

***RHIZOPUS DELEMAR* İLE AĞIR METAL BİYOBİRİKİMİNİN VE AĞIR
METAL İYONLARININ ENZİMATİK FAALİYETLER ÜZERİNE
İTERAKTİF ETKİLEŞİMLERİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF HEAVY METAL BIOACCUMULATION BY
RHIZOPUS DELEMAR AND INTERACTIVE INTERACTIONS OF
HEAVY METAL IONS ON ENZYMATIC ACTIVITIES**

OĞULCAN AHMET EVİRGEN

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin

Biyomühendislik Anabilim Dalı için Öngördüğü

DOKTORA TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır.

2011

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI'nda**
DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Prof. Dr. Tülin Kutsal

Üye (Danışman)

Prof. Dr. Yeşim Sağ Açıkel

Üye:

Prof. Dr. Ülkü Mehmetoğlu

Üye:

Prof. Dr. Süleyman Ali Tuncel

Üye:

Doç. Dr. Hülya Yavuz Ersan

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından 30 / 06 / 2011 tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nca / / tarihinde kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Adil Denizli
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Canım Babam Prof. Dr. Muzaffer Mustafa Evirgen'e

***Rhizopus delemar* ile Ağır Metal Biyobirikiminin ve Ağır Metal İyonlarının Enzimatik Faaliyetler Üzerine İnteraktif Etkileşimlerinin İncelenmesi**

Oğulcan Ahmet Evirgen

ÖZ

Rhizopus delemar mikroorganizması kullanılarak ağır metal biyobirikimi ve ağır metal iyonlarının, mikroorganizma tarafından üretilen, lipaz enzimi aktivitesine olan etkilerinin incelendiği bu tez çalışmasında üç farklı ağır metal iyonu ile çalışılmıştır. Bu iyonlar Cd(II), Cu(II) ve Zn(II)'dir. Çalışmalar iki ana bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde, tek bir zaman periyodunda, tek bir parametre (pH, sıcaklık ve başlangıç metal iyonu konsantrasyonu) değiştirilerek, lipaz enzimi aktivitesi, metal biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun değişimi, kesikli karıştırmalı kaplarda incelenmiştir. Başlangıç metal iyonu konsantrasyonu 5-200 mg/L arasında değiştirilirken, ortam pH'si 5.0 ve 8.0, sıcaklığı ise 24 ve 35 °C değerlerinde sabit tutulmuştur. Bu deneylerde en yüksek lipaz enzimi aktivitesi ve metal biyobirikimi, pH 5.0 ve 35 °C'da, başlangıç metal iyonu konsantrasyonunun, 30 mg/L olduğu durumda elde edilmiştir. Çalışmaların ikinci kısmında ise fermentasyon ortamı koşullarının optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Optimum değerlerin belirlenmesi çalışmaları, yüzey-cevap istatistiksel yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde kullanılan merkezi bileşke tasarımı ile *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi, ağır metal biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonu için optimum pH, sıcaklık ve başlangıç metal iyonu konsantrasyonu değerleri elde edilmiştir. Son olarak ise belirlenen optimum pH, sıcaklık ve başlangıç metal iyonu konsantrasyonu noktalarının sağlama çalışmaları yapılmıştır. Buna göre yüzey-cevap yöntemi ile belirlenen ve optimum deneysel koşullarda ölçülen lipaz enzimi aktivitesi, ağır metal biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonu değerleri, modeller tarafından öngörülen değerleri % 0.7 hata payı ile doğrulamaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Rhizopus delemar*, lipaz enzimi, ağır metal iyonları, kadmiyum, bakır, çinko, atıksu

Danışman: Prof. Dr. Yeşim Sağ Açıkkel - Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Investigation of Heavy Metal Bioaccumulation by *Rhizopus delemar* and Interactive Interactions of Heavy Metal Ions on Enzymatic Activities

Ogulcan Ahmet Evirgen

ABSTRACT

Three different heavy metals were examined in this study in which the investigation of heavy metal bioaccumulation and the effects of heavy metal ions on lipase activity by using *Rhizopus delemar* microorganism. These ions are Cd(II), Cu(II) and Zn(II). The studies consist of two main sections. In the first part, varying only one parameter (pH, temperature and initial metal ion concentration) at one time period, the change of lipase enzyme activity, metal bioaccumulation and microorganism concentration was investigated in batch stirred reactors. While the initial metal ion concentration was changed between 5 and 200 mg/L, medium pH and temperature were held constant at 5.0 and 8.0, 24 and 35 °C, respectively. In these experiments, the maximum enzyme activity and metal bioaccumulation were obtained at pH 5.0, 35 °C in medium containing 30 mg/L initial metal ion concentration. In the second part of the thesis, the optimization studies of fermentation medium conditions were performed. Surface-response statistical modelling was used in the optimization studies. Using the central-composite design method, the optimum pH, temperature and initial metal ion concentration values for the lipase enzyme activity, metal bioaccumulation and concentration of *R. delemar* were obtained. Finally, the verification studies of the optimal points for pH, temperature and initial metal ion concentration were realized. The values of lipase enzyme activities, heavy metal bioaccumulation and microorganism concentrations measured at the optimum experimental conditions predicted by surface-response method were verified the theoretical values within a 0.7 % error margin.

Keywords: *Rhizopus delemar*, lipase enzyme, heavy metal ions, cadmium, copper, zinc, waste water

Advisor: Prof. Yesim Sag Acikel - Hacettepe University, Institute of Science, Bioengineering Division

TEŞEKKÜR

Doktora tez dönemi boyunca çalışmaların başlaması, şekillenmesi, ilerlemesi, yönlenmesi, sıkıntılı anlarda çözüme ulaşması ve en nihayetinde sonuçlanması gibi tez için hayati anlam içeren konu ve parçalarda bilgi ve birikimlerini fazlasıyla sunan ve beni sürekli olarak tatlı-sert şekilde çalışmalarını ilerletmeye, ara raporlar yazmaya zorlayan ve bu şekilde elde edilmiş verileri birikmeden yorumlamaya sevkeden, kısacası bu tez çalışmasının gerçekleşmesinde yapıcı yaklaşımlarıyla ve müthiş sabırla durmaksızın bir iletişim kuran, çok kıymetli bilim insanı, tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Yeşim Sağ Açıkl'e,

Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik Anabilim Dalı'nın son derece kararlı ve vakur ama bir o kadar da sevecen ve anlayışlı başkanı, müthiş insan, Biyomühendislik Anabilim Dalı'ndaki araştırma görevliliğim döneminde müspet yaklaşımlarını daima hissettiğim, kimya mühendisliği ve biyomühendislik alanlarında yetişmiş pek çok insanın hocası, Sn. Prof. Dr. Tülin Kutsal'a,

Bütün tez izleme komiteleri süreçlerinde, gerek moral takviyesini yansıttığı insani destekleri, gerekse de çalışılan konu hakkındaki bilimsel yaklaşımlarıyla çalışma konusunun şekillenmesini ve ilerlemesini sağlayan, değerli bilim insanı Sn. Prof. Dr. Ülkü Mehmetoğlu'na,

Yüksek lisans döneminde kendisiyle çalışma imkanı ne yazık ki bulamamış olmamıza rağmen, doktora çalışmamda tekrar karşılaştığımız, güleryüzlü hocam, değerli bilim insanı Sn. Doç. Dr. Hülya Yavuz Ersan'a,

Çalışmalarımdaki çok sayıdaki ağır metal ölçümlerini Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği'ndeki merkez laboratuvarında sabırla gerçekleştiren yüksek kimya mühendisi Sn. Duygu Gülay'a,

Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik Anabilim Dalı çatısı altında bulunmuş olan ve halen bulunmaya devam eden tüm arkadaşlarıma,

Hoca-öğrenci hiyerarşisi ile başladığımız ve üniversite-sanayi girişimine kadar geliştirdiğimiz ilişkiyi bundan sonra çok daha ileri boyutlara kadar ilerleteceğimiz hedefteki başkumandan, Sn. Prof. Dr. Süleyman Ali Tuncel'e,

Tüm Hacettepelilik yaşantım boyunca koşulsuz desteğini her daim içtenlikle sunan ve bütün Hacettepeliler için büyük bir şans olan Hacettepe Üniversitesi Rektör Yardımcısı Sn. Prof. Dr. Hasan Bayhan'a,

ve tabii ki

fedakarlık abidesi Canım Anneciğim Nihal Evirgen

ile

vefakarlık kalesi Canım Kardeşim Gencay Kemal Evirgen'e

her şey için kalpten teşekkür ederim...

