden (10^{-1} – 10^{-8}) dilüsyonlar yapılarak YEPD agar besiortamına yüzeysel olarak ekilmiş ve $30 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.
- İnkübasyon sonunda gelişen koloni sayımları belirlenerek canlı mikroorganizma sayıları \log_{10} cfu/mL olarak tespit edilmiştir.

3.2.4. Mayaların toplam hücre protein miktarlarının belirlenmesi

Suşların toplam hücre protein miktarlarının incelenmesinde “Protein Assay Bradford Kiti” metodu kullanılarak belirlenmiştir [Bradforte,1976].

Standardın Hazırlanması

- Dört farklı ependorf tüplerine sırasıyla 5 µl, 10 µl, 15 µl ve 20 µl 0,5 N NaCl mg/ml BSA solüsyonundan ilave edilmiş, 0,15 N NaCl ile her biri 100 µl' ye tamamlanmıştır.

5 µl BAS + 95 µl

10 µl BAS + 90 µl

15 µl BAS + 85 µl

20 µl BAS + 80 µl

- Kontrol olarak 100 µl 0,15 N NaCl + 1 ml Bradford indikatör kullanılır.
- Her bir ependorf tüpüne 1 ml Bradford indikatör ilave edildikten sonra 2 dk vortekslenip oda sıcaklığında bekletilmiştir.
- 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede (Digilab Hitachi U-1800) örneklerin optimal yoğunlukları (OD) değerleri ölçülür

Örneklerin toplam hücre proteinlerinin belirlenmesi

- Örnekler 1000 rpm' de 25 dk santrifüj edilmiştir
- Santrifüj sonrası süpernatant'tan 100 µl örnek diğer bir ependorf tüpüne aktarılmış ve üzerine 100 µl 0,15 N NaCl ilave edilmiştir
- Örneklerin üzerine 1 ml Bradford indikatör ilave edildikten sonra iyice karıştırılmıştır
- Örnekler 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiştir
- Örneklerin optimal yoğunlukları 595 nm dalga boyunda spektrofotometrede ölçülmüştür

3.2.5. İstatiksel analiz

Metal stresinin hücre canlılığına etkisinin istatiksel olarak değerlendirebilmek için probit analiz yöntemi ile LC₅₀ değeri belirlenmiştir.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşunun Hücre Gelişimi

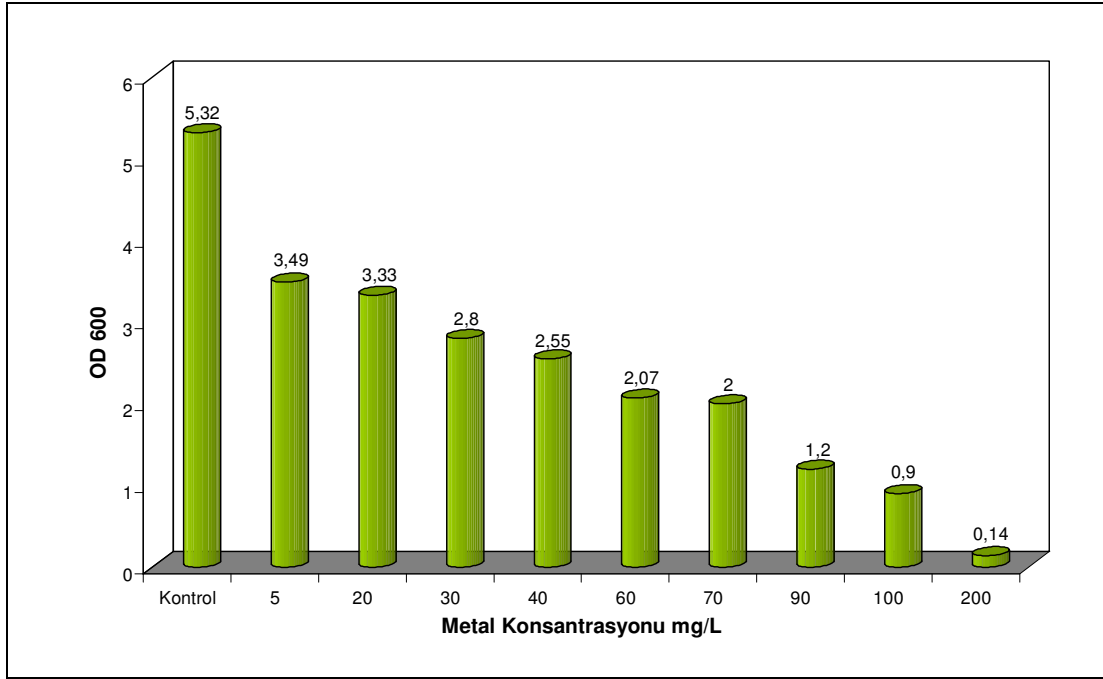
Saccharomyces cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşun farklı metallere karşı direnci ve hücre gelişimi Bölüm 3.2.3 de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1-4.18 de verilmiştir.

4.1.1. *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO₃ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşun farklı AgNO₃ metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.1 ve Şekil 4.1 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 200 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığını kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 52,480 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2, Şekil 4.2). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.3 de verilmiştir.

Çizelge 4.1. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO₃ içeren besiortamında hücre gelişimi

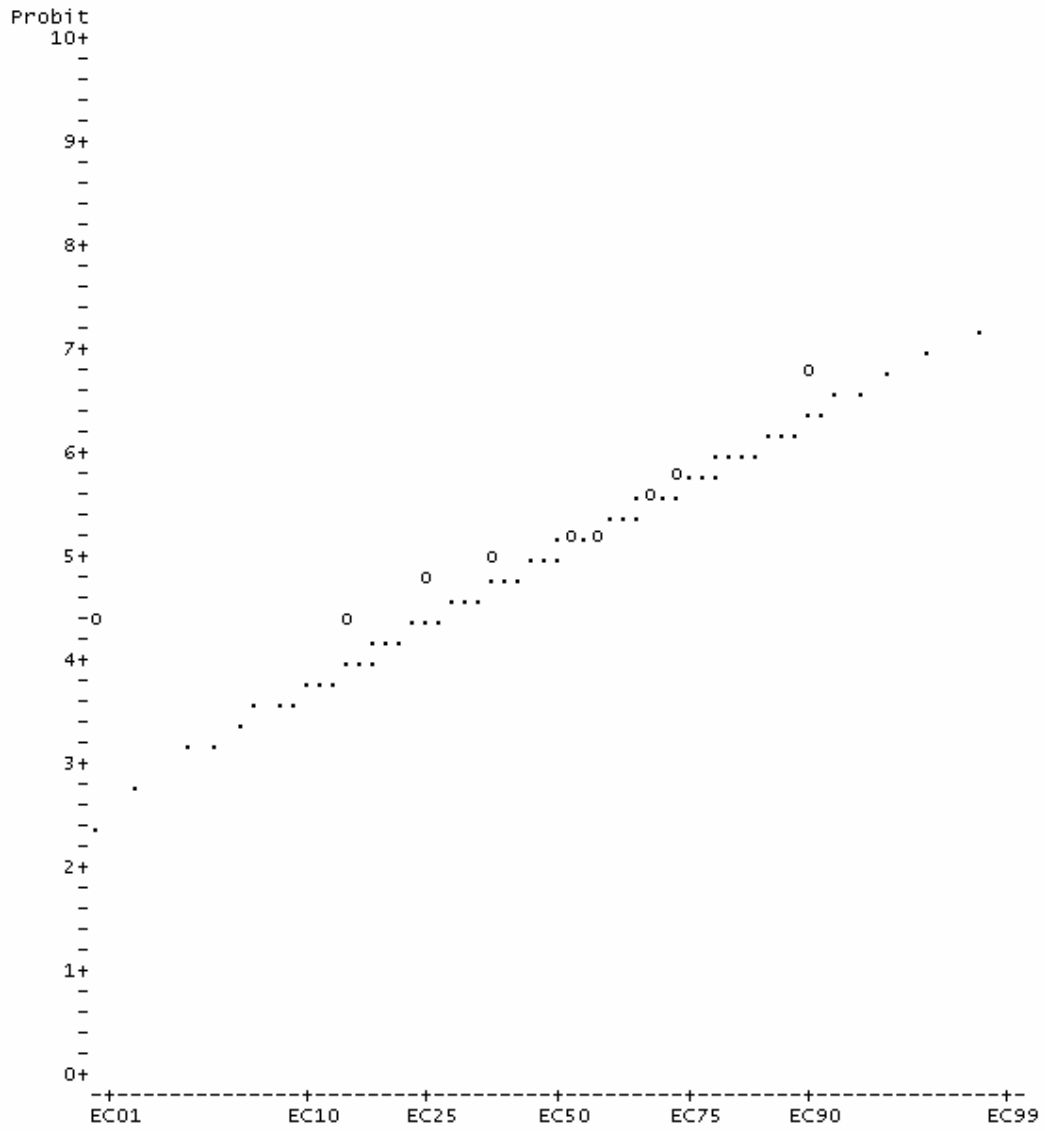
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 5 | 3,49 | 9,28 |
| 20 | 3,33 | 9,10 |
| 30 | 2,80 | 9,05 |
| 40 | 2,55 | 9,03 |
| 60 | 2,07 | 8,95 |
| 70 | 2,00 | 8,90 |
| 90 | 1,20 | 8,60 |
| 100 | 0,90 | 7,94 |
| 200 | 0,14 | - |
| Kontrol | 5,32 | 9,68 |



Şekil 4.1. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO_3 besiortamında hücre gelişimi

Çizelge 4.2. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun AgNO_3 içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 5.660 | 1.031 | 12.161 |
| LC 5.00 | 10.868 | 2.975 | 19.637 |
| LC 10.00 | 15.388 | 5.217 | 25.430 |
| LC 15.00 | 19.459 | 7.607 | 30.341 |
| LC 50.00 | 52.480 | 35.270 | 67.935 |
| LC 85.00 | 141.535 | 106.710 | 233.122 |
| LC 90.00 | 178.980 | 129.553 | 334.030 |
| LC 95.00 | 253.422 | 170.187 | 577.502 |
| LC 99.00 | 486.554 | 278.095 | 1646.123 |



Şekil 4.2. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO_3 probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.3. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek AgNO_3 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

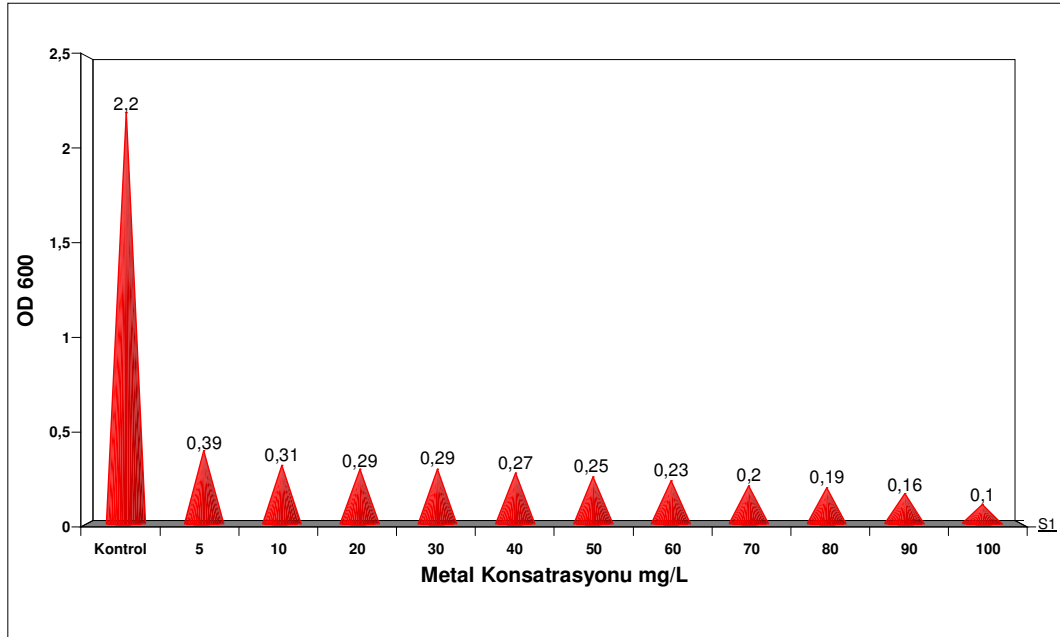
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 5 | 18,72 |
| 100 | 10,37 |
| KONTROL | 21,24 |

4.1.2. *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ içeren besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşun farklı CdSO₄ metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.4 ve Şekil 4.3 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 100 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığını kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 0,057 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5, Şekil 4.4). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.6 da verilmiştir.

Çizelge 4.4. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ içeren besiortamında hücre gelişimi

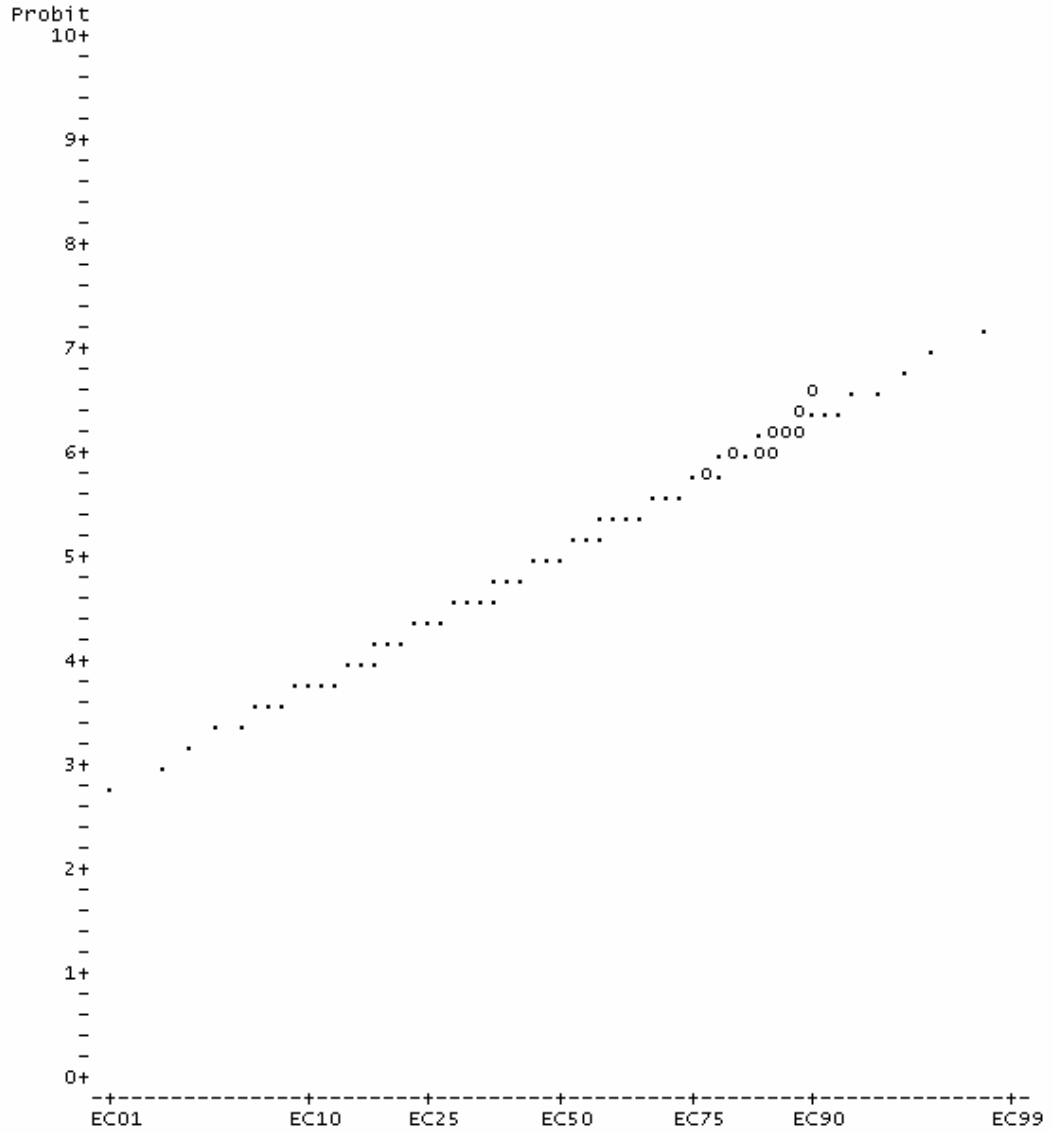
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 5 | 0,39 | 6,61 |
| 10 | 0,31 | 6,55 |
| 20 | 0,29 | 6,44 |
| 30 | 0,29 | 6,20 |
| 40 | 0,27 | 6,11 |
| 50 | 0,25 | 6,00 |
| 60 | 0,23 | 5,70 |
| 70 | 0,20 | 5,23 |
| 80 | 0,19 | 5,11 |
| 90 | 0,16 | 4,84 |
| 100 | 0,10 | - |
| Kontrol | 2,20 | 7,36 |



Şekil 4.3. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ besiortamında hücre gelişimi

Çizelge 4.5. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun CdSO₄ içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|---------------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 0.000 | 0.0 | 0.000 |
| LC 5.00 | 0.000 | 0.0 | 0.002 |
| LC 10.00 | 0.000 | 0.0 | 0.007 |
| LC 15.00 | 0.000 | 0.0 | 0.017 |
| LC 50.00 | 0.057 | 0.0 | 0.630 |
| LC 85.00 | 17.412 | 4.821 | 32.122 |
| LC 90.00 | 67.390 | 36.439 | 263.091 |
| LC 95.00 | 500.539 | 163.392 | 26489.994 |
| LC 99.00 | 21517.074 | 1867.884 | 220792160.000 |



Şekil 4.4. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.6. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek CdSO₄ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

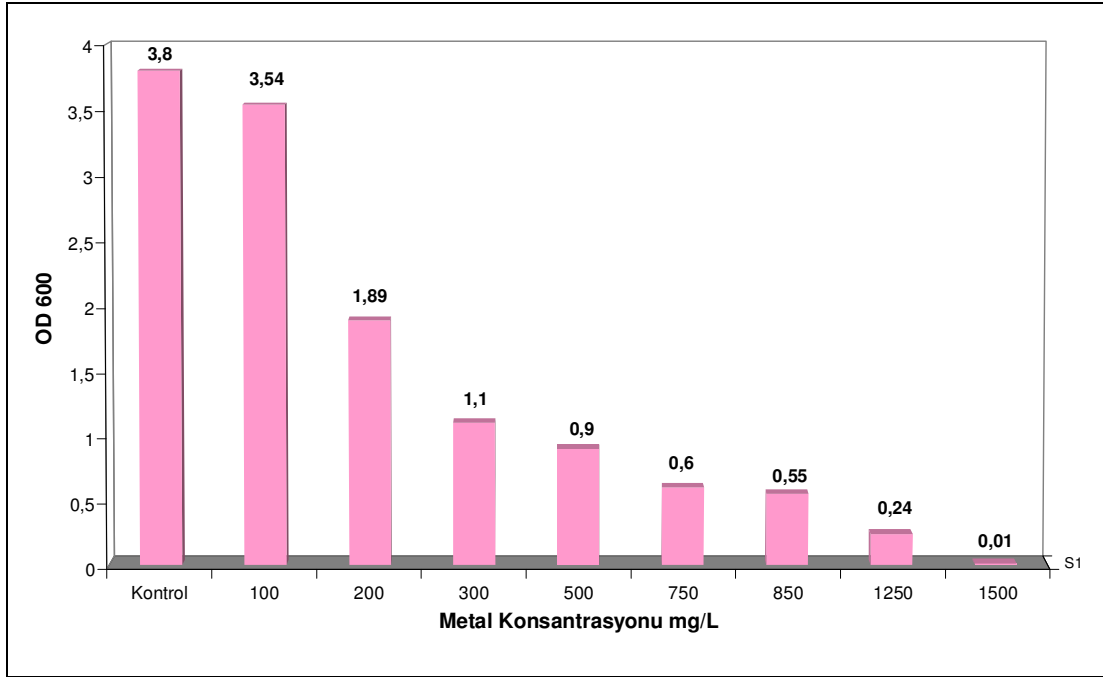
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 5 | 19,52 |
| 10 | 17,43 |
| 90 | 11,98 |
| KONTROL | 21,74 |

4.1.3. *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO₄ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşun farklı CoSO₄ metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.7 ve Şekil 4.5 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 1500 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığını kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 266,979 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8, Şekil 4.6). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.9 da verilmiştir.