Oğulcan Ahmet Evirgen

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZ	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xxviii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Taksonomi	4
2.1.1. Hücre yapılarına göre canlıların sınıflandırması	4
2.1.1.1. Prokaryotlar (İlkeller)	4
2.1.1.2. Ökaryotlar (Gelişmişler).....	4
2.1.2. Besin elde etme yöntemlerine göre canlıların sınıflandırması	6
2.1.2.1. Ototroflar	6
2.1.2.2. Heteretroflar	6
2.1.3. Oksijen ihtiyacına göre canlıların sınıflandırılması	7
2.1.4. Yaşayabildikleri sıcaklıklara göre canlıların sınıflandırılması	7
2.2. Mikroorganizmalar.....	7
2.2.1. Mikroorganizma üremesine etki eden etkenler	8
2.2.2. Mikroorganizmaların yaşam evreleri.....	9
2.2.2.1. Gecikme evresi.....	9
2.2.2.2. Logaritmik evre.....	9
2.2.2.3. Duraklama evresi	10
2.2.2.4. Sabit evre	10
2.2.2.5. Ölüm evresi	10
2.3. Mantarlar	11
2.3.1. Küf mantarları.....	11

2.3.2. <i>Rhizopus</i> mantarları	12
2.3.2.1. <i>Rhizopus delemar</i>	13
2.4. Atıksulardan Ağır Metal Giderimi Yöntemleri	15
2.4.1. Hiperfiltrasyon (ters ozmoz)	15
2.4.2. Ultrafiltrasyon	15
2.4.3. Elektrodializ	16
2.4.4. İyon değişimi	16
2.4.5. Kimyasal çöktürme	16
2.4.6. Fitoremediasyon.....	17
2.4.7. Adsorpsiyon.....	17
2.4.8. Biyosorpsiyon.....	18
2.5. Adsorpsiyon.....	18
2.5.1. Adsorpsiyon fazları	19
2.5.2. Adsorpsiyon mekanizmaları	19
2.5.2.1. Fiziksel adsorpsiyon	20
2.5.2.2. Kimyasal adsorpsiyon	20
2.5.2.3. İyonik adsorpsiyon.....	21
2.5.3. Adsorpsiyona etki eden etkenler	21
2.5.3.1. Ortamın pH seviyesi	21
2.5.3.2. Ortamın sıcaklığı	22
2.5.3.3. Çözünen maddenin özellikleri	22
2.5.3.4. Diğer çözünenlerin etkisi	22
2.5.3.5. Adsorbent özellikleri	22
2.5.4. Adsorpsiyon dengesi ve izotermi	23
2.6. Biyosorpsiyon.....	23
2.6.1. Biyosorpsiyon mekanizmaları.....	25
2.6.2. Ağır metal iyonlarının biyosorpsiyonu ve mikroorganizmaların biyosorpsiyonda kullanılması üzerine yapılmış çalışmalara bakış	27
2.7. Biyobirikim.....	30

2.7.1. Ağır metal iyonlarının biyobirikimi ve mikroorganizmaların biyobirikimde kullanılması üzerine yapılmış çalışmalara bakış	34
2.8. Enzim	36
2.8.1. Enzimlerin kimyasal yapısı	40
2.8.1.1. Apoenzim	41
2.8.1.2. Koenzim	41
2.8.1.3. Kofaktör	42
2.8.2. Enzim aktivitesini etkileyen etkenler	43
2.8.2.1. Sıcaklık.....	43
2.8.2.2. pH.....	43
2.8.2.3. Kofaktörlerin etkisi	44
2.8.2.4. Yüklü substratların iyonik şiddeti	44
2.8.2.5. Substrat konsantrasyonunun etkisi.....	45
2.8.2.6. Enzim konsantrasyonunun etkisi	45
2.8.3. Bitki ve hayvan kaynaklı enzim üretimi	45
2.8.4. Mikroorganizma kaynaklı enzim üretimi ve kullanımı	46
2.8.5. Lipaz enzimi	48
2.8.6. Hidroliz tepkimeleri	49
3. DENEY YÖNTEMLERİ.....	52
3.1. <i>Rhizopus delemar</i> Küf Mantarının Temini ve Üretilmesi	53
3.2. Besin Ortamları	54
3.3. Deney Sistemleri	56
3.4. Analiz Yöntemleri.....	57
3.4.1. Lipaz enzimi aktivitesi tayini	58
3.4.2. Biyobiriktirilen ağır metal tayini.....	60
3.4.3. Mikroorganizma konsantrasyonu ölçümü	60
4. ÇALIŞMA VE BULGULAR.....	62
4.1. Aşı Miktarının Belirlenmesi	62
4.2. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Gerçekleştirilen Deneylerdeki Parametrelerinin Oluşturulması	64

4.3. Ağır Metal İyonu İçermeyen Ortamlarda Lipaz Fermentasyonunun Kesikli Karıştırmalı Kaplarda İncelenmesi	66
4.3.1. Lipaz enzimi aktivitesi.....	66
4.3.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığı (24 °C)	66
4.3.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığı (24 °C)	68
4.3.1.3. pH 5 ve 35 °C	69
4.3.1.4. pH 8 ve 35 °C	70
4.3.2. Mikroorganizma konsantrasyonu.....	72
4.3.2.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)	72
4.3.2.2. pH 8 ve oda sıcaklığı (24 °C)	73
4.3.2.3. pH 5 ve 35 °C	74
4.3.2.4. pH 8 ve 35 °C	76
4.4. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Cd(II) Biyobirikiminin İncelenmesi	77
4.4.1. Cd(II) ağır metal biyobirikimi.....	78
4.4.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	78
4.4.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	80
4.5. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Cu(II) Biyobirikiminin ve Lipaz Enzimi Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	82
4.5.1. Lipaz enzimi aktivitesi.....	83
4.5.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	83
4.5.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığı (24 °C)	84
4.5.1.3. pH 5 ve 35 °C	86
4.5.1.4. pH 8 ve 35 °C	88
4.5.2. Mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	90
4.5.2.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	91
4.5.2.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	92
4.5.2.3. pH 5 ve 35 °C.....	94
4.5.2.4. pH 8 ve 35 °C.....	95
4.5.3. Cu(II) Ağır Metal Biyobirikimi	97

4.5.3.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	97
4.5.3.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	98
4.5.3.3. pH 5 ve 35 °C.....	100
4.5.3.4. pH 8 ve 35 °C.....	102
4.5.4. Mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değışimi	104
4.5.4.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	104
4.5.4.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	106
4.5.4.3. pH 5 ve 35 °C.....	107
4.5.4.4. pH 8 ve 35 °C.....	108
4.5.5. Mikroorganizma konsantrasyonu.....	110
4.5.5.1. pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C).....	110
4.5.5.2. pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C).....	112
4.5.5.3. pH 5 ve 35 °C.....	114
4.5.5.4. pH 8 ve 35 °C.....	116
4.5.6. Üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun ilişkisi.....	118
4.5.6.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	118
4.5.6.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	120
4.5.6.3. pH 5 ve 35 °C.....	122
4.5.6.4. pH 8 ve 35 °C.....	123
4.5.7. Mikroorganizma konsantrasyonu ile biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun ilişkisi.....	125
4.5.7.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	125
4.5.7.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	126
4.5.7.3. pH 5 ve 35 °C.....	128
4.5.7.4. pH 8 ve 35 °C.....	130
4.6. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Zn(II) Biyobirikiminin ve Lipaz Enzimi Üzerine Etkisinin İncelenmesi.....	131
4.6.1. Lipaz enzimi aktivitesi.....	132

4.6.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	132
4.6.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	133
4.6.1.3. pH 5 ve 35 °C.....	135
4.6.1.4. pH 8 ve 35 °C.....	137
4.6.2. Mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	139
4.6.2.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	140
4.6.2.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	141
4.6.2.3. pH 5 ve 35 °C.....	143
4.6.2.4. pH 8 ve 35 °C.....	144
4.6.3. Zn(II) ağır metal biyobirikimi	146
4.6.3.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	146
4.6.3.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	147
4.6.3.3. pH 5 ve 35 °C.....	149
4.6.3.4. pH 8 ve 35 °C.....	151
4.6.4. Mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi.....	153
4.6.4.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	153
4.6.4.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	155
4.6.4.3. pH 5 ve 35 °C.....	157
4.6.4.4. pH 8 ve 35 °C.....	158
4.6.5. Mikroorganizma Konsantrasyonu.....	160
4.6.5.1. pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C).....	160
4.6.5.2. pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C).....	161
4.6.5.3. pH 5 ve 35 °C.....	163
4.6.5.4. pH 8 ve 35 °C.....	165
4.6.6. Üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun ilişkisi.....	167
4.6.6.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	167

4.6.6.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	169
4.6.6.3. pH 5 ve 35 °C	171
4.6.6.4. pH 8 ve 35 °C	172
4.6.7. Mikroorganizma konsantrasyonu ile biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun ilişkisi.....	174
4.6.7.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	174
4.6.7.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C).....	175
4.6.7.3. pH 5 ve 35 °C	177
4.6.7.4. pH 8 ve 35 °C	178
4.7. Yüzey-Cevap Modellemesi Parametrelerinin Oluşturulması ve Değerlendirilmesi	180
4.8. Ağır Metal İyonu İçermeyen Ortamlarda Gerçekleştirilen Yüzey-Cevap Modellemesi ile Optimizasyon.....	182
4.8.1. Lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu.....	185
4.8.2. <i>R. delemar</i> konsantrasyonunun optimizasyonu.....	188
4.9. Cu(II) İçeren Ortamlarda Gerçekleştirilen Yüzey-Cevap Modellemesi ile Optimizasyon	192
4.9.1. Lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu.....	196
4.9.2. Biyobiriktirilen Cu(II) iyonu konsantrasyonu optimizasyonu.....	201
4.9.3. <i>R. delemar</i> konsantrasyonunun optimizasyonu.....	205
4.10. Zn(II) İçeren Ortamlarda Gerçekleştirilen Yüzey-Cevap Modellemesi ile Optimizasyon	210
4.10.1. Lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu.....	214
4.10.2. Biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu optimizasyonu.....	219
4.10.3. <i>R. delemar</i> konsantrasyonunun optimizasyonu.....	224
4.11. Optimum Değerlerin Sınama Çalışmaları	229
4.11.1. Ağır metal içermeyen ortamlar.....	229
4.11.2. Cu(II) iyonu içeren ortamlar	231
4.11.3. Zn(II) iyonu içeren ortamlar.....	235
5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	239
6. KAYNAKLAR	247

7. EKLER	257
7.1. Besin Ortamlarının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasalların Marka ve Menşeleri.....	257
7.2. Ağır Metal İyonu İçeren Ortamlardaki Ağır Metal İyonlarının Elde Edildiği Kimyasalların Marka ve Menşeleri	258
7.3. Lipaz enzimi aktivitesi tayininde kullanılan kimyasallar	258
7.4. Ağır Metal İyonu İçermeyen Ortamların Yüzey-Cevap Modellemesine Göre Optimizasyon Sonuçları	259
7.4.1. Lipaz enzimi aktivitesi.....	259
7.4.2. <i>R. delemar</i> konsantrasyonu	262
7.5. Cu(II) İyonu İçeren Ortamların Yüzey-Cevap Modellemesine Göre Optimizasyon Sonuçları.....	265
7.5.1. Lipaz enzimi aktivitesi.....	265
7.5.2. Cu(II) iyonu biyobirikimi	268
7.5.3. <i>R. delemar</i> konsantrasyonu	271
7.6. Zn(II) İyonu İçeren Ortamların Yüzey-Cevap Modellemesine Göre Optimizasyon Sonuçları.....	274
7.6.1. Lipaz enzimi aktivitesi.....	274
7.6.2. Zn(II) iyonu biyobirikimi	277
7.6.3. <i>R. delemar</i> konsantrasyonu	280
ÖZGEÇMİŞ	283

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Canlılar alemi ağacı. (Roger and Simpson 2009)	5
Şekil 2 Mikroorganizmaların gelişim evreleri	11
Şekil 3 Organik bir ortamda üremekte olan <i>Rhizopus arrhizus</i>	15
Şekil 4 Kimyasal tepkimelerin enzim içeren ve içermeyen durumlara göre enerji – zaman eğrisi.....	38
Şekil 5 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), ağır metal iyonları içermeyen ortamlardaki mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	64
Şekil 6 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği	67
Şekil 7 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği	69
Şekil 8 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C’de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği	70
Şekil 9 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C’de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği	71
Şekil 10 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği	73
Şekil 11 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği	74
Şekil 12 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C’de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği	75
Şekil 13 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C’de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği	77
Şekil 14 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	80
Şekil 15 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği	82
Şekil 16 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği	84

Şekil 17 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği	86
Şekil 18 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği	88
Şekil 19 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği	90
Şekil 20 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği	92
Şekil 21 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği	93
Şekil 22 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği	95
Şekil 23 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği	96
Şekil 24 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	98
Şekil 25 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	100
Şekil 26 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	102
Şekil 27 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	104
Şekil 28 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi grafiği	105
Şekil 29 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi grafiği	107
Şekil 30 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi grafiği	108

Şekil 31 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi grafiği	110
Şekil 32 pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	112
Şekil 33 pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	114
Şekil 34 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	116
Şekil 35 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	118
Şekil 36 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	120
Şekil 37 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	121
Şekil 38 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi.....	123
Şekil 39 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi.....	124
Şekil 40 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	126
Şekil 41 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	128
Şekil 42 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	129
Şekil 43 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	131
Şekil 44 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	133

Şekil 45 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği	135
Şekil 46 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği	136
Şekil 47 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği.....	139
Şekil 48 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği.....	141
Şekil 49 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği.....	142
Şekil 50 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği	144
Şekil 51 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği	145
Şekil 52 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	147
Şekil 53 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	149
Şekil 54 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	151
Şekil 55 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği	153
Şekil 56 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi	155
Şekil 57 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi	156

Şekil 58 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi.....	158
Şekil 59 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi.....	159
Şekil 60 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	161
Şekil 61 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	163
Şekil 62 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	165
Şekil 63 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	167
Şekil 64 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	169
Şekil 65 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	170
Şekil 66 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	172
Şekil 67 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	173
Şekil 68 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	175
Şekil 69 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	176
Şekil 70 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	178

Şekil 71 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	179
Şekil 72 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₁ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	188
Şekil 73 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₂ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	192
Şekil 74 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₃ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	199
Şekil 75 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₃ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	200
Şekil 76 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₃ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	200
Şekil 77 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₄ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	204
Şekil 78 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₄ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	204
Şekil 79 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₄ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	205
Şekil 80 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₅ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	209
Şekil 81 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₅ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	209
Şekil 82 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₅ modeli ile tanımlanan cevap yüzey grafiği	210
Şekil 83 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₆ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	217
Şekil 84 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y ₆ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	218

Şekil 85 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_6 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	218
Şekil 86 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_7 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	222
Şekil 87 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_7 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği.....	223
Şekil 88 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_7 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği.....	223
Şekil 89 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_8 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği	227
Şekil 90 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_8 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği.....	228
Şekil 91 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_8 modeli ile tanımlanan cevap yüzey grafiği.....	228
Şekil 92 Başlangıçta ağır metal içermeyen ortamların enzim aktivitesi optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri.....	230
Şekil 93 Başlangıçta ağır metal içermeyen ortamların mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri	231
Şekil 94 Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların enzim aktivitesi optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri	233
Şekil 95 Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların Cu(II) biyobirikim optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri	234
Şekil 96 Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri.....	235

Şekil 97 Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların enzim aktivitesi optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sına-kontrolleri 236

Şekil 98 Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların Zn(II) biyobirikim optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sına-kontrolleri 237

Şekil 99 Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sına-kontrolleri..... 238

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1 <i>Rhizopus delemar</i> sinonimleri	14
Çizelge 2 Enzimlerin kataliz yöntemlerine göre uluslararası sınıflandırılmaları	37
Çizelge 3 Mikroorganizmaların ortama alıştıırma koşullarındaki besin ortamları bileşenleri	55
Çizelge 4 Deneysel çalışmalarda kullanılan besin ortamı bileşenleri	55
Çizelge 5 Ortam metal içeriğine göre analizi yapılan parametreler	58
Çizelge 6 Lipaz enzimi aktivitesinin p-NPP yöntemiyle tayini için hazırlanan çözeltiler	59
Çizelge 7 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), ağır metal iyonları içermeyen ortamlardaki mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	63
Çizelge 8 Başlangıçta ağır metal iyonları içeren ortamlarda, süreç gözleme ve inceleme deneylerinde çalışılan ağır metal konsantrasyonları	65
Çizelge 9 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	67
Çizelge 10 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	68
Çizelge 11 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	69
Çizelge 12 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	71
Çizelge 13 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	72
Çizelge 14 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	74
Çizelge 15 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	75
Çizelge 16 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	76
Çizelge 17 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	79