Çizelge 4.7. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO₄ besiortamında hücre gelişimi

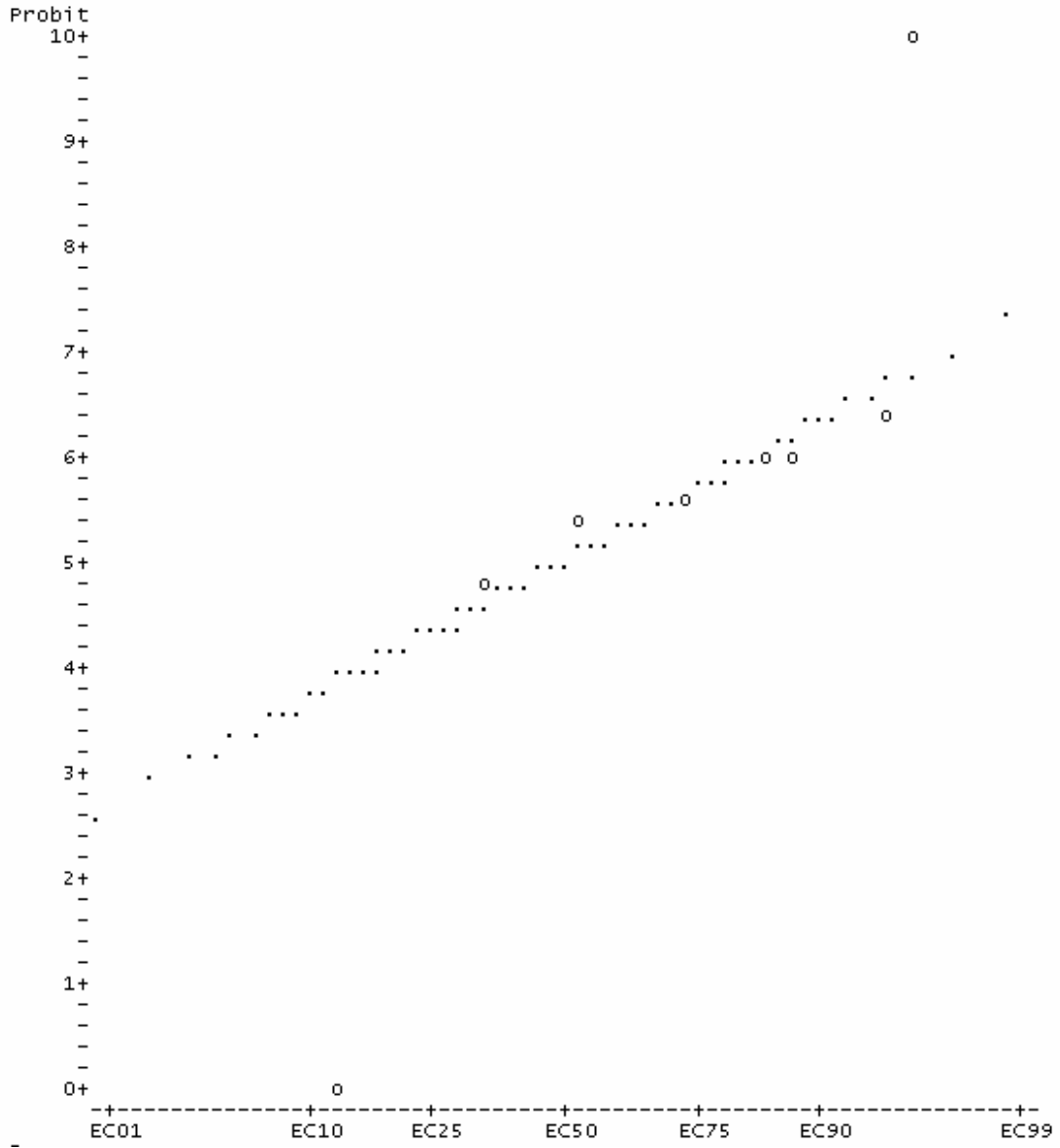
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 100 | 3,54 | 9,17 |
| 200 | 1,89 | 8,84 |
| 300 | 1,10 | 8,24 |
| 500 | 0,90 | 7,00 |
| 750 | 0,60 | 6,30 |
| 850 | 0,55 | 6,00 |
| 1250 | 0,24 | 5,30 |
| 1500 | 0,01 | - |
| Kontrol | 5,32 | 9,68 |



Şekil 4.5. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO_4 besiortamında hücre gelişimi

Çizelge 4.8. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun CoSO_4 içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 31.563 | 5.252 | 70.774 |
| LC 5.00 | 58.992 | 14.525 | 112.367 |
| LC 10.00 | 82.340 | 24.896 | 144.285 |
| LC 15.00 | 103.122 | 35.733 | 171.202 |
| LC 50.00 | 266.979 | 156.321 | 371.470 |
| LC 85.00 | 691.193 | 502.446 | 1097.004 |
| LC 90.00 | 865.645 | 618.497 | 1517.721 |
| LC 95.00 | 1208.248 | 820.464 | 2518.097 |
| LC 99.00 | 2258.247 | 1340.073 | 6769.950 |



Şekil 4.6. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO_4 probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.9. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek CoSO_4 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

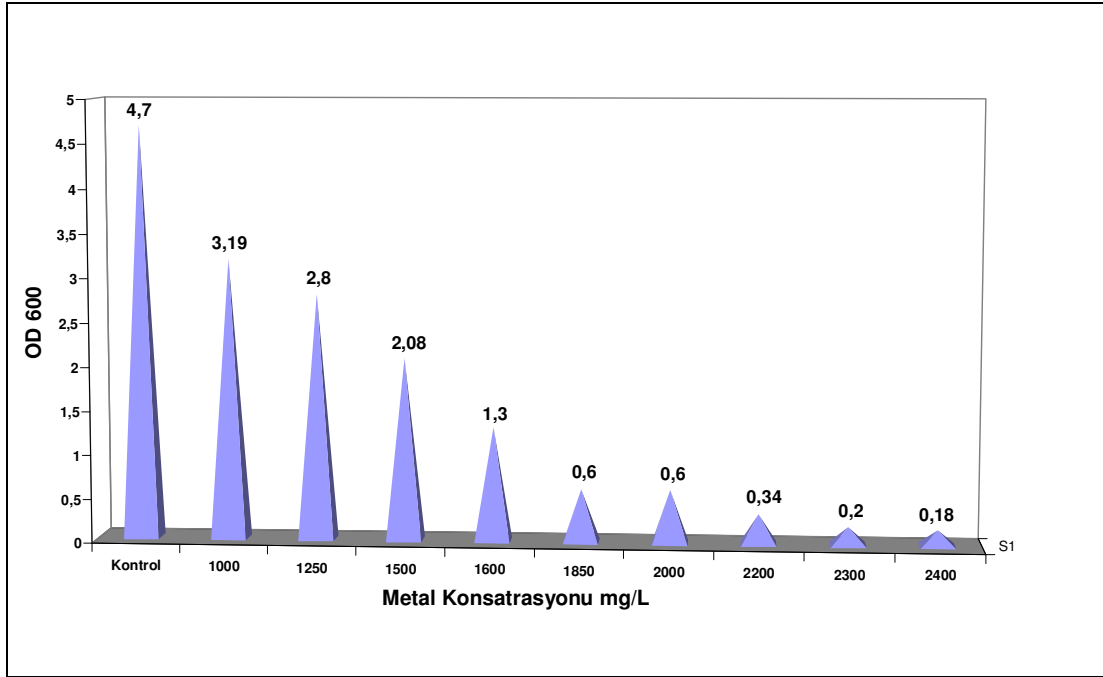
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 100 | 13,70 |
| 1250 | 11,82 |
| KONTROL | 15,52 |

4.1.4. *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşun farklı $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.10 ve Şekil 4.7 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 2400 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığını kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri 1384,050 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.11, Şekil 4.8). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.12 de verilmiştir.

Çizelge 4.10. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi

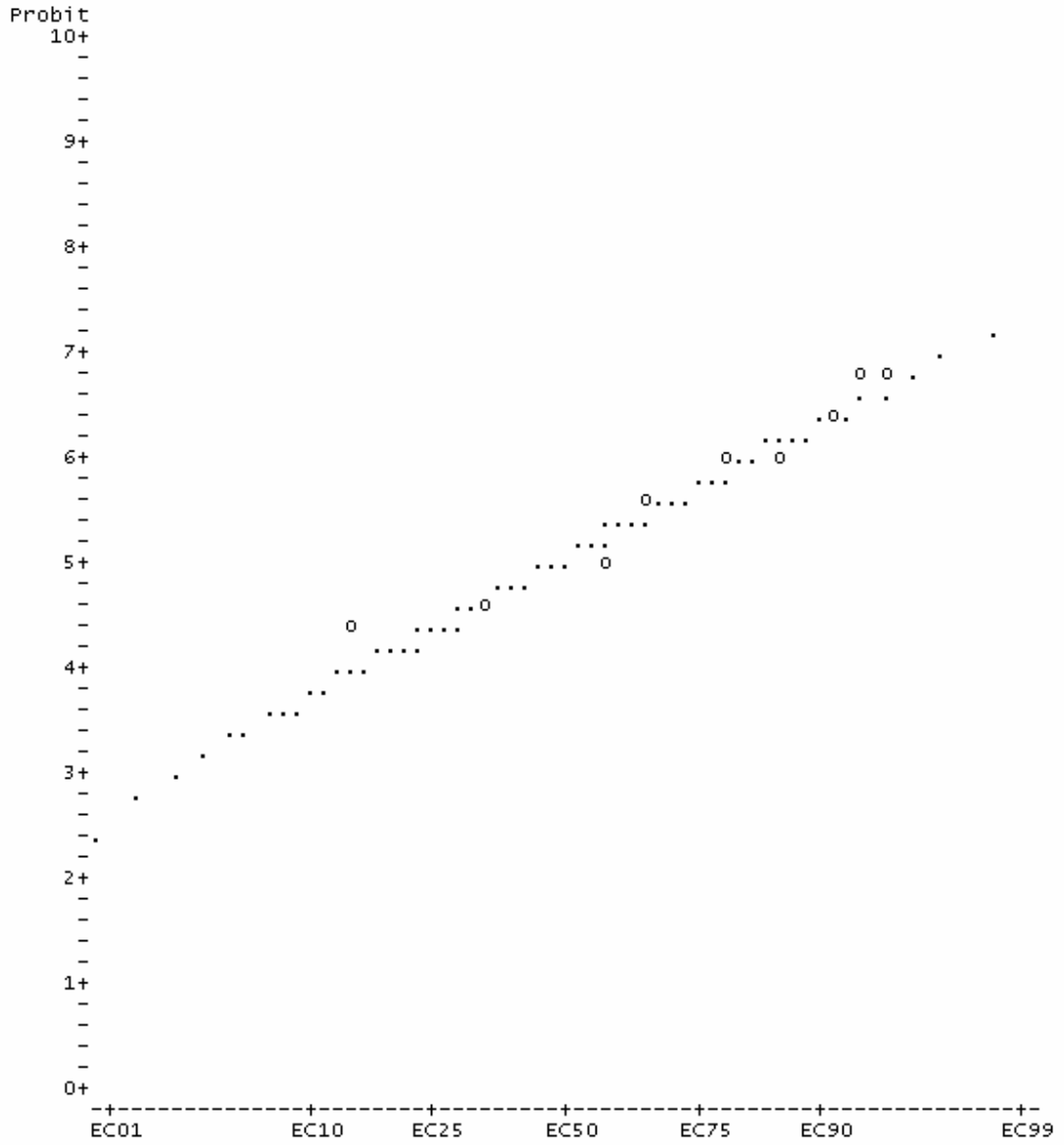
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 1000 | 3,19 | 8,52 |
| 1250 | 2,80 | 8,40 |
| 1500 | 2,08 | 8,25 |
| 1600 | 1,30 | 8,04 |
| 1850 | 0,60 | 6,95 |
| 2000 | 0,60 | 6,95 |
| 2200 | 0,34 | 5,30 |
| 2300 | 0,20 | 5,00 |
| 2400 | 0,18 | - |
| Kontrol | 4,70 | 9,35 |



Şekil 4.7. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi

Çizelge 4.11. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 652.654 | 540.859 | 749.755 |
| LC 5.00 | 813.410 | 700.996 | 908.457 |
| LC 10.00 | 914.733 | 804.642 | 1006.761 |
| LC 15.00 | 990.160 | 882.910 | 1079.316 |
| LC 50.00 | 1384.050 | 1300.364 | 1455.921 |
| LC 85.00 | 1934.630 | 1854.099 | 2028.651 |
| LC 90.00 | 2094.156 | 1999.206 | 2213.191 |
| LC 95.00 | 2355.016 | 2226.926 | 2527.435 |
| LC 99.00 | 2935.081 | 2710.198 | 3261.374 |



Şekil 4.8. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ probit değerleri ve regresyon grafiği.

Çizelge 4.12. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

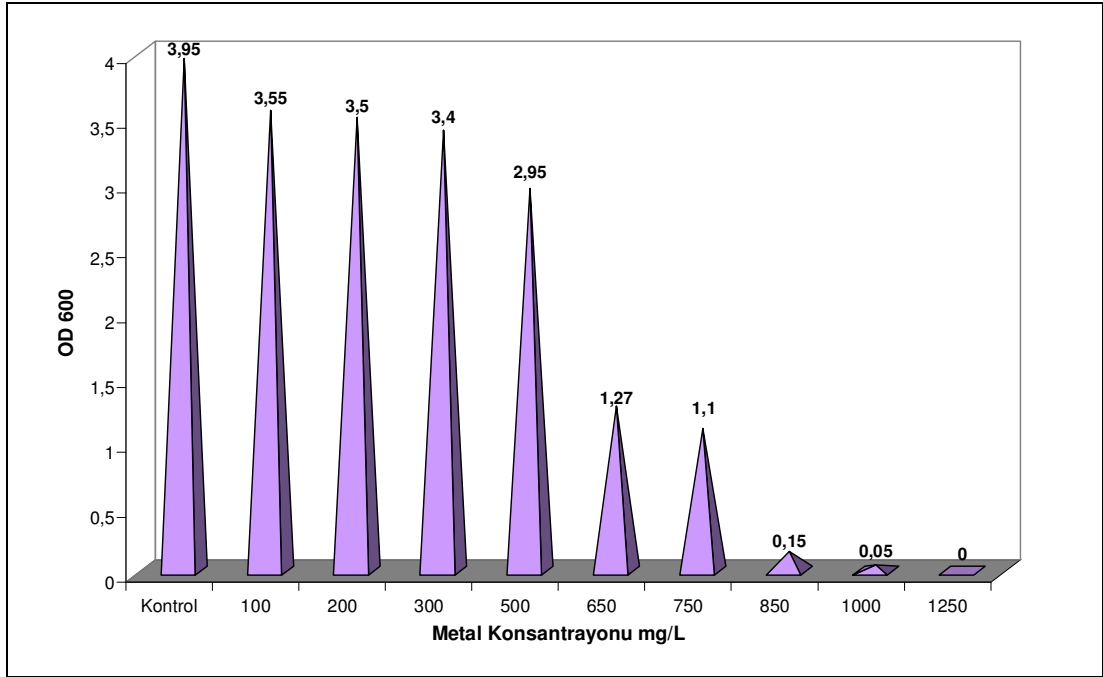
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1000 | 10,80 |
| 2300 | 9,93 |
| KONTROL | 15,52 |

4.1.5. *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşun farklı NiSO₄ metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.13 ve Şekil 4.9 da gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 1250 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığın kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 624,241 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.14, Şekil 4.10). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.15 de verilmiştir.