Çizelge 18 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	81
Çizelge 19 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	83
Çizelge 20 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	85
Çizelge 21 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi.....	87
Çizelge 22 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi.....	89
Çizelge 23 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	91
Çizelge 24 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	93
Çizelge 25 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	94
Çizelge 26 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	96
Çizelge 27 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi.....	97
Çizelge 28 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi.....	99
Çizelge 29 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	101
Çizelge 30 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	102
Çizelge 31 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi.....	105
Çizelge 32 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki	

başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi.....	106
Çizelge 33 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi	108
Çizelge 34 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi	109
Çizelge 35 pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	111
Çizelge 36 pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	113
Çizelge 37 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	115
Çizelge 38 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	117
Çizelge 39 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	119
Çizelge 40 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	120
Çizelge 41 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi.....	122
Çizelge 42 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi.....	124
Çizelge 43 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	125
Çizelge 44 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	127
Çizelge 45 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	129

Çizelge 46 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	130
Çizelge 47 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	132
Çizelge 48 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi	134
Çizelge 49 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi.....	137
Çizelge 50 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi.....	138
Çizelge 51 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	140
Çizelge 52 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	141
Çizelge 53 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi	143
Çizelge 54 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi.....	145
Çizelge 55 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	146
Çizelge 56 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	148
Çizelge 57 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	150
Çizelge 58 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	152
Çizelge 59 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi	154

Çizelge 60 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi	156
Çizelge 61 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi.....	157
Çizelge 62 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi.....	159
Çizelge 63 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	160
Çizelge 64 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	162
Çizelge 65 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	164
Çizelge 66 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi	166
Çizelge 67 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	168
Çizelge 68 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	170
Çizelge 69 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	171
Çizelge 70 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	173
Çizelge 71 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	174

Çizelge 72 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	176
Çizelge 73 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	177
Çizelge 74 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi	179
Çizelge 75 Merkezi bileşke tasarımı için seçilen bağımsız değişkenler, pH ve sıcaklığın düzey ve kodları	183
Çizelge 76 Merkezi Bileşke Tasarımı Matriksi, lipaz aktivitesi ve mikroorganizma konsantrasyonunun deneysel ve model değerlerinin karşılaştırılması ve bağıl yüzde hata değerleri	184
Çizelge 77 pH ve sıcaklığın fonksiyonu olarak lipaz aktivitesinin ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)	187
Çizelge 78 pH ve sıcaklığın fonksiyonu olarak mikroorganizma konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)	190
Çizelge 79 Merkezi bileşke tasarımı için seçilen bağımsız değişkenler, pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun düzey ve kodları	193
Çizelge 80 Merkezi Bileşke Tasarımı Matriksi, lipaz aktivitesi, Cu(II) biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun deneysel ve model değerlerinin karşılaştırılması ve bağıl yüzde hata değerleri	195
Çizelge 81 pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak lipaz aktivitesinin ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA) ...	197
Çizelge 82 pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)	202
Çizelge 83 pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak mikroorganizma konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)	207
Çizelge 84 Merkezi bileşke tasarımı için seçilen bağımsız değişkenler, pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun düzey ve kodları	211
Çizelge 85 Merkezi Bileşke Tasarımı Matriksi, lipaz aktivitesi, Zn(II) biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun deneysel ve model değerlerinin karşılaştırılması ve bağıl yüzde hata değerleri	213
Çizelge 86 pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak lipaz aktivitesinin ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA) ...	215

Çizelge 87 pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)	220
Çizelge 88 pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak mikroorganizma konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)	225
Çizelge 89 Besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasalların marka ve menşeleri.....	257
Çizelge 90 Başlangıçta ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlardaki ağır metal iyonlarının elde edildiği kimyasalların marka ve menşeleri	258
Çizelge 91 Lipaz enzimi aktivitesi tayininde kullanılan kimyasallar	258
Çizelge 92 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesine göre lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu sonuçları	259

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Cd(II)	Cd ⁺² iyonu
Cu(II)	Cu ⁺² iyonu
Zn(II)	Zn ⁺² iyonu
DNA	deoksiribonükleikasit
CO ₂	karbon dioksit
pH	hidrojen potansiyeli ya da hidrojen gücü
K ₂ HPO ₄	dipotasyum hidrojen fosfat
KH ₂ PO ₄	potasyum dihidrojen fosfat
MgSO ₄ .7H ₂ O	magnezyum sülfat - heptahidrat
w/w	kütleler oranı
tween 80	polioksietilen (80) sorbitan monooleat
p-NPP	4-nitrofenil palmitat
triton-x	polietilen glikol p-(1,1,3,3-tetrametilbutil)-fenil eter
tris	2-amino-2-hidroksimetil-propan-1,3-diol
nm	nanometre
U	1 µmol min ⁻¹ - birim zamanda tüketilen substrat miktarı

rpm	dakikadaki tur sayısı
mL	mililitre
L	litre
g	gram
X	mikroorganizma konsantrasyonu
$C_{Cd(II),biyobiriktirilen}$	biyobiriktirilen Cd(II) konsantrasyonu
$C_{Cu(II),biyobiriktirilen}$	biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu
$C_{Zn(II),biyobiriktirilen}$	biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu
$C_{Cd(II), i}$	başlangıçtaki Cd(II) konsantrasyonu
$C_{Cu(II), i}$	başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonu
$C_{Zn(II), i}$	başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonu

1. GİRİŞ

Her geçen gün ivmesini arttıran sanayideki gelişmeler, günümüzde yeni teknolojik boyutlar kazanarak küçücük dünyamız üzerindeki insanların yaşam standartlarını önceki dönemlere göre daha yüksek seviyelere çıkarmaktadır. Bir asır, elli yıl ya da on beş sene öncesine göre elde edilmiş olan refah ve tüketim düzeyi genel olarak tüm insanoğlunu memnun edici bir durumdur.

Yalnız, yaşam kalitesi artan insanoğlu, hayatını sürdürebileceği yegâne mekân olan bu küçük gezegenin hızla sona doğru gittiğini ancak fark edebilmiştir. Sağlıklı çevre koşullarının hızlı artan sanayileşme ve nüfus altında ezildiği gerçeği kavrandığı andan itibaren ise teknoloji, gezegeni kurtaracak çözümleri bulma yollarını araştırmak için kullanılabilir hale gelmiştir.

Artık, çevre sorunlarına karşı daha duyarlı ve çözüm bulmaya yönelik faaliyetler egemen duruma geçtikçe sorunlar tüm boyutlarıyla incelenip, çıkış yolları aranmaya ve çoğunlukla da elde edilmeye başlanmıştır.

Bu sorunlardan en büyüklerinin en başında gelen ise tartışmasız, su kirliliğidir.

Canlılar için hayati bir unsur olan su, endüstri için de can damarıdır. Günümüzde hemen hemen pek çok endüstriyel uygulamada soğutma sistemi uygulamalarından, ürün saflaştırma proseslerine, ara üründen, ham maddeye kadar çok çeşitli şekilde sudan istifade edilmektedir.

Fakat işlenen, kullanılan su, artık eski durumunda değildir ve doğaya serbest bırakılmadan evvel, kesinlikle arıtılması gerekmektedir.

Atıksu arıtımı konusunda uygulanan değişik yöntemlerle birlikte, günümüzde, daha etkili ve çağımızın en temel unsurlarından birisi olan daha düşük maliyetli uygulamalar da sürekli olarak araştırılıp, geliştirilmeye çalışılmaktadır.

Bu çalışmanın esas amacı da işte bu duruma yeni bir çözüm getirebilmedir.

Atıksuların içindeki en önemli kirletici unsurlarından olan ağır metallerin giderilmesi için hedeflenmiş olan bu çalışmada, özellikle üç unsur üzerinde durulmuştur. Bunlar;

- Mikroorganizma kullanımı
- Ağır metal giderimi
- Lipid giderimi

Düşük derişimde ağır metal kontaminasyonu içeren evsel atıksular ile hem ağır metal kirliliği, hem de lipid kirliliği içeren endüstriyel atıksulardan, bir küf mantarının ağır metal biyobiriktirme yeteneği ve lipaz enzimini üretme özelliğinden yararlanmak suretiyle atıksu arıtımı amacındaki bu çalışmada küf mantarı olarak *Rhizopus delemar* kullanılmıştır.

Lipid, yüksek miktarda çevre kirliliğine sebep olan hem evsel, hem de endüstriyel bir atıktır. Su yüzeylerinde, havadan suya oksijenin difüzyonunu önleyen, yağ filmleri oluşmasına yol açmaktadır. Bu durum da sulu yaşamın birçok formunun ölmesine neden olabilmektedir.