Çizelge 4.13. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ besiortamında hücre gelişimi

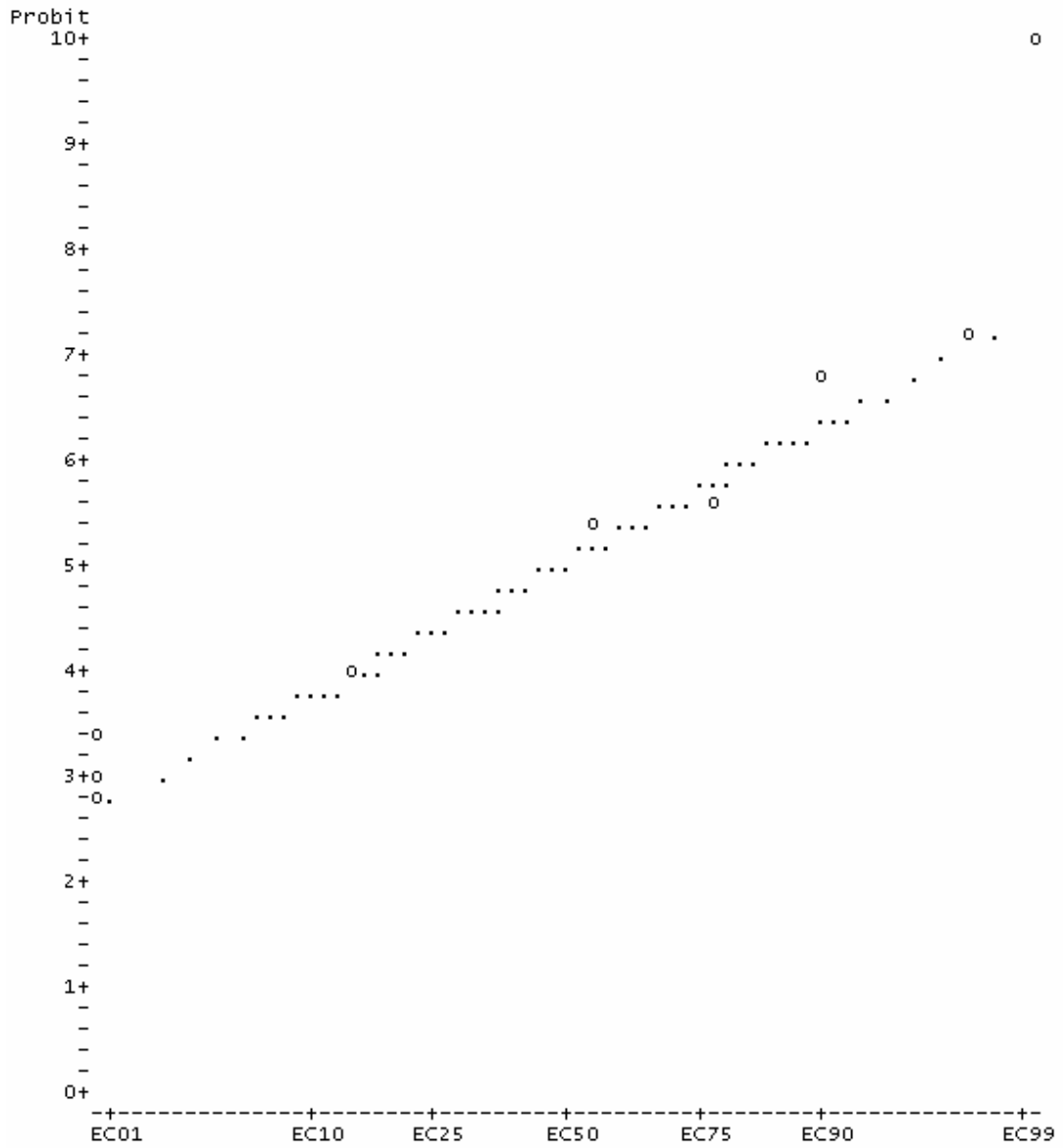
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|---------------------------|-------------------|---------------------------|
| 100 | 3,55 | 8,99 |
| 200 | 3,50 | 8,70 |
| 300 | 3,40 | 8,65 |
| 500 | 2,95 | 8,60 |
| 650 | 1,27 | 8,35 |
| 750 | 1,10 | 8,30 |
| 850 | 0,15 | 7,60 |
| 1000 | 0,05 | 7,23 |
| 1250 | - | - |
| Kontrol | 3,95 | 9,30 |



Şekil 4.9. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ besiyortamında hücre gelişimi

Çizelge 4.14. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun NiSO₄ içeren konsantrasyonlarda besiyortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 373.161 | 321.250 | 414.389 |
| LC 5.00 | 433.860 | 385.860 | 471.347 |
| LC 10.00 | 470.161 | 425.288 | 505.059 |
| LC 15.00 | 496.363 | 454.028 | 529.308 |
| LC 50.00 | 624.241 | 595.042 | 649.182 |
| LC 85.00 | 785.063 | 755.773 | 821.572 |
| LC 90.00 | 828.815 | 794.739 | 874.134 |
| LC 95.00 | 898.162 | 854.205 | 960.494 |
| LC 99.00 | 1044.257 | 974.304 | 1150.487 |



Şekil 4.10. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.15. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek NiSO₄ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

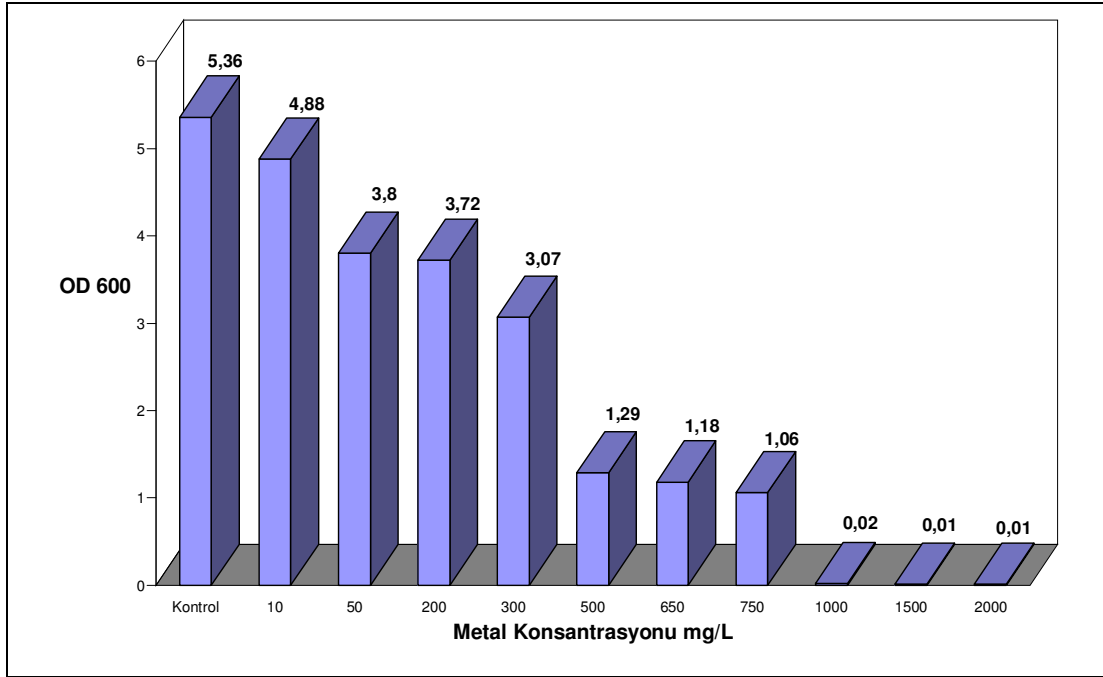
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 100 | 13,40 |
| 1000 | 10,56 |
| KONTROL | 15,52 |

4.1.6. *Saccharomyces cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO₄.7H₂O besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşun farklı ZnSO₄.7H₂O metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.16 ve Şekil 4.11 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 2000 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığını kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 394,156 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17, Şekil 4.12). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.18 de verilmiştir.

Çizelge 4.16. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO₄.7H₂O besiortamında hücre gelişimi

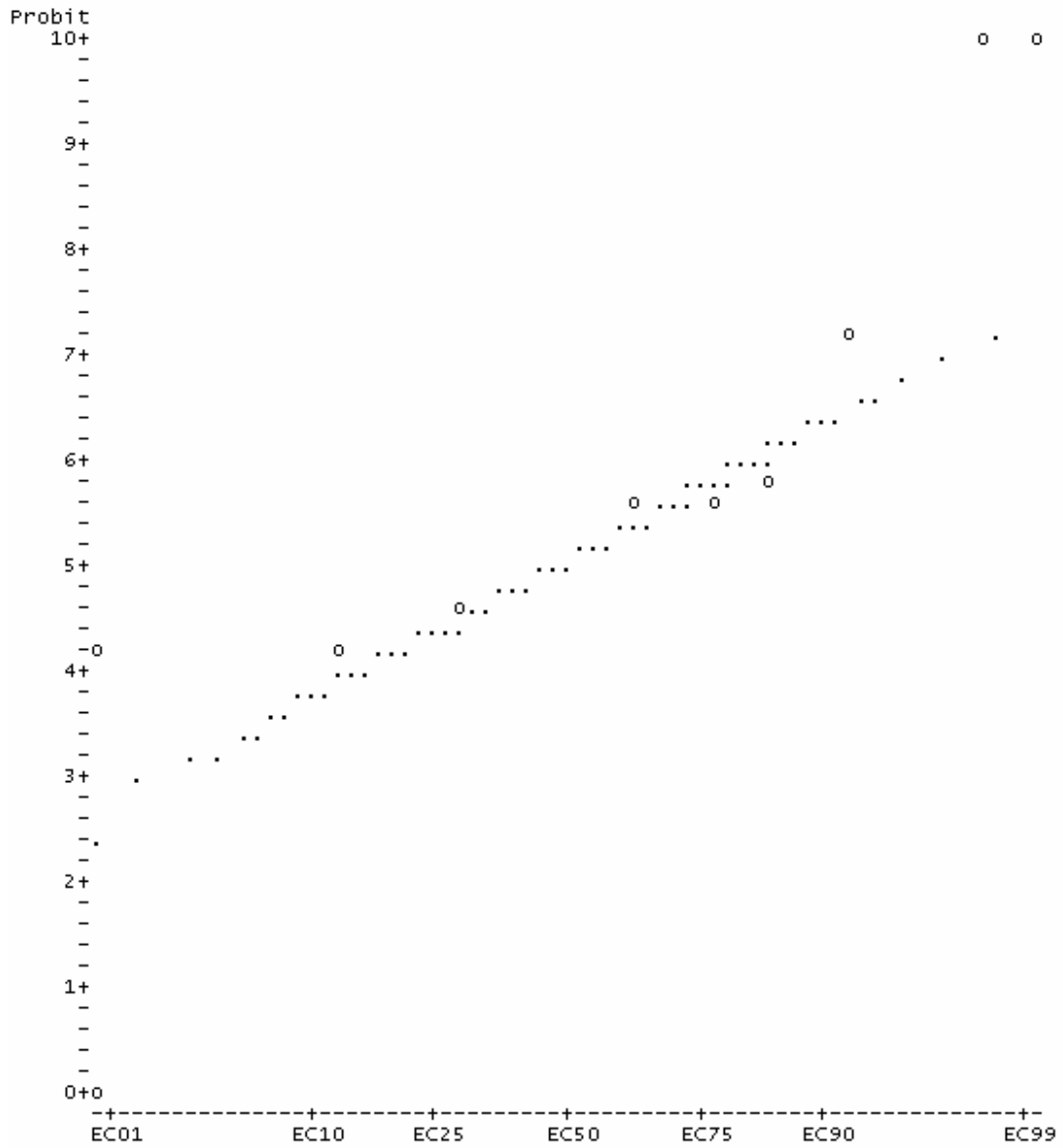
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|---------------------------|-------------------|---------------------------|
| 10 | 4,88 | 9,18 |
| 50 | 3,80 | 9,10 |
| 200 | 3,72 | 8,68 |
| 300 | 3,07 | 8,56 |
| 500 | 1,29 | 8,25 |
| 650 | 1,18 | 8,00 |
| 750 | 1,06 | 7,48 |
| 1000 | 0,02 | 7,30 |
| 1500 | 0,01 | 5,77 |
| 2000 | 0,01 | - |
| Kontrol | 5,36 | 9,39 |



Şekil 4.11. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ besiortamında hücre gelişimi.

Çizelge 4.17. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 96.242 | 30.591 | 163.105 |
| LC 5.00 | 145.450 | 59.258 | 221.715 |
| LC 10.00 | 181.275 | 84.118 | 261.723 |
| LC 15.00 | 210.318 | 106.401 | 293.151 |
| LC 50.00 | 394.156 | 278.329 | 488.673 |
| LC 85.00 | 738.684 | 601.662 | 985.744 |
| LC 90.00 | 857.033 | 690.943 | 1216.137 |
| LC 95.00 | 1068.125 | 833.896 | 1688.485 |
| LC 99.00 | 1614.259 | 1155.579 | 3208.388 |



Şekil 4.12. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO₄.7H₂O probit değerleri ve regresyon grafiği.

Çizelge 4.18. *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşun düşük ve yüksek ZnSO₄.7H₂O konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 10 | 10,64 |
| 1500 | 9,45 |
| KONTROL | 15,52 |

4.2. *Saccharomyces cerevisiae* 4 suşunun Hücre Gelişimi

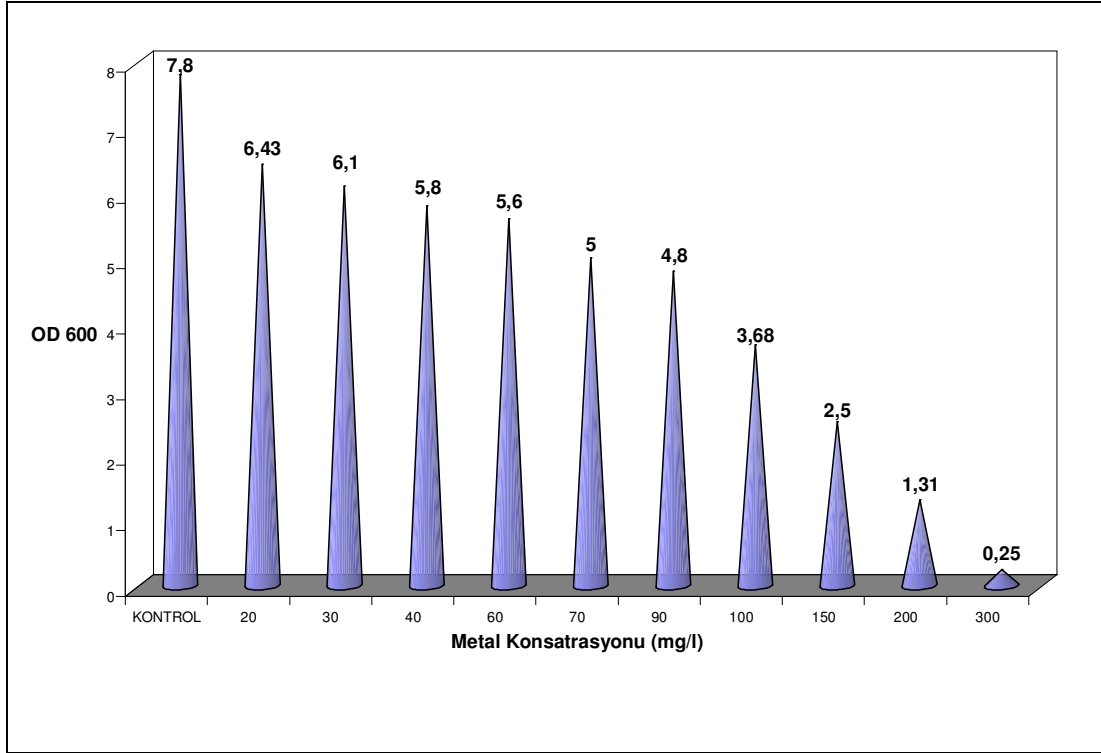
S. cerevisiae 4 suşun farklı metallere karşı direnci ve hücre gelişimi Bölüm 3.2.3 de anlatıldığı gibi yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.19 ve 4.36 da verilmiştir.

4.2.1. *Saccharomyces cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO₃ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 4 suşun farklı metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.19 ve Şekil 4.13 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrole karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 300 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığını kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 117,435 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.20, Şekil 4.14). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.21 de verilmiştir.

Çizelge 4.19. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO₃ besiortamında hücre gelişimi

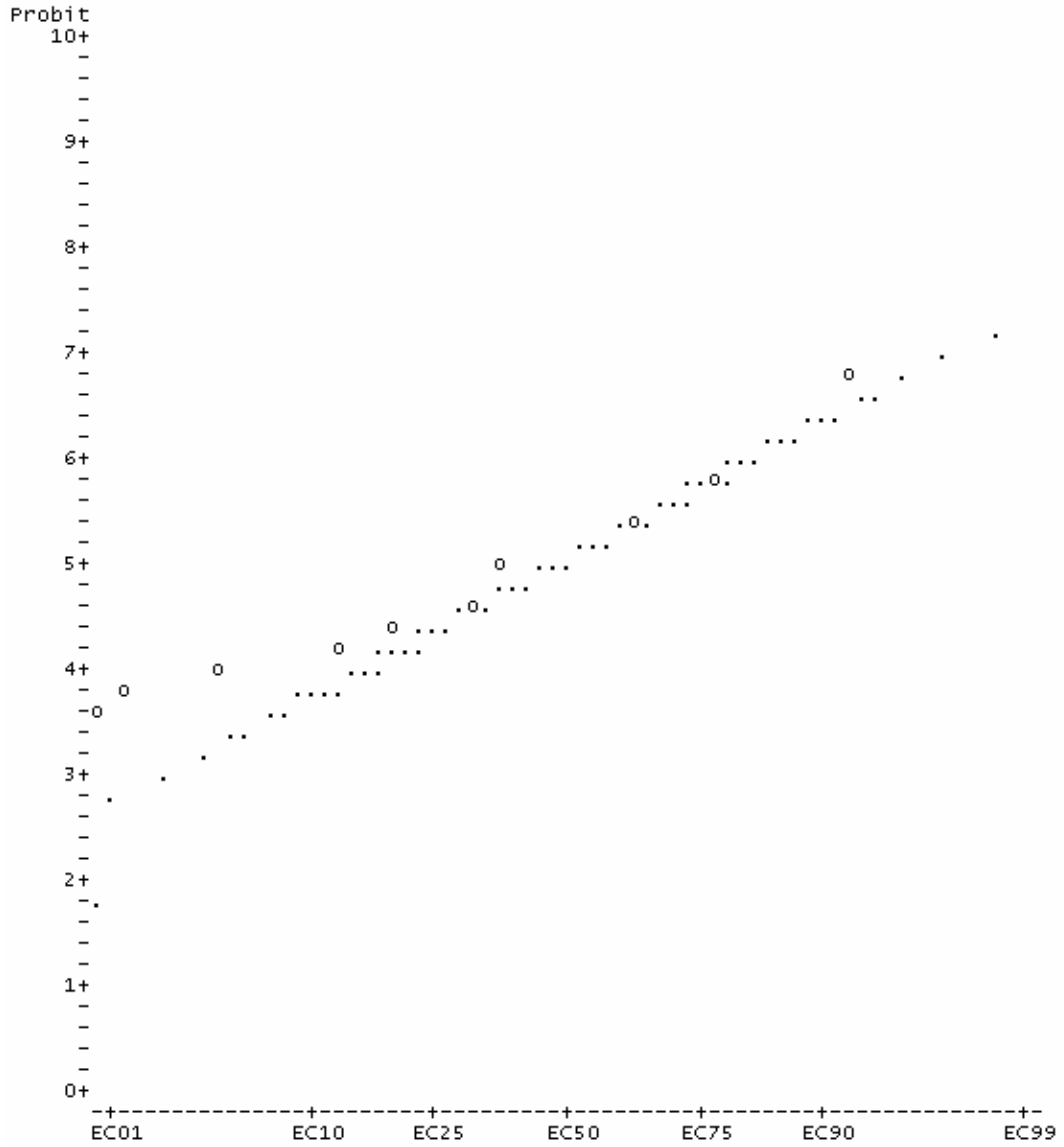
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 20 | 6,43 | 9,39 |
| 30 | 6,10 | 9,30 |
| 40 | 5,80 | 9,23 |
| 60 | 5,60 | 9,17 |
| 70 | 5,0 | 9,14 |
| 90 | 4,80 | 9,07 |
| 100 | 3,68 | 8,70 |
| 150 | 2,50 | 8,48 |
| 200 | 1,31 | 8,00 |
| 300 | 0,25 | - |
| Kontrol | 7.80 | 9,48 |



Şekil 4.13. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $AgNO_3$ besiyortamında hücre gelişimi grafiği

Çizelge 4.20. *S. cerevisiae* 4 suşun $AgNO_3$ içeren konsantrasyonlarda besiyortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|---------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 27.537 | 18.710 | 36.068 |
| LC 5.00 | 42.113 | 31.379 | 51.851 |
| LC 10.00 | 52.819 | 41.279 | 63.015 |
| LC 15.00 | 61.543 | 49.622 | 71.952 |
| LC 50.00 | 117.435 | 105.331 | 129.269 |
| LC 85.00 | 224.086 | 199.687 | 260.040 |
| LC 90.00 | 261.099 | 228.944 | 311.314 |
| LC 95.00 | 327.470 | 279.260 | 408.040 |
| LC 99.00 | 500.806 | 402.792 | 682.090 |



Şekil 4.14. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda AgNO_3 probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.21. *S. cerevisiae* 4 suşun düşük ve yüksek AgNO_3 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

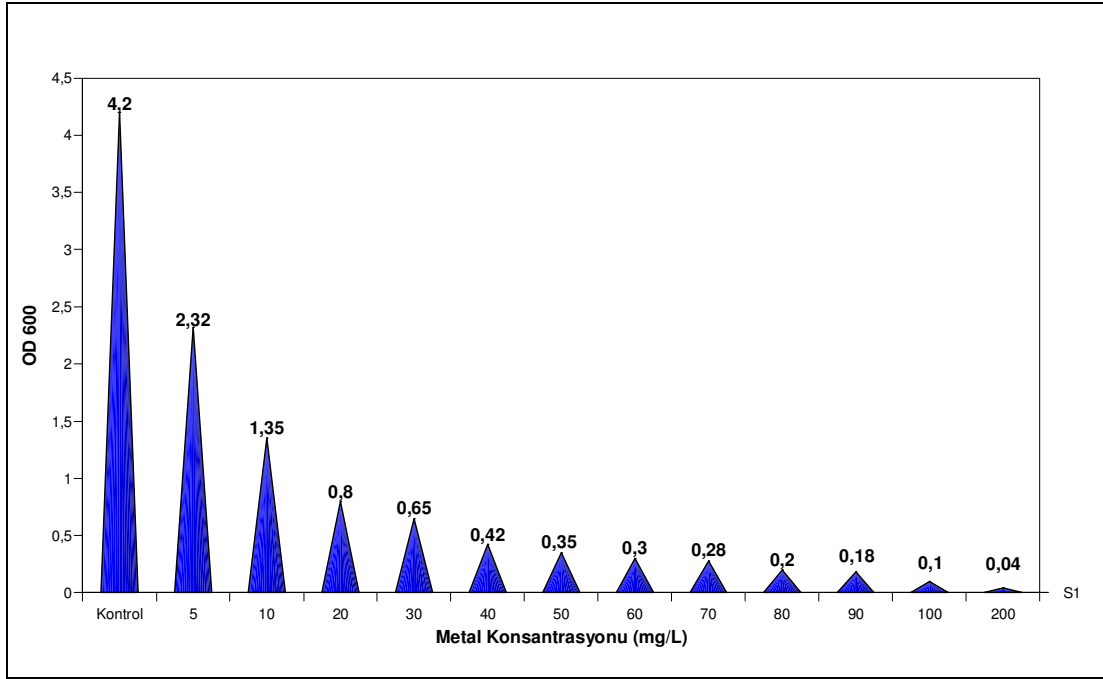
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 20 | 12,31 |
| 200 | 9,66 |
| KONTROL | 14,02 |

4.2.2. *Saccharomyces cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 4 suşun farklı metal konsantrasyonlarda ki hücre gelişimi Çizelge 4.22 ve Şekil 4.15 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 300 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığın kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 3,420 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.23, Şekil 4.16). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.24 de verilmiştir.

Çizelge 4.22. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ besiortamında hücre gelişimi

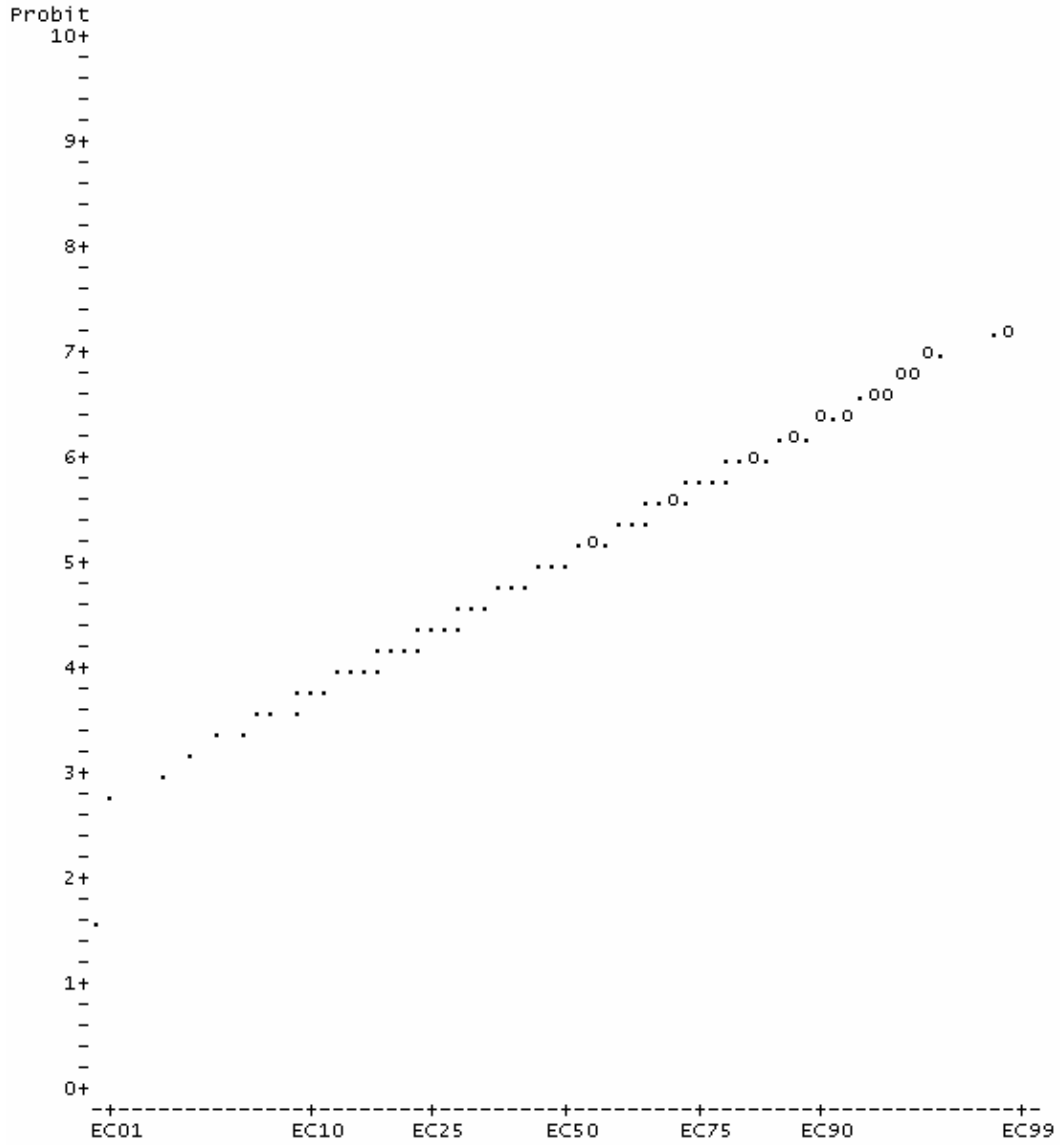
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 5 | 2,32 | 7,00 |
| 10 | 1,35 | 6,93 |
| 20 | 0,80 | 6,81 |
| 30 | 0,65 | 6,63 |
| 40 | 0,42 | 6,52 |
| 50 | 0,35 | 6,41 |
| 60 | 0,30 | 5,32 |
| 70 | 0,28 | 5,27 |
| 80 | 0,20 | 5,18 |
| 90 | 0,18 | 4,95 |
| 100 | 0,1 | 3,00 |
| 200 | 0,04 | - |
| Kontrol | 4,2 | 7,53 |



Şekil 4.15. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ besiortamında hücre gelişimi grafiği

Çizelge 4.23. *S. cerevisiae* 4 suşun CdSO₄ içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|---------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 0.056 | 0.012 | 0.156 |
| LC 5.00 | 0.187 | 0.055 | 0.429 |
| LC 10.00 | 0.355 | 0.122 | 0.737 |
| LC 15.00 | 0.547 | 0.208 | 1.063 |
| LC 50.00 | 3.420 | 1.968 | 5.054 |
| LC 85.00 | 21.364 | 16.906 | 26.499 |
| LC 90.00 | 32.956 | 26.570 | 41.502 |
| LC 95.00 | 62.640 | 49.075 | 85.354 |
| LC 99.00 | 208.926 | 141.968 | 360.604 |



Şekil 4.16. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CdSO₄ probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.24. *S. cerevisiae* 4 suşun düşük ve yüksek CdSO₄ konsantrasyonlarda besiortamında toplam hücre içi protein miktarı

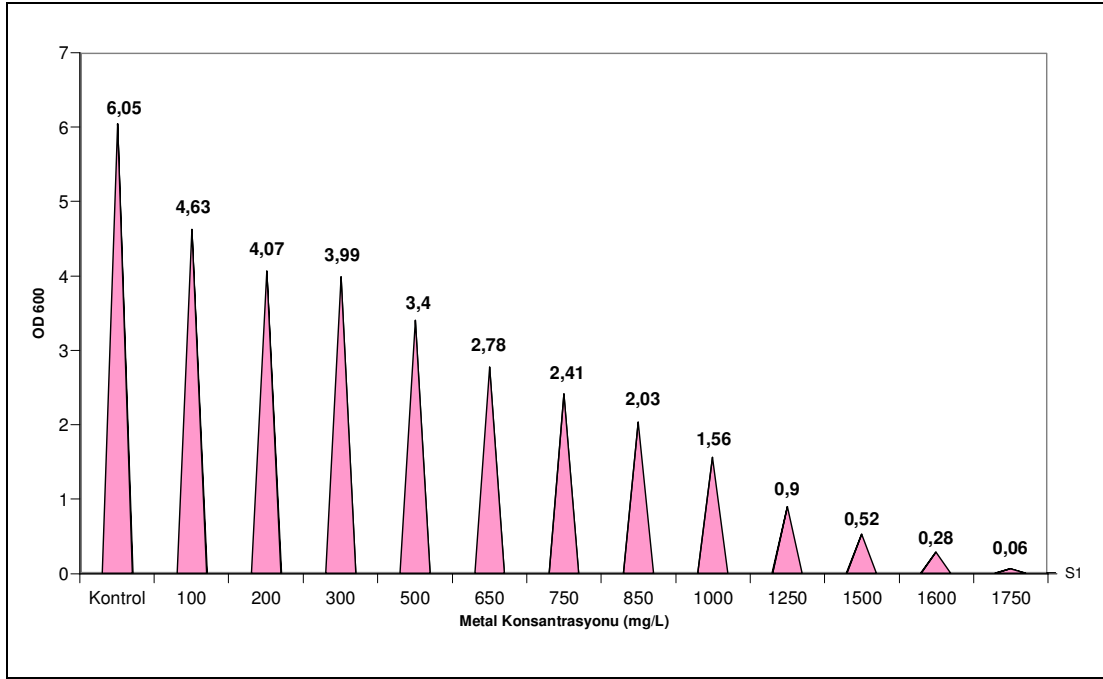
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 5 | 13,21 |
| 10 | 11,81 |
| 100 | 8,32 |
| KONTROL | 14,02 |

4.2.3. *Saccharomyces cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO₄ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 4 suşun farklı metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.25 ve Şekil 4.17 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 1750 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığın kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 717,102 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26, Şekil 4.18). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.27 de verilmiştir.

Çizelge 4.25. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO₄ besiortamında hücre gelişimi

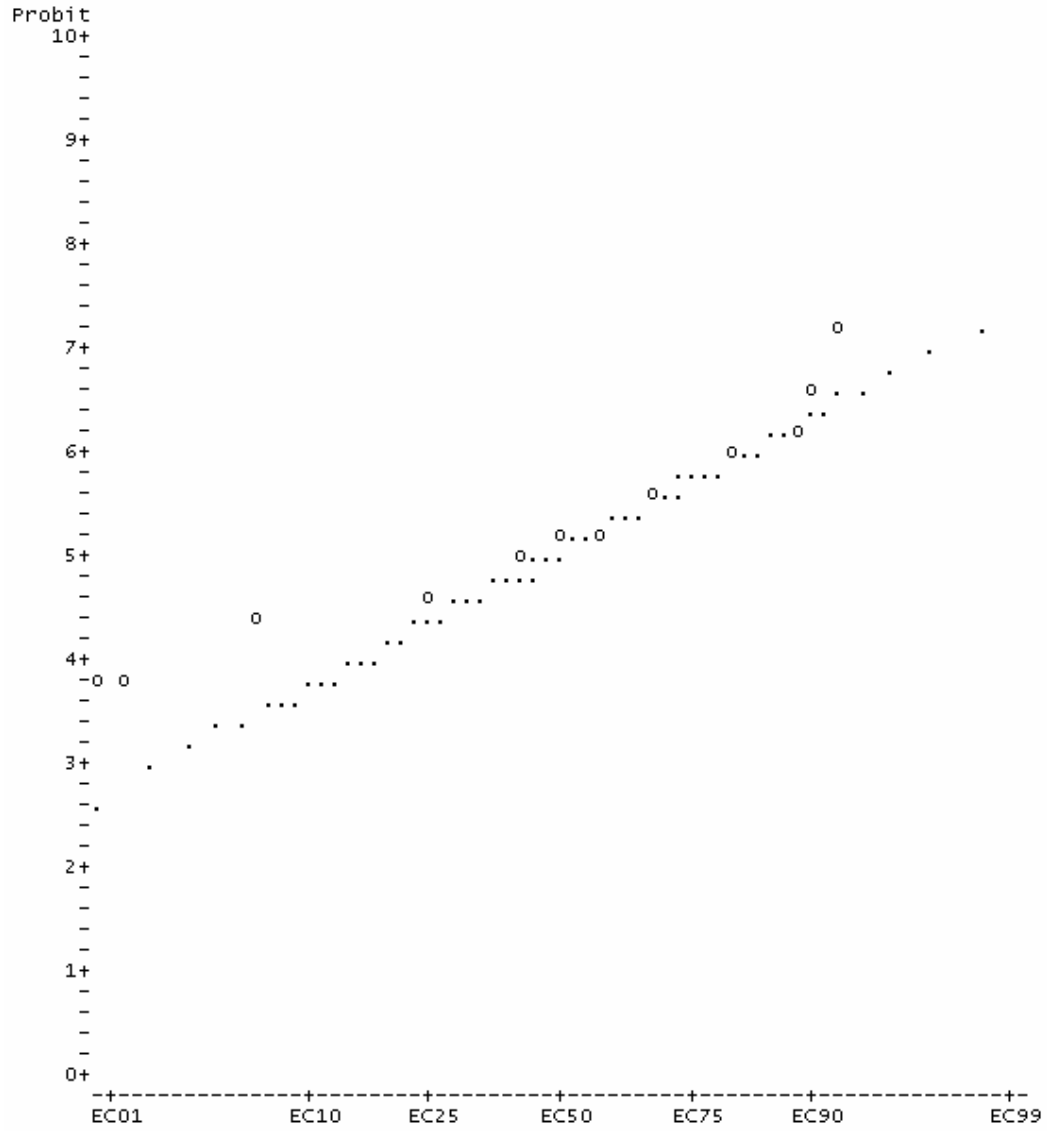
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 100 | 4,63 | 9,41 |
| 200 | 4,07 | 9,15 |
| 300 | 3,99 | 9,02 |
| 500 | 3,40 | 8,85 |
| 650 | 2,78 | 8,70 |
| 750 | 2,41 | 8,08 |
| 850 | 2,03 | 7,84 |
| 1000 | 1,56 | 6,95 |
| 1250 | 0,90 | 6,60 |
| 1500 | 0,52 | 5,90 |
| 1600 | 0,28 | 5,30 |
| 1750 | 0,06 | - |
| Kontrol | 6,05 | 9,62 |