Atıksularda bulunan yağ damlaları ve diğer partiküllerin oluşturduğu topakçıklar (aggregates), atıksu altyapı boru hatlarının tıkanması neden olabilmektedir.

R. delemar mikroorganizmaları, uygun ortamları sağlandığı takdirde, son derece düşük maliyetle üreyebilmektedir. Lipaz enzimi kullanımı ise lipidleri gidermenin en verimli yöntemlerindedir. Bu unsurlar bir arada düşünüldüğünde, atıksu arıtımı için hem ağır metalleri biyobiriktiren, hem de lipaz enzimi üreten bir mekanizmadan yararlanılacaktır.

Böyle bir uygulama ile atıksu arıtımı gerçekleştirilecektir. Bu durum çevre kirliliği kontrolü açısından konvansiyonel atıksu arıtma uygulamaları için de bir biyolojik uygulamaların oluşturduğu düşük maliyetli bir alternatif teşkil edebilmektedir.

Rhizopus delemar mikroorganizması kullanılarak elde edilen lipaz enzimi üretimi ile bir yandan şebekelerde büyük sıkıntı yaratan lipid kirliliğinin giderilmesi, bir yandan da *R. delemar*'ın biyobirikim ve biyosorpsiyon mekanizmaları ile ağır metal iyonlarının atık sularından uzaklaştırılması hedeflenmiştir.

Bu çalışmada değerlendirilmek üzere üç ağır metal seçilmiştir. Bunlar yüksek toksisite etkisi ve endüstride yaygın kullanımlara göre değerlendirilmiştir. Çalışmada incelenen ağır metaller iyonları şunlardır:

- Cd(II)
- Cu(II)
- Zn(II)

Çalışmalarda iki temel sistem üzerinden iş planı oluşturulmuştur. Buna göre, öncelikle değişik ağır metal derişimlerinin hâkim olduğu ortamlarda mikroorganizmanın uzun dönemli süreç gözleme ve inceleme kontrolleri yapılmıştır. Bu aşamada parametreler mikroorganizmaların yaşam koşulları ile birlikte, lipaz enzimin aktivitesinin sağlanabileceği uç noktalar olarak değerlendirilmiştir.

İkinci aşamada ise elde edilen veriler ışığında *R. delemar*'ın belirlenen koşullarda lipaz enzimi aktivitesi, ağır metal biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Optimizasyon çalışmalarında birinci aşamadaki deneyler ve literatür desteği ile elde edilen verilere ek olarak bilgisayar destekli istatistiksel bir yazılım programı kullanılmıştır.

Böylelikle çalışma sonunda *R. delemar* küf mantarının Cd(II), Cu(II) ve Zn(II) ağır metal biyobirikimi ile bu esnada lipaz enzimi üretimi için optimum koşulların analizinin gerçekleştirilmesi sağlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Taksonomi

Canlıların sınıflandırılması ve bu sınıflandırmada kullanılan kural ve prensiplerin esası 1735 yılında Carolus Linnaeus tarafından oluşturulmuştur. Buna göre canlılar bitkiler ve hayvanlar olarak iki temel sınıftan oluşmaktaydı.

Modern sınıflandırmada ise 1969 yılında Robert Harding Whittaker'ın oluşturduğu 5 ana parçadan oluşan sistem kullanılmaktadır. (Whittaker 1969)

Bu yapı günümüze kadar çeşitli modifikasyonlara uğramış olup günümüzdeki nihai haline 2005 senesinde gelmiştir.

2.1.1. Hücre yapılarına göre canlıların sınıflandırması

Uluslararası Protistologists Topluluğu'nun 2005 yılındaki kabul ettiği şekliyle canlılar iki ana sınıfta yer alırlar.

2.1.1.1. Prokaryotlar (İlkeller)

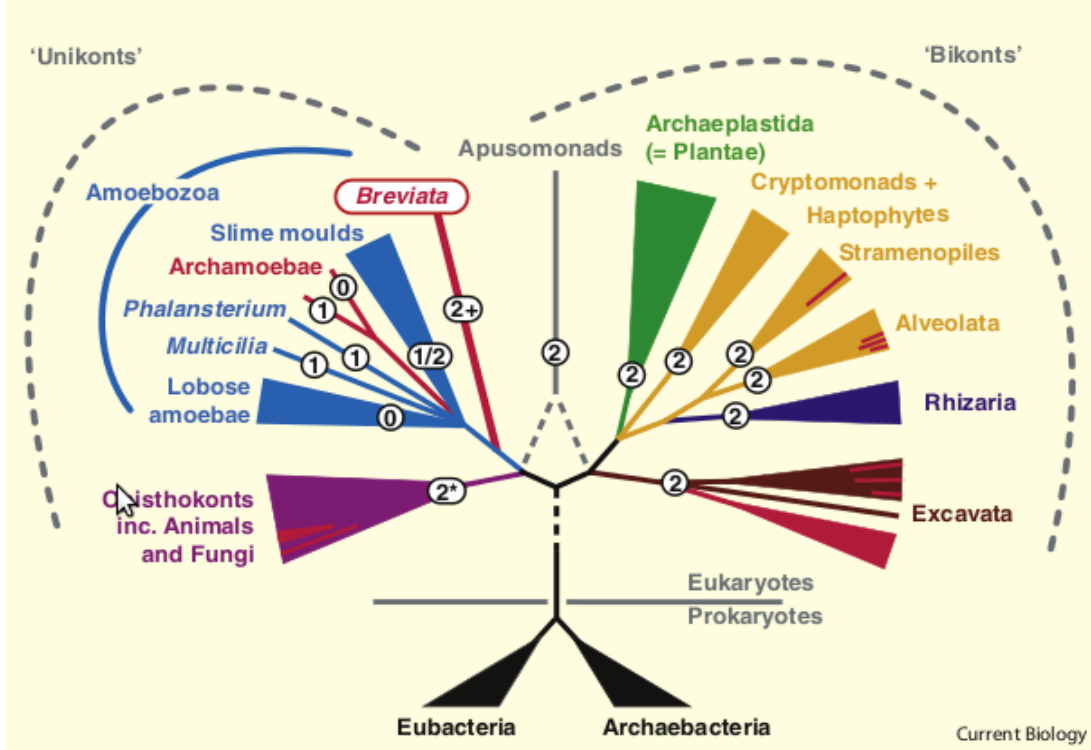
Prokaryotlardaki en belirgin özellik, hücrelerin içinde membran kapsamına alınmış bir çekirdeğin olmayışıdır. Bu canlıların DNA'sı hücre içerisindeki plazmada serbest halde bulunur. Hücre yapıları ökaryotlar ile karşılaştırıldığında oldukça sadedir. Mitokondri ve kloroplast içermez. Genellikle bu hücrelerin ebatları 1.0 µm ile 10.0 µm arasındayken, bazı ekstrem ölçülerde prokaryotlara da rastlanmaktadır. Bunlar 0.2 µm ile 750.0 µm arasında görülebilmektedir. (Schulz, Brinkhoff et al. 1999)

2.1.1.2. Ökaryotlar (Gelişmişler)

En temel özellikleri hücre çekirdeğine sahip olmalarıdır. Böylelikle DNA'ları hücre içerisindeki plazmada serbest halde bulunmaz. Çekirdeğin etrafı geçirgen bir membran

ile çevrilidir. Hücre içerisine çok sayıda organ bulunmaktadır. Ebatları 3.0 µm'den başlayıp, 40.0 µm'ye kadar gitmektedir.

Şekil 1'de görüldüğü üzere, prokaryotlar iki ve ökaryotlar ise çok sayıda alt gruptan oluşmaktadır. (Roger and Simpson 2009)



Şekil 1 Canlılar alemi ağacı. (Roger and Simpson 2009)

Cavalier-Smith'in 2004 yılında belirttiği ve genel olarak kabul edilen şekliyle ise canlılar âlemi 6 temel sınıfa ayrılmaktadır. Bunlar:

- a. Bakteriler
- b. Protozoalar
- c. Kromistalar

ç. Mantarlar (Fungi)

d. Bitkiler

e. Hayvanlar

âlemleridir. (Cavalier-Smith 2004)

2.1.2. Besin elde etme yöntemlerine göre canlıların sınıflandırması

Canlıların bir diğer sınıflandırması da kullandıkları besin şekline göre olanıdır.

Buna göre canlılar iki sınıfa ayrılmaktadır.

2.1.2.1. Ototroflar

Besinlerini inorganik maddeler aracılığıyla elde ederler yani yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmek için gerekli olan organik molekülleri inorganik maddeleri kullanarak sentezlerler.