Şekil 4.17. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO_4 besiortamında hücre gelişimi grafiği

Çizelge 4.26. *S. cerevisiae* 4 suşun CoSO_4 içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 184.894 | 127.390 | 240.798 |
| LC 5.00 | 275.009 | 205.607 | 338.468 |
| LC 10.00 | 339.843 | 265.201 | 406.131 |
| LC 15.00 | 392.035 | 314.757 | 459.504 |
| LC 50.00 | 717.102 | 642.081 | 783.063 |
| LC 85.00 | 1311.705 | 1210.720 | 1443.655 |
| LC 90.00 | 1513.154 | 1381.289 | 1699.204 |
| LC 95.00 | 1869.882 | 1669.113 | 2176.350 |
| LC 99.00 | 2781.243 | 2359.892 | 3492.147 |



Şekil 4.18. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda CoSO_4 probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.27. *S. cerevisiae* 4 suşun düşük ve yüksek CoSO_4 konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

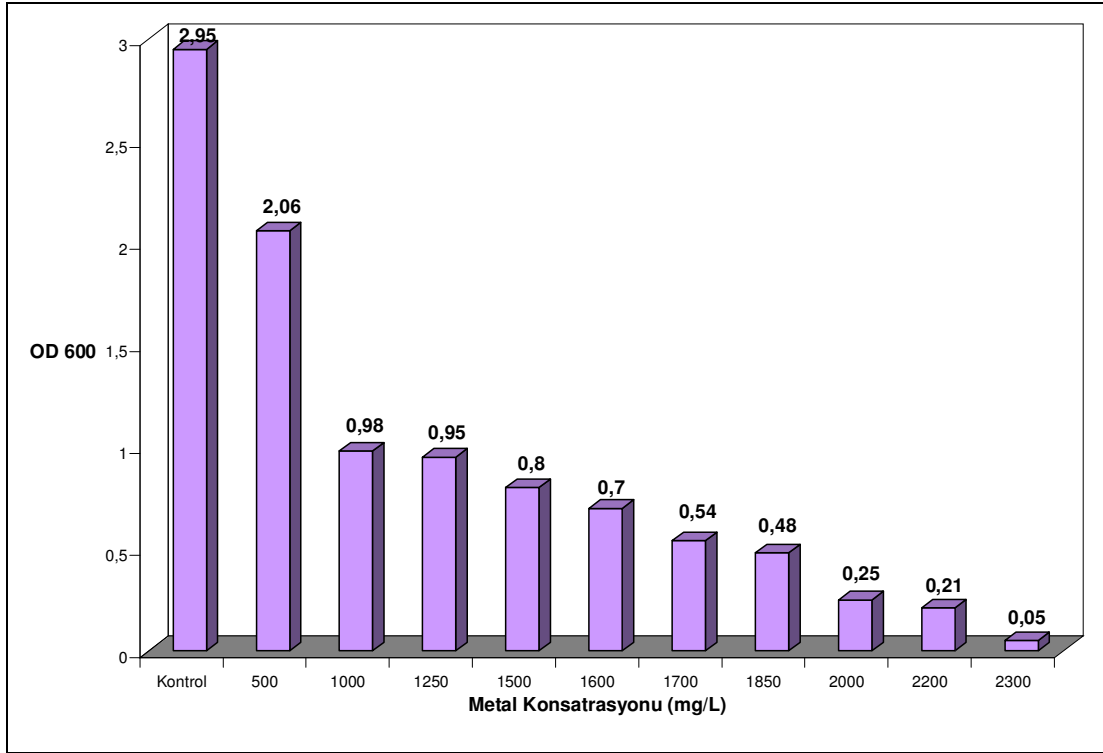
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 100 | 11,67 |
| 1600 | 8,60 |
| KONTROL | 20,32 |

4.2.4. *Saccharomyces cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 4 suşun farklı metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.28 ve Şekil 4.18 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 2300 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığını kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC_{50} değeri 914,851 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.29, Şekil 4.19). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.30 de verilmiştir.

Çizelge 4.28. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi

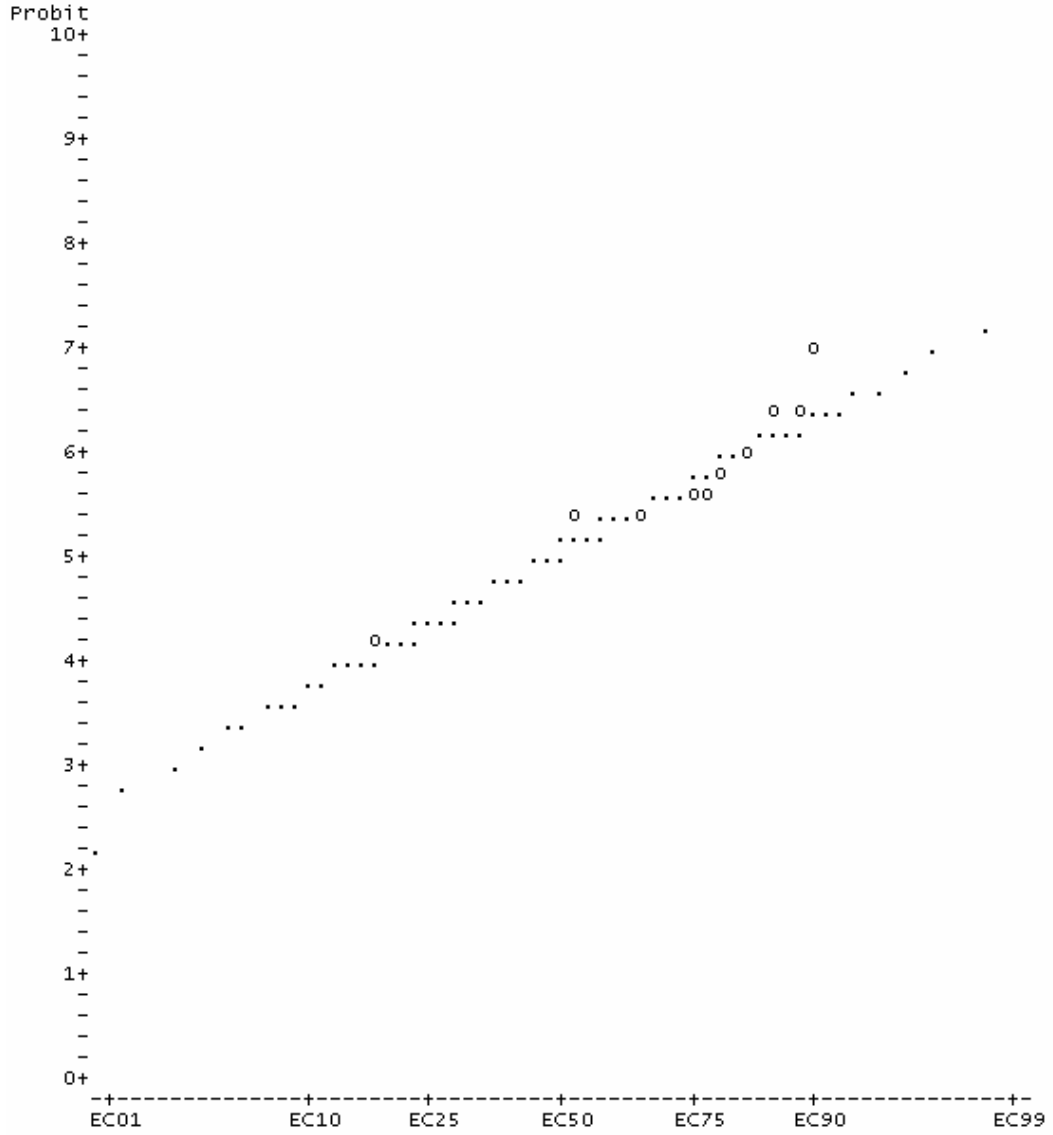
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 500 | 2,06 | 8,53 |
| 1000 | 0,98 | 7,95 |
| 1250 | 0,95 | 7,90 |
| 1500 | 0,80 | 7,30 |
| 1600 | 0,70 | 7,00 |
| 1700 | 0,54 | 6,70 |
| 1850 | 0,48 | - |
| 2000 | 0,25 | - |
| 2200 | 0,21 | - |
| 2300 | 0,05 | - |
| Kontrol | 2,95 | 8,95 |



Şekil 4.19. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ besiortamında hücre gelişimi grafiği

Çizelge 4.29. *S. cerevisiae* 4 suşun $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 186.480 | 113.870 | 262.360 |
| LC 5.00 | 297.133 | 201.307 | 389.483 |
| LC 10.00 | 380.909 | 272.620 | 481.069 |
| LC 15.00 | 450.428 | 334.422 | 554.960 |
| LC 50.00 | 914.851 | 786.856 | 1023.333 |
| LC 85.00 | 1858.127 | 1715.014 | 2037.040 |
| LC 90.00 | 2197.251 | 2007.067 | 2463.183 |
| LC 95.00 | 2816.759 | 2506.687 | 3298.960 |
| LC 99.00 | 4488.170 | 3752.142 | 5784.143 |



Şekil 4.20. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.30. *S. cerevisiae* 4 suşun düşük ve yüksek $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

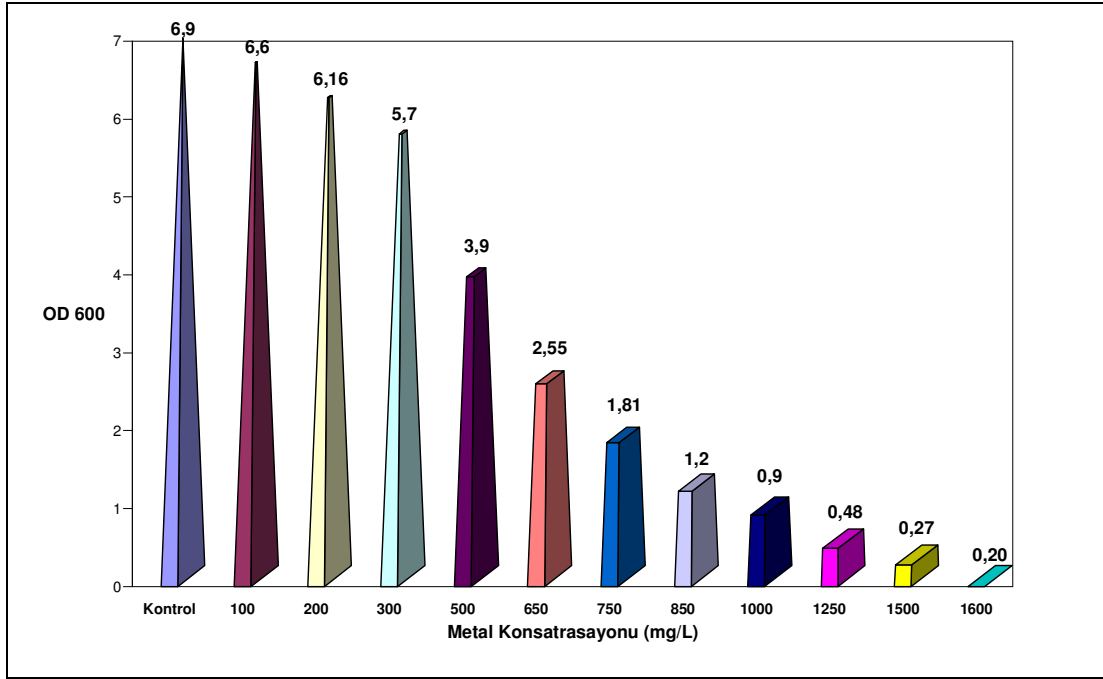
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 1000 | 12,51 |
| 1700 | 10,95 |
| KONTROL | 20,32 |

4.2.5. *Saccharomyces cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 4 suşun farklı NiSO₄ metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.31 ve Şekil 4.20 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 1700 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığın kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 566.554 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.32, Şekil 4.21). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.33 de verilmiştir.

Çizelge 4.31. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ besiortamında hücre gelişimi

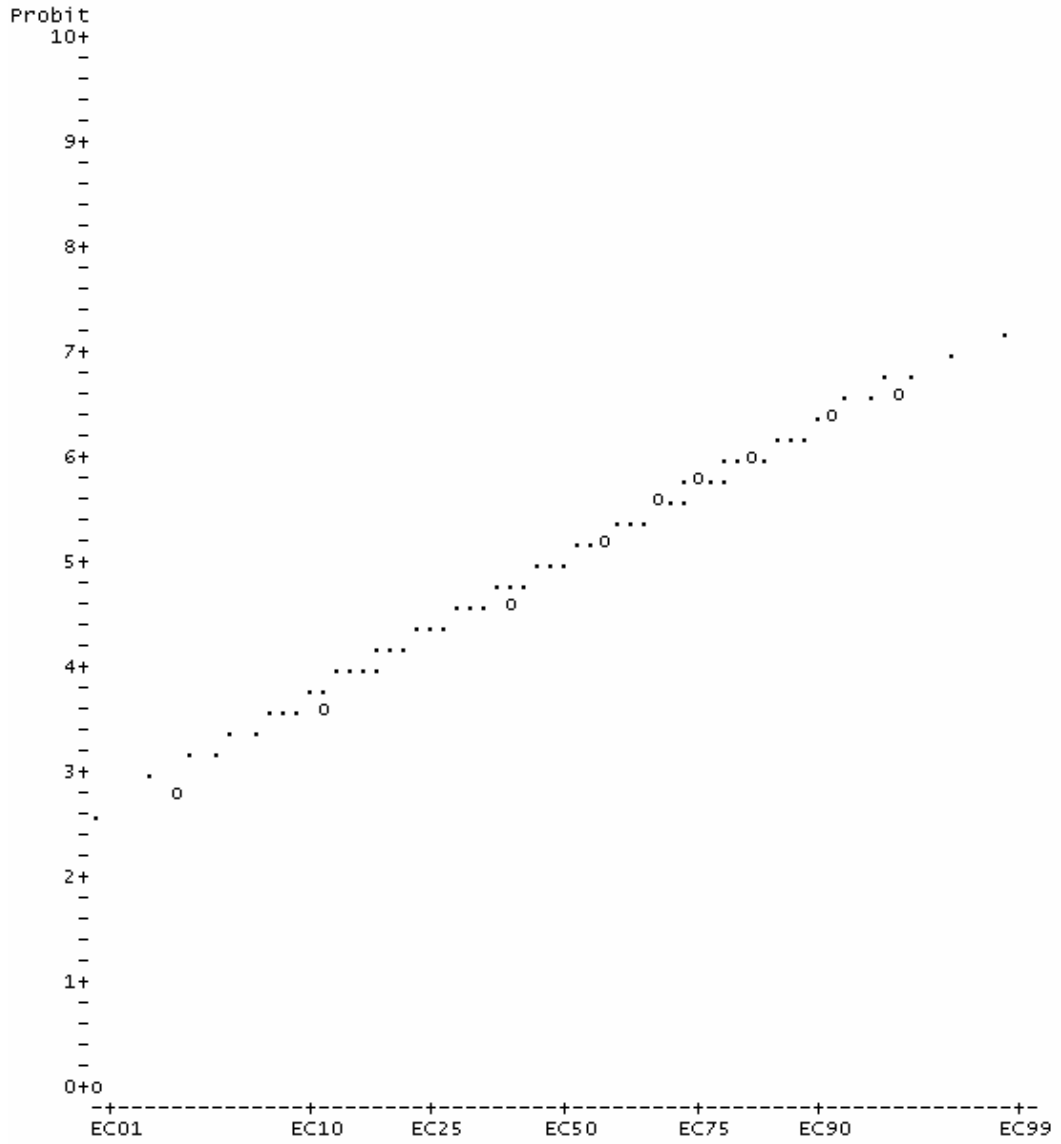
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 100 | 6,60 | 9,00 |
| 200 | 6,16 | 8,95 |
| 300 | 5,70 | 8,90 |
| 500 | 3,90 | 8,84 |
| 650 | 2,55 | 8,69 |
| 750 | 1,81 | 8,48 |
| 850 | 1,20 | 8,30 |
| 1000 | 0,90 | 8,30 |
| 1250 | 0,48 | 8,00 |
| 1500 | 0,27 | 7,60 |
| 1600 | 0,20 | 7,00 |
| 1700 | - | - |
| Kontrol | 6,90 | 9,30 |



Şekil 4.21. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ besiortamında hücre gelişimi grafiği

Çizelge 4.32. *S. cerevisiae* 4 suşun NiSO₄ içeren konsantrasyonlarda besiortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 160.469 | 118.828 | 200.161 |
| LC 5.00 | 232.201 | 183.773 | 276.122 |
| LC 10.00 | 282.762 | 231.713 | 328.011 |
| LC 15.00 | 322.973 | 270.833 | 368.603 |
| LC 50.00 | 566.554 | 518.156 | 610.005 |
| LC 85.00 | 993.838 | 925.813 | 1080.948 |
| LC 90.00 | 1135.170 | 1046.964 | 1255.503 |
| LC 95.00 | 1382.353 | 1250.468 | 1574.467 |
| LC 99.00 | 2000.277 | 1732.996 | 2423.786 |



Şekil 4.22. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda NiSO₄ probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.33. *S. cerevisiae* 4 suşun düşük ve yüksek NiSO₄ konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

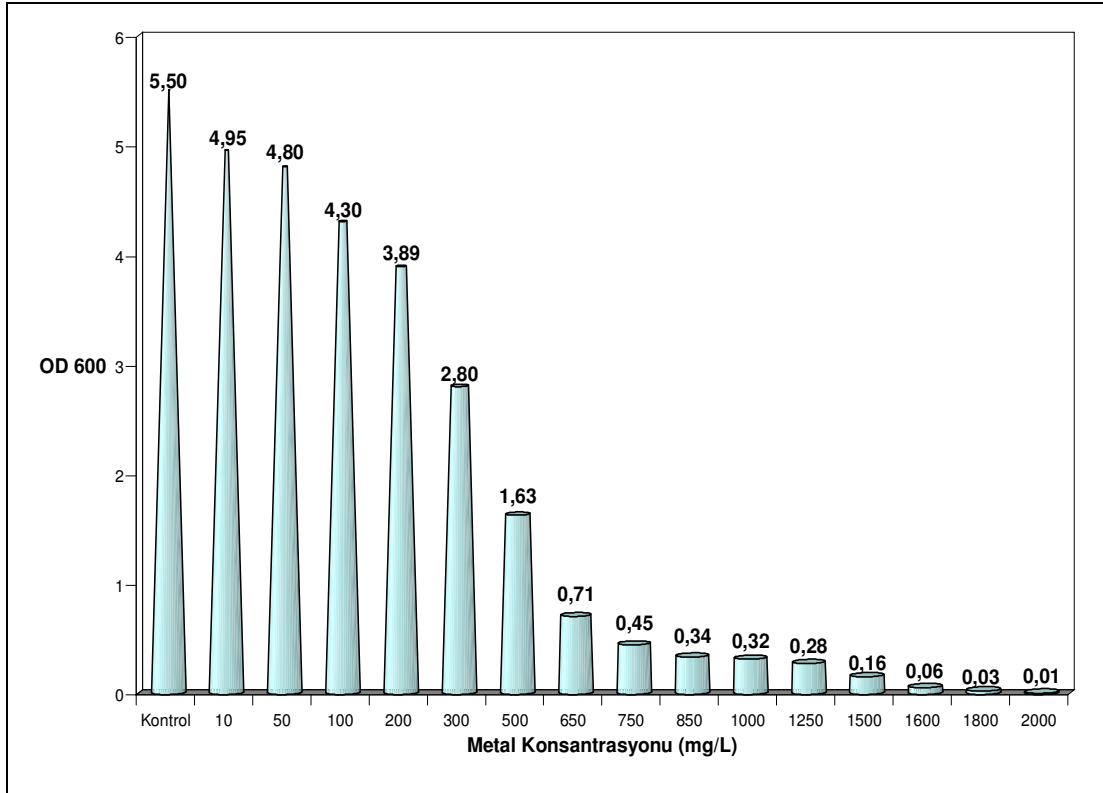
| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 100 | 14,07 |
| 1350 | 12,50 |
| KONTROL | 20,32 |

4.2.6. *Saccharomyces cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO₄.7H₂O besiortamında hücre gelişimi ve total proteini

S. cerevisiae 4 suşun farklı ZnSO₄.7H₂O metal konsantrasyonlarda hücre gelişimi Çizelge 4.34 ve Şekil 4.22 de gösterilmiştir. Metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak kontrolle karşılaştırıldığında hücre gelişiminde azalma belirlenmiştir. 2000 mg/L metal konsantrasyonunda canlılığın kayıp ettiği gözlenmiştir. Probit analizi yapılan suşun LC₅₀ değeri 339.215 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.35, Şekil 4.23). Suşun düşük ve yüksek metal konsantrasyonu ile kontrol besiortamındaki hücre içi protein miktarları Çizelge 4.36 da verilmiştir

Çizelge 4.34. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO₄.7H₂O besiortamında hücre gelişimi

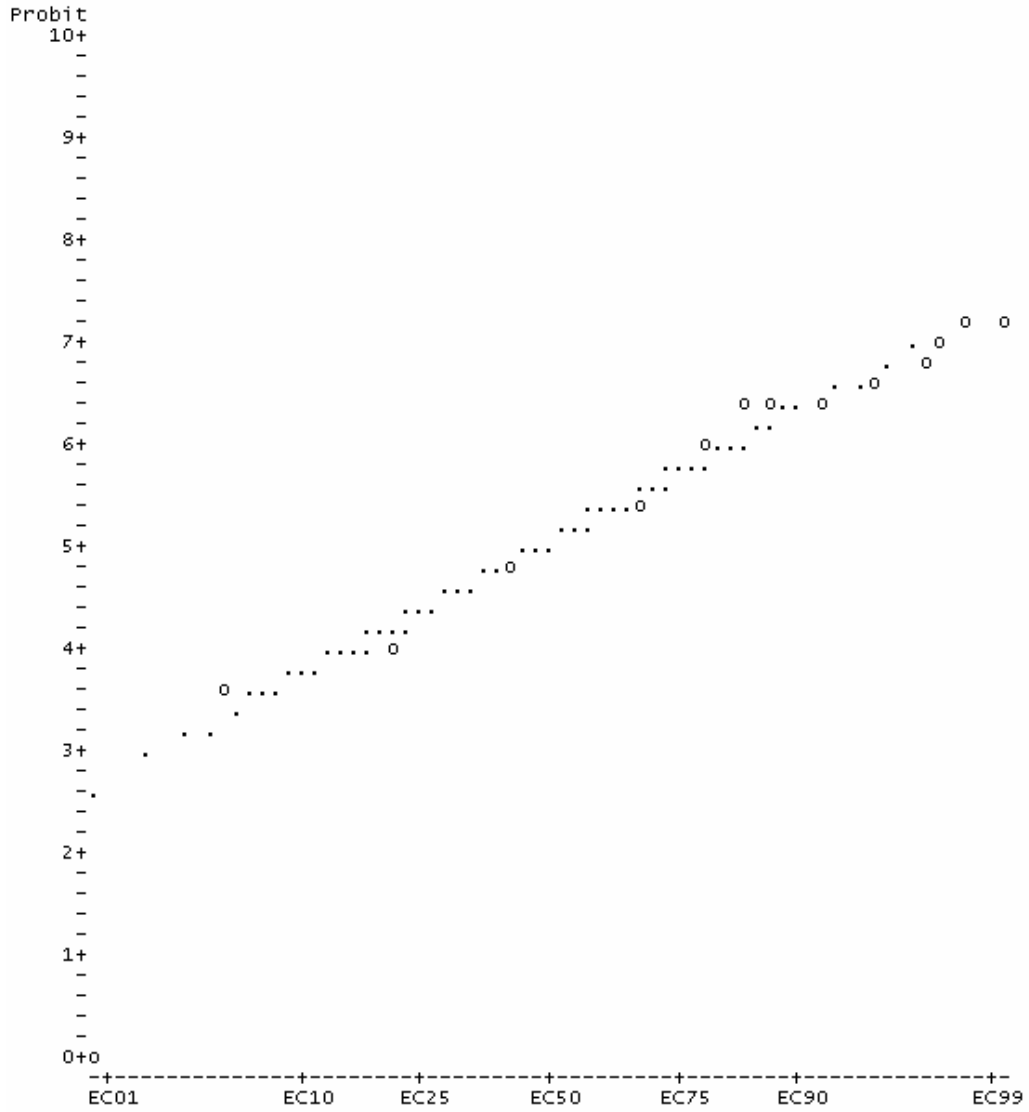
| Metal Konsantrasyonu mg/L | OD ₆₀₀ | log ₁₀ cfu /mL |
|------------------------------|-------------------|---------------------------|
| 10 | 4,95 | 9,28 |
| 50 | 4,80 | 9,24 |
| 100 | 4,30 | 9,14 |
| 200 | 3,89 | 9,03 |
| 300 | 2,80 | 8,88 |
| 500 | 1,63 | 8,68 |
| 650 | 0,71 | 8,32 |
| 750 | 0,45 | 8,04 |
| 850 | 0,34 | 8,00 |
| 1000 | 0,32 | 7,95 |
| 1250 | 0,28 | 7,78 |
| 1500 | 0,16 | 7,78 |
| 1600 | 0,06 | 7,60 |
| 1800 | 0,03 | 7,00 |
| 2000 | 0,01 | - |
| Kontrol | 5,50 | 9,45 |



Şekil 4.23. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ besiyortamında hücre gelişimi grafiği

Çizelge 4.35. *S. cerevisiae* 4 suşun $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ içeren konsantrasyonlarda besiyortamında 24 saatlik akut toksisitesi

| Değerler | Konsantrasyon (mg/L) | %95 Güven Sınırı | |
|----------|----------------------|------------------|----------|
| | | Alt | Üst |
| LC 1.00 | 61.750 | 42.591 | 82.289 |
| LC 5.00 | 101.705 | 75.490 | 128.227 |
| LC 10.00 | 132.704 | 102.353 | 162.557 |
| LC 15.00 | 158.806 | 125.644 | 190.870 |
| LC 50.00 | 339.215 | 296.222 | 379.611 |
| LC 85.00 | 724.577 | 663.450 | 794.744 |
| LC 90.00 | 867.094 | 790.701 | 961.152 |
| LC 95.00 | 1131.378 | 1016.532 | 1285.062 |
| LC 99.00 | 1863.440 | 1603.805 | 2249.609 |



Şekil 4.24. *S. cerevisiae* 4 suşun farklı konsantrasyonlarda ZnSO₄.7H₂O probit değerleri ve regresyon grafiği

Çizelge 4.36. *S. cerevisiae* 4 suşun düşük ve yüksek ZnSO₄.7H₂O konsantrasyonlarda toplam hücre içi protein miktarı

| Metal Konsantrasyonu (mg/L) | Protein Miktarı (mg/mL) |
|-----------------------------|-------------------------|
| 10 | 13,55 |
| 1800 | 10,45 |
| KONTROL | 20,32 |

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnsan aktiviteleri sonucu meydana gelen aşırı miktardaki organik ve inorganik bileşikler her yıl çevreye bırakılmaktadır [Gavrilescu, 2004]. Bunların bir kısmı bilinçli olarak bir takım düzenlemelerle, bir kısmı ise kaza sonucu çevreye verilmektedir. Ağır metallerin nehirlerde ve sulu ortamlarda birikmesi hem akuatik yaşamı olumsuz yönde etkilemekte hem de besin zinciri yolu ile insan sağlığını tehdit etmektedir [Senthilkumaar ve ark., 2000]. Ayrıca bazıları, çevrede lipofil özellik kazanarak su, bitki ve hayvanlarda birikip besin zinciri ile insanlara ulaşmaktadır [Malik, 2004].

Metaller tüm aerob ve çoğu anaerob mikroorganizmalar için temel minerallerdir. Ancak suda düşük konsantrasyonlarda bulunmaları halinde bile insan sağlığına zarar verecek hastalıklara, hatta ölüme bile neden olabilirler. Eser miktarda bile insan sağlığına sakıncalı olan en önemli ağır metal grubu olarak anılan Cu, Cr, Pb, Ag, Mn, Hg, Zn gibi elementler oluşturmaktadır. İnsan vücudu metali işleyemez ve kullanamaz. Bunun sonucu olarak metal çeşitli organlarda birikmektedir [Gavrilescu, 2004].

Metallerin toksik etkileri her metalin özelliğine göre değişmektedir. Ancak genel olarak metallerin tümü birden fazla organ ve sistemi etkilemektedir. Toksik ağır metaller; sinirlere ve kemiklere zarar vermekte, vital enzim gruplarının fonksiyonlarını bloke etmekte ve kansere neden olmaktadır [Ewan ve Pamphlett, 1996].

Ağır metal uzaklaştırmak için kullanılan geleneksel metotların, yeni çevresel sorunlar yarattığı, yetersiz ve pahalı olduğu bilinmektedir. Geleneksel metal uzaklaştırma teknikleri yüksek işletme masrafları getirmeleri, yüksek miktarda kimyasal gereksinimi ve ağır metallerin besin yolu ile insana geçtikten sonra yararı bulunamamasından dolayı, günümüzde bunların gideriminde biyoteknolojik yaklaşımlar önem kazanmaktadır. Ağır metallerin insan sağlığı üzerindeki zararlarının minimize edilmesi için yapılan çalışmalar ise, ağır metali kullanan ve

kendi vücutlarına hapsedebilen mikroorganizmalar üzerine yoğunlaşmıştır [Wang, ve Chen, 2006].

Bu çalışmada çevreye ve insan sağlığı üzerine zararlı etkileri bulunan bazı ağır metallerin bakır (Cu), nitrat (Ni), çinko (Zn), kobalt (Co), kadmiyum (Cd) ve gümüş (Ag)' ün farklı konsantrasyonlarda *S. cerevisiae* 4 ve *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşlarının ilgili ağır metallere karşı dirençlilikleri hücre gelişimi ve total hücre proteini üzerindeki etkisi incelenmiştir.

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşunun ağır metal içeren ve kontrol besi ortamında hücre gelişimi Çizelge 4.1-4.18 de gösterilmiştir. 5- 200 mg/L AgNO₃ içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 100 mg/L olarak tespit edilmiştir. 5 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 9,28 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 100 mg/L konsantrasyonunda 7,94 cfu/mL' ye azalmıştır (Çizelge 4.1; Şekil 4.1). Ağır metal konsantrasyonu arttıkça, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 5 mg/L konsantrasyonunda AgNO₃ içeren ortamda protein miktarı 18,72 mg/mL, kontrolle yakın bir değer olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 100 mg/L AgNO₃ konsantrasyonunda total protein miktarının 10,37 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.3). Bu suşun AgNO₃ içeren ortamdaki istatikselsel Probit analiz sonucuna göre LC₅₀ değeri 52,480 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.2; Şekil 4.2).

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşunun 5-100 mg/L CdSO₄ içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 90 mg/L olarak tespit edilmiştir. 5 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 6,61 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 90 mg/L konsantrasyonunda 4,84 cfu/mL 'ye düşmüştür (Çizelge 4.4; Şekil 4.3). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük CdSO₄ 5 mg/L konsantrasyonunda içeren ortamda protein miktarı 19,52 mg/mL kontrolle yakın bir değerde olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 90 mg/L CdSO₄ konsantrasyonunda total protein miktarının 11,98 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak protein miktarının

azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Bu suşun CdSO₄ içeren ortamdaki istatistiksel Probit analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 0,057 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.5; Şekil 4.4).

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşunun 100-1500 mg/L CoSO₄ içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 1250 mg/L olarak tespit edilmiştir. 100 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 9,17 cfu/mL olarak belirlenirken 1250 mg/L konsantrasyonunda 5,30 cfu/mL 'ye azalmıştır (Çizelge 4.7; Şekil 4.5). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 100 mg/L konsantrasyonunda CoSO₄ içeren ortamda protein miktarı 13,70 mg/mL değer olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 1250 mg/L CdSO₄ konsantrasyonunda total protein miktarının 11,82 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.9). *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşunun CoSO₄ içeren ortamdaki istatistiksel Probit analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 266,979 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.8; Şekil 4.6).

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşunun 1000-2400 mg/L CuSO₄.5H₂O içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 2300 mg/L olarak tespit edilmiştir. 1000 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 8,52 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 2300 mg/L konsantrasyonunda 5,00 cfu/mL 'ye azalmıştır (Çizelge 4.10; Şekil 4.7). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 1000 mg/L konsantrasyonunda CuSO₄.5H₂O içeren ortamda protein miktarı 10,80 mg/mL kontrole yakın bir değerde olup, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 2300 mg/L CuSO₄.5H₂O konsantrasyonunda total protein miktarının 9,93 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.12). *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşunun CuSO₄.5H₂O içeren ortamdaki istatistiksel Probit analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 1384,050 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.11; Şekil 4.8).

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşunun 100-1250 mg/L NiSO₄ içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 1000 mg/L olarak tespit edilmiştir. 100 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 8,99 cfu/mL olarak belirlenirken 1000 mg/L konsantrasyonunda 7,23 cfu/mL 'ye düşmüştür (Çizelge 4.13; Şekil 4.9). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 100 mg/L konsantrasyonunda NiSO₄ içeren ortamdaki protein miktarı 13,40 mg/mL kontrole yakın bir değer olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 1000 mg/L NiSO₄ konsantrasyonunda total protein miktarının 10,56 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.15). *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşunun NiSO₄ içeren ortamdaki istatikselsel Probit analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 624,241 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.14; Şekil 4.10).

S. cerevisiae 2S1 TP (3-2) suşunun 10-2000 mg/L ZnSO₄.7H₂O içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 1500 mg/L olarak tespit edilmiştir. 10 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 9,18 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 1500 mg/L konsantrasyonunda 5,77 cfu/mL 'ye düşmüştür (Çizelge 4.16; Şekil 4.11). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 10 mg/L konsantrasyonunda ZnSO₄.7H₂O içeren ortamdaki protein miktarı 10,64 mg/mL iken metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 1500 mg/L ZnSO₄.7H₂O konsantrasyonunda total protein miktarının 9,45 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.18). *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşunun ZnSO₄.7H₂O içeren ortamdaki istatikselsel Probit analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 394,156 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.17; Şekil 4.12).