Organik bileşiklerin sentezlenmesinde güneş ışığını kullanan yani fotosentez yapan canlılar fototroflar, kimyasal enerjiyi kullanan canlılara da kemotroflar alt grubuna dâhildir.

2.1.2.2. Heteretroflar

Kendi besinini bir fiil kendisi üretemeyen canlıların dâhil olduğu sınıftır. Bu canlılar yaşamak için ototroflardan ya da diğer heterotroflardan beslenmek zorundadırlar.

Hayvan ve mantarların tümü ile birçok bakteri türü bu sınıfa dahildir.

2.1.3. Oksijen ihtiyacına göre canlıların sınıflandırılması

- a. Anaerobikler: Oksijenli ortamda yaşayabilen canlıların ait olduğu sınıftır.
- b. Anaerobikler: Oksijensiz ortamda üreyebilirler.
- c. Fakültatifler: Gerek oksijenli, gerekse de oksijensiz ortamlarda yaşayabilenlerin oluşturduğu gruptur.

2.1.4. Yaşayabildikleri sıcaklıklara göre canlıların sınıflandırılması

- a. Saksofilikler: 18 °C'den düşük sıcaklıklarda yaşayabilenlerin oluşturduğu sınıftır.
- b. Mezofilikler: 18 °C ile 40 °C arasında yaşayabilen canlıların ait olduğu gruptur.
- c. Termofilikler: 40 °C ile 60 °C arasında yaşayabilenlerdir.

2.2. Mikroorganizmalar

Mikroorganizma kelimesinin etimolojisine bakıldığında, Yunanca mikrós yani küçük ve organismós yani organizma kelimelerinden oluştuğu görülmektedir.

Organizma kelimesi de canlı ifadesiyle özdeş olup, yaşam fonksiyonlarını bir sistematik dâhilinde gerçekleştiren basit yapıli moleküllerin veya değişik görevlere sahip organlar sistemlerinin bir araya gelmesiyle oluşan varlıklar için kullanılmaktadır. (DeLong and Pace 2001)

Mikroorganizmalar koloni şeklinde ürememişse, çıplak göz ile fark edilmeleri mümkün değildir. Ancak mikroskop ve benzeri büyütme enstrümanları kullanılarak incelenebilirler.

Uygun koşulları buldukları her ortamda üremeye müsaittirler. Ortam pH'sı, sıcaklık, oksijen ve besin ortamının sağlandığı koşullarda kolaylıkla üreyebilirler. Üremeyi tetikleyen en önemli etkenlerden biri de ortamdaki besinlerdir. Özellikle glikoz, sakkaroz, laktoz, maltoz ve fruktoz gibi şekerler mikroorganizmaların büyümesini doğrudan etkileyen ana besin maddeleridir. Şekerin yanı sıra azot, potasyum, fosfor, kalsiyum, magnezyum gibi maddeler de mikroorganizma büyümesine kuvvetli etki eder.

Mikroorganizmaların buldukları koşulların zorlaşması durumunda, ortam koşullarına göre şartlanabildikleri bilinmektedir. (Christian 1963)

Birbirlerinden bağımsız olarak ya da bir koloni dahilinde ürer ve yaşarlar. Doğada hemen her noktada bulunurlar. Bunlara diğer canlıların cilt ve iç sistemleri de dahildir. Örneğin gelişmiş organizmaların sindirim sistemlerindeki mikroorganizmaların faaliyetleri yadsınamaz. (Orhan 2002)

Mikroorganizmalar da diğer canlılar gibi çeşitli şekillerde sınıflandırılabilirler. Oksijen ihtiyacına göre aerobik, anaerobik, fakültatif ve mikroarofilik olmak üzere dört gruba bölünürler. Kullandıkları besin maddeleri inorganik olanlara litotrof, organik besin kullananlara ise organotrof denir. Enerji ihtiyacını organik bileşiklerden sağlıyorsa hetotrof, CO₂'den temin ediyorsa ototrof denir. Güneş ışığı kullanarak fotosentez gerçekleştirenlere fototrof, enerjilerini kimyasal maddelerden sağlayan mikroorganizmalara ise kemotrof denir.

Mikroorganizmalar, üreme ve yaşama için gerekli olan enerjileri, diğer pek çok canlıda olduğu gibi karbon kaynaklarından elde ederler. Organik karbon kaynağı olarak en çok görülenler şeker, nişasta, organik asitler, yağlar ve hidrokarbonlardır. Karbonların mikroorganizmalarca utilize edilmesi canlıdan canlıya değişiklik göstermektedir. (Lewin 1968)

2.2.1. Mikroorganizma üremesine etki eden etkenler

Hemen hemen tüm canlıların olduğu gibi mikroorganizmaların da yaşamak ve üremek için belirli sıcaklık aralıklarındaki ortamlarda bulunmaları gerekmektedir. Sıcaklık, en başta mikroorganizmaların yaşadığı inkübasyon ortamı içerisindeki çözünmüş oksijen derişimini, buna bağlı olarak da biyolojik aktiviteyi oldukça fazla etkilemektedir. Her mikroorganizma için belli sıcaklık içinde bir gelişme optimumu vardır.

Mikroorganizmalar belirli pH aralıklarında optimum üremelerini gerçekleştirebilirler. Daha yüksek veya düşük pH değerlerinin hâkim olduğu ortamlarda mikroorganizma

üremesi menfi yönde etkilenir. Bunun yanı sıra mikroorganizma üremesi için gerekli olan optimum pH ile ürün oluşumu için gerekli olan pH farklı olabilir. Bu gibi durumlarda birçok mikroorganizma, ortam pH'sinde ürün oluşumu sonucu oluşan artış veya azalışlara karşı kendi bünyesindeki yani hücre içindeki pH değerini sabitleyecek mekanizmalara sahiptir. Ortam koşullarının pH değeri mikroorganizma üremesi için gereken optimum değerden farklılık göstermeye başladığında, mikroorganizmanın varlığını sürdürmek için enerji gereksinimleri artar. (Alp 2007)

Aerobik solunum gerçekleştiren mikroorganizmaların üremesinde önemli etkenlerden birisi de oksijene ulaşım imkânıdır. Mikroorganizma verimi için, inkübasyon ortamındaki karıştırma veya çalkalama şekli ile birlikte mikroorganizmanın çözelti içerisinde karıştırma ve çalkalamadan ötürü homojen dağılım sergileyen substratla doğrudan teması sağlanmaktadır. (Walker 1998)

2.2.2. Mikroorganizmaların yaşam evreleri

Mikroorganizmalar Şekil 2'den görüleceği üzere çok evreli bir yaşam evresinde sahiptir. Bu süreç zarfında üreme, çoğalma ve ölme gerçekleşir.

2.2.2.1. Gecikme evresi

Mikroorganizmalar ekilmiş oldukları yeni ortama uyum gösterip çoğalmaya başlayıncaya kadar belirli bir süre geçer. Bu sırada hücre sayısında bir artış gözlenmez. Canlı ya da ölü mikroorganizma hücreleri sayısında değişimin gözlenmediği bu süreye gecikme evresi adı verilir. Evre boyunca geçen süre aşılana mikroorganizmaların yaşı ile doğrudan ilişkilidir. Gecikme evresinin sonlarına doğru mikroorganizma sayısı yavaş yavaş artmaya başlar. Bir sonraki artış evresi öncesindeki bu döneme ara evre denir.

2.2.2.2. Logaritmik evre

Bu dönem mikroorganizmaların üreme ve çoğalması için tüm şartların olduğu evredir. Besin ortamlarına ekim yapılmış olan mikroorganizmalar canlı ve genç olarak kabul

edilir. Logaritmik evrede mikroorganizmaların hücre sayısı üstel olarak artar. Bu dönemde besin tüketimi maksimum seviyededir. Ortamda mikroorganizma konsantrasyonunu inhibe edici ürünlerin de oluşabilme imkânı kuvvetlendiğinden maksimum mikroorganizma derişimine bazı durumlarda ulaşlamayabilinir.