S. cerevisiae 4 suşunun ağır metal içeren ve kontrol besi ortamında hücre gelişimi Çizelge 4.19-4.36 da gösterilmiştir. 20- 300 mg/L AgNO₃ içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 200 mg/L olarak tespit edilmiştir. 20 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 9,39 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 200 mg/L konsantrasyonunda 8,00 cfu/mL' ye düşmüştür (Çizelge 4.19;Şekil 4.13). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı

gözlenmiştir. Suşun düşük 20 mg/L konsantrasyonunda AgNO_3 içeren ortamda protein miktarı 12,31 mg/mL kontrole yakın bir değerde olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 200 mg/L AgNO_3 konsantrasyonunda total protein miktarının 9,366 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.21). *S. cerevisiae* 4 suşunun AgNO_3 içeren ortamdaki istatikselsel Probit analiz sonucuna göre ise LC_{50} değeri 117,435 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.20; Şekil 4.14).

S. cerevisiae 4 suşunun 5-200 mg/L CdSO_4 içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 100 mg/L olarak tespit edilmiştir. 5 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 7,00 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 100 mg/L konsantrasyonunda 3,00 cfu/mL 'ye düşmüştür (Çizelge 4.22; Şekil 4.15). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 5 mg/L konsantrasyonunda CdSO_4 içeren ortamdaki protein miktarı 13,21 mg/mL kontrole yakın bir değer olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 100 mg/L CdSO_4 konsantrasyonunda total protein miktarının 8,32 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.24). *S. cerevisiae* 4 suşunun CdSO_4 içeren ortamdaki istatikselsel Probit analiz sonucuna göre ise LC_{50} değeri 3,420 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.23; Şekil 4.16).

S. cerevisiae 4 suşunun 100- 1750 mg/L CoSO_4 içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 1600 mg/L olarak tespit edilmiştir. 100 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 9,41 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 1600 mg/L konsantrasyonunda 5,30 cfu/mL' ye düşmüştür (Çizelge 4.25; Şekil 4.17). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 100 mg/L konsantrasyonunda CoSO_4 içeren ortamda protein miktarı 11,67 mg/mL, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 1600 mg/L CoSO_4 konsantrasyonunda total protein miktarının 8,60 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.27). *S. cerevisiae* 4 suşunun CoSO_4 içeren ortamdaki istatikselsel Probit

analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 717,102 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.26; Şekil 4.18).

S. cerevisiae 4 suşunun 500-1700 mg/L CuSO₄.5H₂O içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 1700 mg/L olarak tespit edilmiştir. 500 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 8,53 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 1700 mg/L konsantrasyonunda 6,70 cfu/mL 'ye düşmüştür (Çizelge 4.28; Şekil 4.18). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 1000 mg/L konsantrasyonunda CuSO₄.5H₂O içeren ortamda protein miktarı 12,51 mg/mL kontrolle yakın bir değer olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 1700 mg/L CuSO₄.5H₂O konsantrasyonunda total protein miktarının 10,95 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.30). *S. cerevisiae* 4 suşunun CuSO₄.5H₂O içeren ortamdaki istatikselsel Probit analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 914,851 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.29; Şekil 4.19).

S. cerevisiae 4 suşunun 100- 1700 mg/L NiSO₄ içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 1600 mg/L olarak tespit edilmiştir. 100 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 9,00 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 1600 mg/L konsantrasyonunda 7,00 cfu/mL' ye düşmüştür (Çizelge 4.31;Şekil 4.20). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 100 mg/L konsantrasyonunda NiSO₄ içeren ortamda protein miktarı 14,07 mg/mL, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak 1350 mg/L NiSO₄ konsantrasyonunda total protein miktarının 12,50 mg/mL kontrole yakın bir değer olduğu ve ağır metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.33). *S. cerevisiae* 4 suşunun NiSO₄ içeren ortamdaki istatikselsel Probit analiz sonucuna göre ise LC₅₀ değeri 566,554 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.32; Şekil 4.21).

S. cerevisiae 4 suşunun 10-2000 mg/L ZnSO₄.7H₂O içeren ortamda geliştirilen suşun bu metale karşı gösterilen minimal inhibisyon konsantrasyonu 1800 mg/L olarak

tespit edilmiştir. 10 mg/L konsantrasyonunda hücre gelişimi 9,28 cfu/mL olarak belirlenirken bu değer 1800 mg/L konsantrasyonunda 7,00 cfu/mL 'ye düşmüştür (Çizelge 4.34; Şekil 4.22). Ağır metalin, suşun gelişimini azalttığı gözlenmiştir. Suşun düşük 10 mg/L konsantrasyonunda $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ içeren ortamda protein gelişimi 13,55 mg/mL kontrolle yakın bir değer olduğu, metal konsantrasyonundaki artışa paralel olarak yüksek 1800 mg/L $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ konsantrasyonunda total protein miktarının 10,45 mg/mL olduğu ve ağır metal konsantrasyonunun artışına bağlı olarak protein miktarının azaldığı gözlenmiştir (Çizelge 4.36). *S. cerevisiae* 4 suşunun $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ içeren ortamdaki istatistiksel Probit analiz sonucuna göre ise LC_{50} değeri 339,215 mg/L olarak bulunmuştur (Çizelge 4.35; Şekil 4.23).

Bu güne kadar yapılan çalışmalar, mayaların metal giderim mekanizmaları, mayaların hangi metalleri tutabildiği veya da mayaların ağır metalleri yarışmalı olarak almaları üzerinde yoğunlaşmıştır. Mayaları biyosorpsiyon ile ağır metal giderimi üzerinde çalışmalar bir çok araştırmacılar tarafından gösterilmiştir [Volesky, 1990a; Sağlam ve cihangir, 1995; Kutsal ve ark., 1996; Daviz ve ark., 2003].

Son yıllarda ağır metal biyosorpsiyonunda mikroorganizmaların kullanımı üzerine yoğunlaşmıştır. Araştırmacılar canlı veya ölü biyomasın solüsyondan ağır metal adsorplama potansiyeline sahip olduğunu bildirmişlerdir. Toksik ağır metal iyonlarının birçok bakteri, fungus, alg, yüksek bitkiler ve mayalar tarafından uzaklaştırılabildiği çalışmalar sonucunda kanıtlanmıştır.

Bu çalışmada *S. cerevisiae* iki maya suşunun farklı oranlarda ağır metal toleransına sahip olduğunu ortaya konmuştur. Tüm bu sonuçlar ışığında metallere toleransın suşa özgü bir özellik olduğu gözlenmiştir.

Biyosorpsiyon kapasitesi; *S. cerevisiae*' nin hücre yaşı, sulu çözeltilerdeki metal iyonlarının özellikleri (iyonların yarıçapları, değerlilikleri... gibi), kültür koşulları (karbon kaynağı, besin miktarı, besi yerinin kompozisyonu... gibi), biyosorpsiyon koşulları (pH, sıcaklık, temas süresi, çözeltilerdeki diğer iyonlar, metallerin ve biyokütlenin başlangıç konsantrasyonu, metal iyonlarının alınabilirliği ve mikro

beslenme... gibi) de dâhil olmak üzere çok sayıda faktörden etkilenmektedir. Birden daha çok metal iyonunun mikroorganizmalara simültane bağlanmasını ise, metal kombinasyonu, metal derişim düzeyleri, metal eklenme sırası gibi daha birçok faktör etkileyebilmektedir [Ting ve ark., 1991; Avery ve Tobin, 1992; Muter ve ark., 2002].

Yapılan çalışmalarda metal tutma işlemi metabolizmadan bağımlı ve bağımsız olarak yapılabildiği [Dostalek ve ark., 2004], metal tutma kapasitesinin ise sıcaklığa pH' a ve solüsyondaki iyonlara bağılı olarak değişiklik gösterdiği gösterilmiştir [Avery ve Tobin, 1993; Brady ve Duncan, 1994b].

Dönmez ve Aksu (1999), *S. cerevisiae*, *S. pombe*, *K. marxianus* ve *Candida* sp. suşlarının Cu(II) yi tutma kapasiteleri karşılaştırılmış ve en yüksek *K. marxianus* olduğu ve bunun da nedeni olarak ilgili mikroorganizmada metallothionein proteininin daha fazla bulunması, pH ve metal konsantrasyonu olarak açıklanmıştır.

S. cerevisiae ile Cu^{2+} , Cd^{2+} , Pb^{2+} , Zn^{2+} , Cr^{2+} ve Ni^{2+} gibi ağır metal giderimi ile ilgili çalışmalarda pH' ın etkinliği üzerinde durulmuştur (Brady ve Duncan, 1994; Engl ve Kunz, 1995; Huang ve ark., 1990; Leusch ve ark., 1995; Lu ve Wilkins, 1996) .

S. cerevisiae ile yapılan çalışma da Pb^{2+} maksimum biyosorpsiyonu için pH 5, Cd^{2+} için ise pH 6 olarak çalışılmıştır. Metal tutma kapasiteleri sırasıyla Cd^{2+} ve Pb^{2+} için 15,38 ve 15,59 mg/g olarak bulunmuştur. pH 2 de ise en düşük seviyede metal adsorpsiyonu gözlenmiştir. pH değeri düştüğünde hücre duvarında bulunan yapılar bozulmakta ve metaller ile kompleks yapılar oluşturamadığı açıklanmıştır [Sag ve Kutsal, 1996] .

İon değişiminde algal ve fungal hücre duvarındaki zayıf asidik ve karboksil grupları pH değişikliklerine hassastır. Farklı pH değerlerinde amino grupları karboksil gruplarından daha fazla metal tutma yeteneğine sahip olduğu vurgulanmaktadır [Kratochvil ve Volesky,1998].

Simon ve John (1993), *S. cerevisiae*'nin, Sr^{+2} , Mn^{+2} , Zn^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} ve Tl^{+2} metal iyonlarını adsorplama mekanizmasını incelemişlerdir. Yapılan çalışma sonucunda, mikroorganizma adı geçen tüm metal iyonlarını az da olsa bünyesine aldığı ve ortamdaki metal iyonu miktarı arttığında, adsorplanan metal iyonu daha fazla olduğu gösterilmiştir.

Garcia ve arkadaşları (2001), *S. cerevisiae* ve *C. tropicalis* mikroorganizmalarının ortamdaki Na^{+} ve K^{+} iyonlarını bünyelerine almaları ve bu iyonların mikroorganizma gelişimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Mikroorganizmanın gelişiminin, adsorplanan Na^{+} ve K^{+} oranının artmasıyla zarar gördüğü gözlenmiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmanın sonuçlarına göre *S. cerevisiae* iki suşunun farklı ağır metal konsantrasyonlarında, 24 saat sonunda mikroorganizmanın ölümüne sebep olan değerler istatistiksel olarak hesaplanmıştır. LC_{50} değerleri sonucunda *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) suşunun ağır metal konsantrasyonlarında yaşayabilme kapasiteleri yüksekten aza doğru $\text{Cu} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Co} > \text{Ag} > \text{Cd}$ (Çizelge 4.3, 4.6, 4.9, 4.12, 4.15, 4.18) şeklinde sıralanmıştır. Bu sıralanma *S. cerevisiae* 4 suşunun da $\text{Cu} > \text{Co} > \text{Ni} > \text{Zn} > \text{Ag} > \text{Cd}$ olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.21, 4.24, 4.27, 4.30, 4.33, 4.36).

Göksungur ve arkadaşlarının (2005), yapmış oldukları çalışmada mayaların biyosorpsiyon kapasitesini $\text{Pb} > \text{Cu} > \text{Cd}$ şeklinde bulmuşlardır. Aynı şekilde Ferraz ve Teixeira (1999) da kurşun için benzer sonuçları gözlemişlerdir. Mattuschka ve Straube (1993) karışık metal konsantrasyonunda ağır metal gideriminin de kurşun dan daha düşük olarak kromu tespit etmişlerdir. Nakajima ve Sakaguchi (1986) çalışmaları da kurşun ve bakır, uranyum ve civadan daha fazla adsorbe edildiğini rapor etmişlerdir.

Omar ve arkadaşlarının (1997), yapmış oldukları çalışmada metal biyosorpsiyonunu Zn, Cd, Ag, Co şeklinde ilerlediğini, *S. cerevisiae* nin metal biyosorpsiyonunda diğer mikroorganizmalardan daha iyi olduğunu açıklamışlardır.

Ferraz ve arkadaşlarının (2004), yapmış olduğu çalışmada *S. cerevisiae*'nin metal konsantrasyonuna bağlı olarak metali alma miktarı konsantrasyonla orantılı olarak arttığını bildirmişlerdir.

Metallerin alınım sürecinde birçok mikroorganizmanın metal bağlayıcı proteinler sentezledikleri rapor edilmektedir. Bu sentezin, ağır metalleri detoksifikasyon mekanizması gereği yapıldığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalar metal derişimlerinin artışına paralel olarak metal bağlayıcı proteinlerin arttığını göstermektedir. Metallerin her iki tip alınımında bu özgül, düşük moleküler ağırlıklı proteinlerin önemi büyüktür. Özellikle sisteince zengin, metal bağlayıcı özelliğe sahip düşük moleküler ağırlıklı proteinlere metalotiyoneinler (MTs) adı verilmekte ve ağır metallerin detoksifikasyonunda yer almaktadır [Presta ve Martin, 1997; Rubens ve ark., 2005].

Metalotiyonein organizmalarda geniş şekilde bulunan ağır metal bağlayabilen sisteince zengin küçük moleküler kitlelerdir. Metalotiyonein' lere bağlı haldeki çinko, kadmiyum, bakır ve civa gibi ağır metallere bağlı toksisiteyi azaltır. İntraselüler metal homeostazı sağlar, oksidatif stresten korur, apoptozisi önler. Çinko konsantrasyonu metalotiyonein indüksiyonu ile artar. Bazı metallerin örneğin bakırın hücre büyümesini belli bir derişimden sonra inhibe ettiği, buna karşın metal bağlayıcı proteinlerin (MTs) sentezini artırdığı deneysel olarak saptanmıştır. Bu ise, metal bağlayıcı proteinlerin yapısına bu gibi metallerin yapısal bileşen olarak girdiğini göstermektedir [Avery ve Tobin, 1992].

Bu çalışmada her iki maya suşunun *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) ve *S. cerevisiae* 4 ün ortamdaki metal konsantrasyonu arttığında hücre içi total protein de azalma olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.2, 4.5, 4.8, 4.11, 4.14, 4.17, 4.20, 4.23, 4.25, 4.28, 4.31, 4.34).

Jianlog ve arkadaşları (2004) yaptıkları çalışmada *S. cerevisiae*'ye farklı konsantrasyonlarda Cr ağır metali uygulamışlar ve mayanın bu stres koşulunda protein miktarını incelemişlerdir. 5 µM Cr konsantrasyonda *S. cerevisiae*'nin

kontrolden % 5 daha az protein içerdiğini, 10 μM Cr konsantrasyonda ise kontrolden % 32 oranında daha az protein içerdiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak ağır metallerin protein sentezini inhibe ettiği vurgulanmıştır [Jianlong ve ark., 2004].

Yapılan başka bir çalışmada *S. cerevisiae* ya farklı konsantrasyonlarda Pb^{2+} ağır metali uygulanmış ve bu stres koşulunda mayada protein miktarı incelenmiştir. 2 μM Pb^{2+} konsantrasyonunda *S. cerevisiae* kontrolden %5 daha az protein içerdiğini, 4 μM Pb^{2+} konsantrasyonunda ise kontrolden % 32 daha az protein olduğunu tespit edilmiştir [Chen ve ark., 2006].

Bu çalışma ile ağır metal dirençliliği test edilen ve endüstriyel olarak kullanılabilen *S. cerevisiae* 2S1 TP (3-2) ve *S. cerevisiae* 4 suşlarının belirli oranlarda ağır metallerle direncili olduğu belirlenmiştir. Çalışmada elde edilen bu sonuçların ileride yapılacak çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

Aksu, Z., “Biosorption of heavy metals by microalgae in batch and continuous systems, in wastewater treatment with algae”, *Landes Bioscience Publishers*, 483-496 (1998).

Aksu, Z., and Kutsal, T., “A comparative study for biosorption characteristics of heavy metal ions with *Chlorella vulgaris*”, *Environ. Technol.*, 11: 979-987 (1990).

Avery, S.V., and Tobin, J.M., “Mechanisms of strontium uptake by laboratory and brewing strains of *Saccharomyces cerevisiae*”, *Appl. Environ. Microbiol.*, 58:3883-9 (1992).

Aver, S.V., and Tobin, J.M., “Mechanism of Adsorption of Hard and Soft Metal Ions to *Saccharomyces cerevisiae* and Influence of Hard and Soft Anions”, *Applied And Environ. Microbiol.*, 2851-2856 (1993).

Bahadır, T., “Endüstriyel atıksulardan biyosorpsiyonla kurşun gideriminin incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Samsun, 20-28 (2005).

Beveridge, T. J., and Murray, R.G., “Uptake and retention of metals by cell walls of *Bacillus subtilis*”, *J. Bacteriol.*, 127(3): 1502-1518 (1976).

Bingol, A., Uzun, H., Bayhan, Y.K., Karagunduz, A., Cakici, A., and Keskinler, B. “Removal of chromate anions from aqueous stream by a cationic surfactant-modified yeast”, *Bioresour Technol.*, 94:245-9 (2004).

Bishop, P.L., “Pollution prevention: fundamentals and practice”, *Tsinghua University Press Beijing*, (2002).

Brady, D., and Duncan, J.R., “Binding of heavy metals by the cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*”, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 16:633-8 (1994a).

Brady, D., and Duncan, J.R., “Bioaccumulation of metal-cations by *Saccharomyces cerevisiae*”, *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 41: 149-54 (1994b).