2.2.2.3. Duraklama evresi

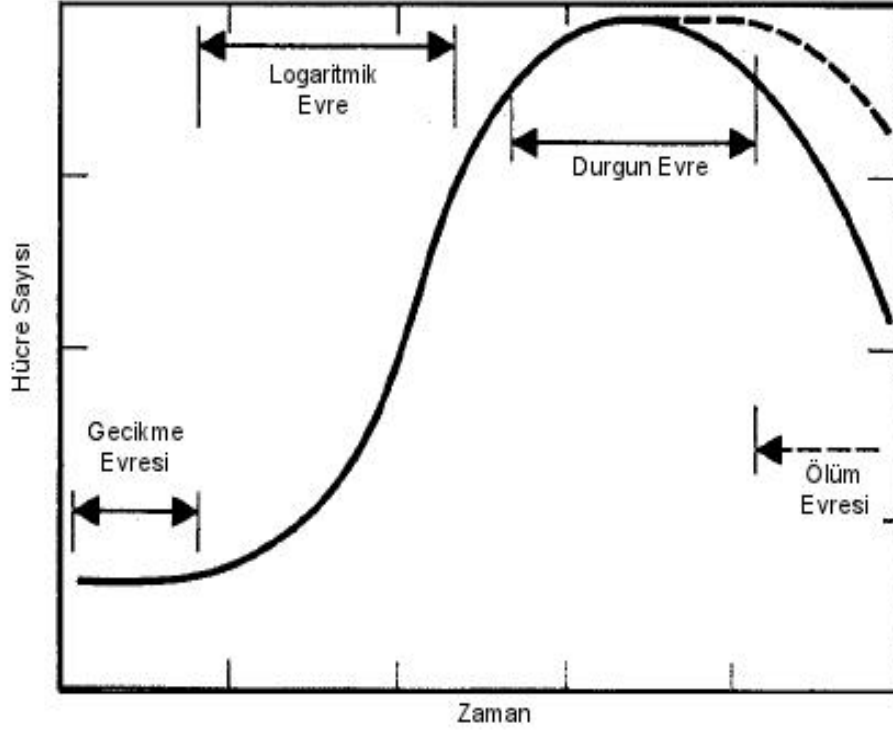
Logaritmik evrede hızla genişleyen mikroorganizma popülasyonunda, yaşlanmalardan ve besin sıkıntısının baş göstermesinden ötürü mikroorganizmaların ölümler belirginleşir. Bundan dolayı da mikroorganizma sayısı artışında yani çoğalmada bir önceki logaritmik evreye nazaran yavaşlama gözlenir. Buna duraklama evresi denir.

2.2.2.4. Sabit evre

Bu dönemde mikroorganizmalar çeşitli şekillerde davranırlar. Bir yandan üreme devam ederken, öte yandan ölümler sürer. Bazı mikroorganizmalar ise sistemlerini yavaşlatmış vaziyette beklerler. Mikroorganizmaların bu tarz durumları birbirlerini dengelediği için mikroorganizma sayısında net bir artış gözlenemez.

2.2.2.5. Ölüm evresi

Zaman içerisinde azalan besin miktarı ve mikroorganizmaların yaşamsal faaliyetlerinden ötürü oluşan enzim salgıları, hücre atıkları ve ölen hücreler nedeniyle ortamdaki diğer mikroorganizmaların hücre zarlarında parçalanma ve hidroliz durumları belirginleşmeye başlar. Hücrelerin kendi kendilerini ve diğerlerini yok etmeye başlamasıyla ölüm evresi ilerler. (Shuler and Kargi 2002)



Şekil 2 Mikroorganizmaların gelişim evreleri

2.3. Mantarlar

Bu canlı âleminde, canlılar tek hücreli ve çok hücreli olabilen ökaryotik yapıdadırlar. Küf mantarı, maya mantarı, şapkaklı mantar, kav mantarı isimlerle anılan bütün mantarlar, bu âlem içerisinde incelenmektedir.

Dünya genelinde 1.5 milyon civarında mantar türü olduğu varsayılırsa bile bunların yaklaşık % 5'i yani 69,000 kadarı tanımlanabilmiştir. Bitkilerden farklı olarak kendi besinlerini üretemezler. Bu yüzden mantarlar üretici değil, ayrıştırıcıdır.

2.3.1. Küf mantarları

Üremeye başladıkları ortamlarda beyaz-gri karışımı bir renk oluşumu ile kendilerini belli ederler. Birer heterotrof olan küf mantarları saprofit, parazit ya da simbiyotik yaşam

biçimlerine sahiptirler. Bundan dolayı, organik maddelerin ağırlıkta olduğu ortamlarda üreme eğilimindedirler.

Karbon kaynağı kullanımları seçimlidir. Karbon olarak glikoz, sakkaroz, maltoz ve nadiren laktoz kullanırlar. Genel olarak azot kaynağı olarak amonyumu utilize ederlerken ve bazı türleri ise nitrat ve nitritten istifade ederler.

Optimum üreme pH ve sıcaklık değerleri türden türe değişim gösterir. Aerob olduklarından yüzeylerde, havaya yakın koşullarda üreme kaydederler. Sporlar vasıtasıyla çoğalırlar. Bununla birlikte bazı türlerinin miselleri substrat içlerinde de gelişebilmektedir. (Coruslu and Pekin 1983)

Hif denen kılcal ve bölmelerden oluşan borulara sahip olan küf mantarlarında, hiflerin dallanması ile misel yapılar ortaya çıkar. Canlı organizmanın besin alışverişi hifler vasıtasıyla gerçekleşir. (Bailey and Ollis 1986)

2.3.2. *Rhizopus* mantarları

Küf mantarı olan *Rhizopus* mantarları, saprotrof yapıda yani yaşamak ve üremek için besinlerini canlı organizmalardan değil de, cansız maddelerden, özellikle de çürümekte ya da ölmüş olan bitki ve hayvan organiklerinden alan bir mantar cinsidir. (Kirk, Cannon et al. 2001)

Olgunlaşmış ve çürümeye yüz tutmuş sebze, meyve, ekmek, fındık, tütün ve deri gibi çeşitli organik maddelerin üzerinde bulunabilirler. Bunlar, *Rhizopus* mantarları için cazip substratlardır.

Bazı *Rhizopus* mantarları ölümcül hastalıklara da yol açabilmektedir.

2.3.2.1. Rhizopus delemar

Rhizopus mantar cinsine ait bir türdür. Dünya genelinde, ölmüş, çürümüş organik maddelerin bulunduğu ortamlarda üreyebilen bir mantardır.

Oportunist insan patojeni, yani fırsat kollayan, bağışıklık sistemi zayıflamış insanları etkileyen yapıdadır. Kuvvetli bağışık sistemlerinde pek bir tehlikesi yoktur. Spor oluşturan bir küf mantarı türüdür.

Çizelge 1'de görüldüğü şekliyle çok sayıda sinonim ile ifade edilebilmektedir. (Abe, Oda et al. 2007)

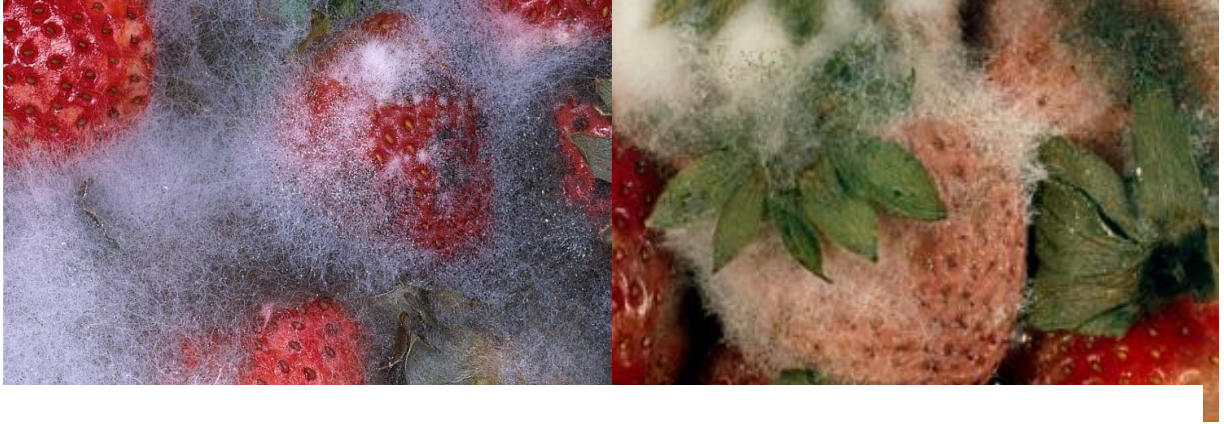
Optimum çoğalma sıcaklığı 30-35 °C olup, minimum 5-7 °C ve maksimum 44-49 °C olmak üzere geniş bir sıcaklık aralığında ürer. Koloniler çoğalma periyodunun değişik evrelerinde beyazdan kahverengiye dönüşerek ve genellikle sıvı besin ortamının yüzeyinde 10 mm yüksekliğine ulaşabilen küf oluşturarak ürerler. Filamental yapının oluşması yaklaşık olarak 10-15 gün, rengin kahverengiye dönmesi 15-20 günlük bir süre alır. Patates dekstroz agar, malt özütü, maya özütü, glikoz ve soytan gibi besinleri içeren ortamlarda özellikle pH 5.0-5.5 aralığında hızlı büyürler. Besin ortamı çok asidik olmamak kaydıyla diğer pH'larda da ürerler. (Alp 2007)

Rhizopus delemar, etkili ağır metal biyosorbenti olarak bilinir. (Tsekova and Petrov 2002)

Günlük hayatta çok rahatlıkla karşılaşılabilmek ihtimalleri olan bu mikroorganizmaların organik besin ortamlarında doğal halde üremiş oldukları formları Şekil 3'te görülmektedir.