Brady, D., Stoll, A., and Duncan, J.R., “Biosorption of heavy metal cations by nonviable yeast biomass”, *Environ. Technol.*, 15: 429-38 (1994f).

Brady, D., Stoll, A., Starke, L., and Duncan, J.R., “Chemical and enzymatic extraction of heavy-metal binding polymers from isolated cell-walls of *Saccharomyces cerevisiae*”, *Biotechnol. Bioeng*, 44: 297-302 (1994g).

Brady, J.M., and Tobin, J.M., “Binding of hard and soft metal ions to *Rhizopus arrhizus* biomass”, *Enzyme Microbiol. Technol.*, 17:791-6 (1995).

Chojnacka, K., Chojnacki, A., and Gorecka, H., "The influence of growth parameters of microalgae *Spirulina* sp on biosorption capacity of cells", *Inz. Chem. Proces.*, 25:789-94 (2004).

Chiu, Y.S., and Zajic, J.E., "Recovery of heavy metals by microbes, Developments in industrial Microbiology", *American Inst. Of Biolog. Sci.*, 13:91 (1972).

Costa, A.C.A., "Metal biosorption by sodium alginate immobilized *Chlorella homosphaera*", *Biotechnol. Lett.*, 13:8, 559-562 (1991).

Das, S.K., Kedari, C.S., Shinde, S.S., Ghosh, S., and Jambunathan, S., "Performance of immobilized *Saccharomyces cerevisiae* in the removal of long lived radionuclides from aqueous nitrate solutions", *J. Radioanal Nucl. Chem.*, 253:235-40 (2002).

Darnall, D.W., Benjamin G., Michael T., Henzl, J., and Alexander, M.D., "Selective Recovery of Gold and Other Metal Ions from an Algal Biomass", *Environ. Sci. Technol.*, 20:206-208 (1986)

Davis, T.A., Volesky, B., and Mucci, A., "A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae", *Water Res.*, 37:4311-30 (2003).

Dostalek, P., Patzaka, P., and Matejkab, P., "Influence of specific growth limitation on biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*", *Int. Biodeterior Biodegrad*, 54:203-7 (2004).

D.S.İ. Genel Müdürlüğü, Araştırma ve Geliştirme Dairesi Başkanlığı "Metal kaplama sanayi atıksuları" *D.S.İ Kİ-703, Ankara* , (1980).

Dönmez, G., and Aksu, Z., "The effect of copper(II) ions on the growth and bioaccumulation properties of some yeast", *Process Biochemistry*, 35 : 135-143 (1999).

Eide, D., "Molecular biology of iron and zinc uptake in eukaryotes", *Curr. Opin. Cell Biol.*, 9:573-7 (1997).

Eide, D.J., "The molecular biology of metal ion transport in *Saccharomyces cerevisiae*", *Annu Rev. Nutr.*, 18:441-69 (1998).

Elmacı, A., Yonar, T., Özengin, E., and Türkoğlu, H., "Zn(II), Cd(II), Co(II) ve Remazol Turkish Blue-G Boyar Maddesinin Sulu Çözeltilerinde Kurutulmuş *Chara* sp., *Cladophora* sp. ve *Chlorella* sp", *Ekoloji*, 24-31 (2005).

Engl, A., and Kunz, B., "Biosorption of heavy-metals by *Saccharomyces cerevisiae*: effects of nutrient conditions", *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, 63:257-61 (1995).

Esposito, A., Pagnanelli, F., and Veglio, F., "pH-related equilibria models for biosorption in single metal systems", *Chem. Eng. Sci.*, 57:307-13 (2002).

Ewan, K.B., and Pamphlett, R., "Increased inorganic mercury in spinal motor neurons following chelating agents", *Department of Pathology*, 17:343-349 (1996).

Ferraz, A.I., Tavares, T., and Teixeira, J.A., "Cr(III) removal and recovery from *Saccharomyces cerevisiae*", *Chem. Eng. J.*, 105:11-20 (2004).

Ferraz, A.I., and Teixeira, J.A., "The use of flocculating brewer's yeast for Cr (III) and Pb(III) removal from residual wastewaters", *Bioprocess Eng.*, 21:431-7 (1999).

Garcia, C.J., Cervantes. C., Devars. S.,Guzman. T.C.J., and Tavera. L., "Interactions of chromium with microorganisms and plants", *FEMS Micro. Reviews*, 25:335-347 (2001).

Gavrilescu, M., "Removal of heavy metals from environment by biosorption", *Eng.Life Sci.*, 3 : 219-232 (2004).

Goksungur, Y., Uren, S., and Guvenc, U., "Biosorption of cadmium and lead ions by ethanol treated waste baker's yeast biomass", *Bioresour Technol.*, 96:103-9 (2005).

Gomes, N.C.M, Rosa, C.A, Pimentel P.F, "Uptake of free and complexed silver ions by different strains of *Rhodotorula mucilaginosa*", *Braz. J. Microbiol*, 33:62-6 (2002).

Goyal, N., Jain, S.C., and Banerjee, U.C., "Comparative studies on the microbial adsorption of heavy metals", *Adv. Environ. Res.*, 7:311-9 (2003).

Harward, D.O., Trapnel, B. M. W., "Chemisorption, Butter Worths", *2nd Edition*, USA, 60-260 (1967).

Jianlong, W., Zeyu, M., and Xuana, Z., "Response of *Saccharomyces cerevisiae* to chromium stres", *Process Biochemistry*, 39 :1231–1235 (2004).

Jones, R.P., and Gadd, G.M., "Ionic nutrition of yeast-physiological mechanisms involved and implications for biotechnology", *Enzyme Microb. Technol.*, 12:402-18 (1990).

Kapoor, A., and Viraraghavan, T., "Fungi biosorption an alternative treatment option for heavy metal bearing wastewaters", *Bioresour Technol.*, 53:195-206 (1995).

Khummongkol, D., Canterford, G. S., and Fryer, C., "Accumulation of heavy metals in unicellular algae", *Biotech. and Bioeng.*, 24: 2643-2660 (1982).

Klis, F. M, Boorsma, A., and Groor, P.W.J., "Cell wall construction in *Saccharomyces cerevisiae*" *Wiley Inter. Science*, 23:185-202 (2006).

Kratochvil, D., Pimentel, P., and Volesky, B., "Removal of trivalent and hexavalent chromium by seaweed biosorbent", *Environ. Sci. Technol.*, 32:2693-8 (1998).

Kratochvil, D., and Volesky, B., "Advances in the biosorption of heavy metals" *Tibtech. July*, 16 (1998).

Kuroda, K., Ueda, M., Shibasaki, S., Tanaka A., "Cell surface-engineered yeast with ability to bind, and self-aggregate in response to copper ion", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 59:259-64 (2002).

Kutsal, T., and Sağ, Y., "Biosorption of heavy metals by *Zoogloea ramigera*: Use of adsorption isotherms and a comparison of biosorption characteristics" *The Chemical Engin. Jour. and the Biochem. Engin. Jour.*, 60:181-188 (1993).

Kutsal, T., and Sağ, Y., "Fully competitive biosorption of chromium(VI) and iron(III) ions from binary metal mixtures by *R. arrhizus*: Use of the competitive Langmuir model" *Process Biochem.*, 31:573-585 (1996).

Kutsal, T., Aksu, Z., Sağ, Y., "Endüstriyel atık sulardaki ağır metal karışımlarının çeşitli mikroorganizma türlerine adsorpsiyon yöntemi ile arıtımı", *Tübitak*, 10-12 (1996).

Lín, E., and Vazquez, C., "Tolerance and uptake of heavy metals by *Trichoderma atroviride* isolated from sludge", *Chemosphere*, 50:137-43 (2003).

Lin, Z.Y., Wu, J.M., Xue, R., and Yang Y., "Spectroscopic characterization of Au³⁺ biosorption by waste biomass of *Saccharomyces cerevisiae*", *Spectrochim Acta. Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, 61:761-5 (2005).

Liu, Y., Lam, M.C., and Fang, H.H.P., "Adsorption of heavy metals by EPS of activated sludge", *Water Sci. Technol.*, 43:59-66 (2001).

Lovley, D.R., and Coatest, J.D., "Bioremediation of metal contamination", *Curr. Opin. Biotechnol.*, 8:285-9 (1997).

Madrid, Y., and Camara, C., "Biological substrates for metal preconcentration and speciation", *Trends Anal Chem.*, 16:36-44 (1997).

Malik, A., "Metal bioremediation through growing cells", *Environ. Inter.*, 30: 261-278 (2004).

Marques, P., Rosa, M.F., and Pinheiro, H.M., "pH effects on the removal of Cu⁺, Cd⁺ and Pb⁺ from aqueous solution by waste brewery biomass", *Bioprocess Eng.*, 23:135-41 (2000).

Mattuschka, B.; Straube, G., “Biosorption of metals by a waste biomass”, *Jour. of Chemical Tech. and Biotech.*, 58:57-63 (1993).

Muter, O., Lubinya, I., Millers, D., Grigorjeva, L., Ventinya, E., Rapoport, A., “Cr(VI) sorption by intact and dehydrated *Candida utilis* cells in the presence of other metals”, *Process Biochemistry*, 38 : 123-131 (2002).

Nakajima, A., and Sakaguchi, T., “Selective accumulation of heavy metals by microorganisms” *Chemistry and Materials Science.*, 24:59-64 (1986).

Oguz, M., “Fizikokimyasal arıtım”, *TMMOB Kimya Mühendisleri Odası*, 13: 202, (1986).

Omar, B. N., Merroun, L.M., Penalver, I.M.A., and Munoz, T.G., “Comparative heavy metal biosorption study of Brewery yeast and myxococcus *xanthus* biomass”, *Received in Gemmy.*, 1-9 (1997).

Özer, A., and Özer, D., “Comparative study of the biosorption of Pb(II), Ni(II) and Cr(VI) ions onto *S. cerevisiae* determination of biosorption heats”, *J. Hazard Mater. B.*, 100:219-29 (2003).

Park, JK, Lee, JW, and Jung, J.Y., “Cadmium uptake capacity of two strains of *Saccharomyces cerevisiae* cells”, *Enzyme Microb. Technol.*, 33:371-8 (2003).

Perego, P., Howell S.B., “Molecular mechanisms controlling sensitivity to toxic metal ions in yeast”, *Toxicol Appl. Pharmacol.*, 147:312-8 (1997).

Presta, A., and Martin, J., “Incorporation of Copper into the Yeast *Saccharomyces cerevisiae* Identification of Cu(I)-Metallothionein in Intact Yeast Cells”, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 66: 231-240 (1997).

Ramsay, L.M., and Gadd, G.M., “Mutants of *Saccharomyces cerevisiae* defective in vacuolar function confirm a role for the vacuole in toxic metal ion detoxification”, *Microbiol Lett.*, 152(2): 293-8 (1997).

Rubens, T., Rozieta, M.H., Honda, B.B., and Adalberto, L. “One-step purification of metallothionein extracted from two different sources”, *Journal of Chromatography*, 820: 205–210 (2005).

Sağlam, N., ve Cihangir, N., “Ağır Metallerin Biyolojik Süreçlerle Biyosorbisyonu Çalışmaları”, *Hacet. Üniv. Eğü. Fak. Derg.*, 11: 157-161 (1995).

Saltabaş, Ö., “Ağır metallerin cansız biyokütle ile uzaklaştırılmasına etki eden Faktörler”, Doktora Tezi, *Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul 137-140 (1998).

Schott, E.J., and Gardner, R.C., "Aluminum-sensitive mutants of *Saccharomyces*", *Mol. Gen. Genet.*, 254: 63-72 (1997).

Senthilkumaar, S., Bharathi, S., Nithyanandhi, D., and Subburam, V., "Biosorption of toxic heavy metals from aqueous solutions", *Bioresource Technology*, 75 : 163-165 (2000).

Seventekin N., ve Özdoğan E., "Ekotekstiller Açısından Toksik Ağırmetaller" *Tekstil ve Konfeksiyon*, 1:20-26 (1998).

Seventekin N., "İnsan Ekolojisi" *Eko Tekstiller Eki* Mayıs:11-17 (1995).

Simmons, P., and Singleton I., "A method to increase silver biosorption by an industrial strain of *Saccharomyces cerevisiae*", *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 45:278-85 (1996).

Simon, V., and John, M., "Mechanism of Adsorption of Hard and Soft Metal Ions to *Saccharomyces cerevisiae* and Influence of Hard and Soft Anions", *Appl. And Environ. Microbio.*, 2851-2856 (1993).

Stoll, A., and Duncan, J.R., "Enhanced heavy metal removal from waste water by viable, glucose pretreated *Saccharomyces cerevisiae* cells", *Biotechnol Lett.*, 18:1209-12 (1996).

Suh, J.H., and Kim, D.S., "Effects of Hg^{2+} and cell conditions on Pb^{2+} accumulation by *Saccharomyces cerevisiae*", *Bioprocess Eng.*, 23:327-9 (2000).

Suh, J.H., Yun, J.W., and Kim, D.S., "Comparison of Pb^{2+} accumulation characteristics between live and dead cells of *Saccharomyces cerevisiae* and *Aureobasidium pullulans*", *Biotechnol Lett.*, 20:247-51 (1998b).

Suh, J.H., Yun, J.W., and Kim, D.S., "Effect of extracellular polymeric substances (EPS) on Pb^{2+} accumulation by *Aureobasidium pullulans*", *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 21:1-4 (1999b).

Shumate, S. E., Standberg, G. W., McWhirter, D. A., Parrott, J. R., Bagacki, G. M., Locke, B. R., "Separation of heavy metals from aqueous solutions using biosorbents development of contacting devices for uranium removal", *Biotech. and Bioeng. Symp.*, 10:27-34 (1980).

Tezuka. T., and Yamamoto. Y., "Control of ion absorption by phytochrome" *Biomedical and Life Sciences*, 122:239-244 (1975).

Thomas. A.D., Volesky. B., and Mucci. A., "A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae" *Water Research*, 37:4311-4330 (2003).

Ting, Y.P., Lawson, F., and Prince, I.G., "Uptake of Cadmium and Zinc by the Alga *Chlorella vulgaris*: II. multi-ion situation", *Biotech. and Bioeng.*, 37, 445-55 (1991).

Tsezos, M., and Volesky, B., "Biosorption of uranium and thorium", *Biotech. and Bioeng.*, 23: 583-604 (1981).

Uslu, O., ve Türkman, A., " Su kirliliği ve kontrolü", *T.C. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları Eğitim Dizisi I*, Ankara, 1-8 (1987).

Vasudevan, P., Padmavathy, V., and Dhingra, S.C., "Biosorption of monovalent and divalent ions on baker's yeast" *Bioresour. Technol.*, 82:285-9 (2002).

Veglio, F., Beolchini, F., "Removal of metals by biosorption: a review", *Hydrometallurgy*, 44: 301-16 (1997).

Vianna, L.N.L., Andrade, M.C., and Nicoli, J.R., "Screening of waste biomass from *Saccharomyces cerevisiae*, *Aspergillus oryzae* and *Bacillus lentus* fermentations for removal of Cu, Zn and Cd by biosorption", *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 16:437-40 (2000).

Vijver, M.G, Gestel, C.A.M.V, Lanno, R.P, Van, N.M., and Peijnenburg, W.M., "Internal metal sequestration and its ecotoxicological relevance: a review", *Environ. Sci. Technol.*, 38:4705-12 (2004).

Volesky, B. "Biosorption and biosorbents", *Biosorption of Heavy Metals*, CRC, Florida, 3-5 (1990a).

Volesky, B., "Biosorption by fungal biomass. In: Volesky B, editor. *Biosorption of heavy metals*", CRC press, Florida, 140-71 (1990b).

Volesky, B., " Detoksifikasi of metal-bearing effluents: biosorption for the next century", *Hydrometallurgy*, 59 : 203-216 (2001).

Wang, J., and Chen, C., "Biosorption of heavy metals by *Saccharomyces cerevisiae*: A review", *Biotechnology Advances.*, 302-310 (2006).

Wang, B.J., and Yang, H.F., "Interaction of microorganisms with heavy metals", *Chongqing Environ. Sci.*, 18:35-9 (1996).

Wang, J.L., "Immobilization techniques for biocatalysts and water pollution control. Beijing", *Science. Press.*, 43-51 (2002).

Walker, G. M., "Yeast physiology and biotechnology" *Wiley and Sons*, 1-17 (2000).

Wehrheim, B., and Wettren, M., "Biosorption of cadmium, copper and lead by isolated mother cell walls and whole cells of *Chlorella fusca*" *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 725-728 (1994).

White, C., and Gadd, G.M., “Determination of metals and metal fluxes in algae and fungi”, *Sci. Total Environ.*, 176:107-15 (1995).

Wilde, E. W., and Benemann, J., “Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae”, *Biotech. Adv.*, 11: 781-812 (1993).

Yalçuk, A., “Sürekli karıştırmalı reaktörlerde *Rhizopus arrhizus* ile çoklu metal karışımlarında yarışmalı biyosorpsiyonun incelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 167 (1999).

Yılmaz, P., “Sulu ortamdan mikroorganizmalarla ağır metal giderimi”, Yüksek Lisans Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara 5-10, 15-25 (2006).

Zhao, M., and Duncan J.R., “Column sorption of Cr(VI) from electroplating effluent using formaldehyde cross-linked *Saccharomyces cerevisiae*” *Biotechnol. Lett.*, 20:603-6 (1998).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ÖCAL, Emrah
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 10.08.1982 Yozgat
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0 (533) 379 39 85
e-mail : emrahocal@gmail.com

Eğitim Derece

Lisans
Lise

Eğitim Birimi

Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü
Atatürk Lisesi

Mezuniyet tarihi

2005
2000

İş Deneyimi Yıl

2007

Yer

Montwell Ltd. Şti

Görev

Application Manager

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Bilgisayar teknolojileri, Yüzme, Masa tenisi