Çizelge 1 *Rhizopus delemar* sinonimleri

<i>Rhizopus delemar</i> Sinonimleri	
<i>Rhizopus acetoinus</i>	<i>Rhizopus konsho</i>
<i>Rhizopus achlamydosporus</i>	<i>Rhizopus liquifaciens</i>
<i>Rhizopus albus</i>	<i>Rhizopus maydis</i>
<i>Rhizopus angulisporus</i>	<i>Rhizopus microsporus var. pseudochinensis</i>
<i>Rhizopus arrhizus</i>	<i>Rhizopus mochi</i>
<i>Rhizopus arrhizus var. delemar</i>	<i>Rhizopus nigricans var. verticillatum</i>
<i>Rhizopus bahrnensis</i>	<i>Rhizopus nodosus</i>
<i>Rhizopus batatas</i>	<i>Rhizopus norvegicus</i>
<i>Rhizopus betivorus</i>	<i>Rhizopus oryzae var. araneosus</i>
<i>Rhizopus boreas</i>	<i>Rhizopus oryzae var. oryzae</i>
<i>Rhizopus cambodja</i>	<i>Rhizopus peka</i>
<i>Rhizopus chinensis var. rugulosus</i>	<i>Rhizopus pseudochinensis</i>
<i>Rhizopus chiuniang</i>	<i>Rhizopus pseudochinensis var. pseudochinensis</i>
<i>Rhizopus chungkuoensis</i>	<i>Rhizopus salebrosus</i>
<i>Rhizopus chungkuoensis var. isofermentans</i>	<i>Rhizopus salebrosus var. instriatis</i>
<i>Rhizopus delemar var. minimus</i>	<i>Rhizopus salebrosus var. salebrosus</i>
<i>Rhizopus delemar var. multiplicisporus</i>	<i>Rhizopus schizans</i>
<i>Rhizopus formosaensis</i>	<i>Rhizopus semarangensis</i>
<i>Rhizopus fusiformis</i>	<i>Rhizopus shanghaiensis</i>
<i>Rhizopus hangchow</i>	<i>Rhizopus sontii</i>
<i>Rhizopus humilis</i>	<i>Rhizopus suinus</i>
<i>Rhizopus japonicus</i>	<i>Rhizopus suinus f. sterilis</i>
<i>Rhizopus japonicus var. angulisporus</i>	<i>Rhizopus suinus f. suinus</i>
<i>Rhizopus japonicus var. japonicus</i>	<i>Rhizopus tanekoji</i>
<i>Rhizopus javanicus</i>	<i>Rhizopus thermosus</i>
<i>Rhizopus javanicus var. javanicus</i>	<i>Rhizopus tonkinensis</i>
<i>Rhizopus javanicus var. kawasakiensis</i>	<i>Rhizopus trubini</i>
<i>Rhizopus kasanensis</i>	<i>Rhizopus usamii</i>



Şekil 3 Organik bir ortamda üremekte olan *Rhizopus arrhizus*

2.4. Atıksulardan Ağır Metal Giderimi Yöntemleri

Atıksulardan ağır metallerin uzaklaştırılması teknikleri genel olarak ters osmoz, ultrafiltrasyon, elektrodializ, iyon değişimi, kimyasal çöktürme, bitkiler kullanılarak gerçekleştirilen fitoremediasyon, adsorpsiyon ve biyosorpsiyon gibi yöntemlerden oluşmaktadır. (Rich and Cherry 1987)

2.4.1. Hiperfiltrasyon (ters osmoz)

Atıksu içinde çözülmüş olan ağır metallerin yarı geçirgen bir zar ile ortamdan ayrılarak, osmotik basıncın tersi istikamette, daha güçlü bir basınç altında ayrılması işlemidir. Bu yöntemin en büyük caydırıcı yönü pahalı olmasıdır.

2.4.2. Ultrafiltrasyon

Basınç altında membranlardan ağır metallerin giderilmesi uygulamasıdır. Bu uygulamanın ters osmoz sisteminden en belirgin farkı daha düşük basınç altında gerçekleştiriliyor olmasıdır. Genellikle yağ ve renkli kolloidal çözeltilerin arıtılması işlemlerinde kullanılmaktadır.

Dezavantajları içinde en temeli çamur oluşumu ve membran gözeneklerinin tıkanmasıdır.

2.4.3. Elektrodializ

Bu proste, iyonik bileşenler (ağır metaller), yarı geçirgen iyon seçici membran kullanımı ile ayrılır. İki elektrot arasında doğurulan bir elektrik potansiyeli farkı sonucu, çözelti içerisinde bir elektrik akımı oluşur. Bundan ötürü de katyonlar negatif elektroda, anyonlar ise pozitif elektroda yaklaşır. Katyon ve anyonlar ilgili elektrotlara doğru bir çekim altına girerken düzenek içerisindeki anyon ve katyona duyarlı zarlardan geçerler.

Düşük çözünürlüğe sahip tuzların membran yüzeyinde çökerek kalması ve kolloidal çözelti içerisindeki organik maddelerin membran gözeneklerini tıkanması elektrodializ prosesinin en önemli dezavantajlarıdır. Membranların tıkanmasını azaltmak ve gidermek için elektrodializ öncesi ön filtrasyon, kimyasal çöktürme ve aktif karbon gerekli olabilmektedir.

2.4.4. İyon değişimi

Proses, ağır metal iyonlarının elektrostatik kuvvetlerce fonksiyonel grup olarak katı yüzeyinde immobilize edilerek, ortamdaki bulunan diğer iyonlarla değiş-tokuş edilmesi şeklindedir. İyon değişimi bir kolon boyunca gerçekleşir. Kolon içindeki reçinenin iyon yakalama kapasitesinin düşmesiyle verim azalır. Bu gibi durumlarda kolonun geri yıkaması ile kolon rejenerasyonu yapılması gerekmektedir. Yüksek maliyet ve belirli iyonların kısmen giderilmesi gibi handikaplar içermektedir.

2.4.5. Kimyasal çöktürme

Metallerin kimyasal olarak çöktürülmesi şap, kireç, demir tuzları ve diğer organik polimerler gibi koagülant ilavesi ile elde edilir. Kimyasal çöktürme prosesi esnasında yüksek miktarda üretilen ve toksik bileşikler içeren çamur ana dezavantajıdır. Çöken ağır metallerin toksisitelerinden ötürü çamur stabilizasyonu için anaerobik parçalamada

sıkıntılar gözlenebilmektedir. Atık çamurları yüksek toksik madde içerdiğinden arıtılması ve uzaklaştırılması zordur.

2.4.6. Fitoremediasyon

Metaller ile kirlenmiş olan toprak, sediment, ve suların bazı bitkiler kullanılarak metalden arındırılması işlemidir. Dezavantajları olarak proses esnasında metallerin uzaklaştırılmasının ve daha sonraki prosesler için bitki rejenerasyonun uzun zaman alıyor olması tespit edilmiştir.

Ancak, tüm bu metotlarda, yetersiz metal giderimi, yüksek reaktif ve enerji ihtiyacı, özel bertaraf teknikleri ile koşulları gerektiren ve dikkatli atılması gereken toksik çamur veya diğer atık ürünlerinin oluşması gibi dezavantajlar yer almaktadır. (Ahalya, Ramachandra et al. 2003)

2.4.7. Adsorpsiyon

Adsorbsiyon, sıvı ya da gaz fazında çözülmüş halde bulunan maddelerin ortama eklenen katı bir maddenin yüzeyinde kimyasal ya da fiziksel kuvvetlerce tutulmaları işlemidir.

Adsorbsiyon işlemi fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak gerçekleşebilmektedir. Fiziksel adsorbsiyon, zayıf çekim kuvvetleri aracılığıyla gerçekleşirken, kimyasal bir bağlanma söz konusu değildir. Kimyasal adsorbsiyonda kirlenici ile adsorblayıcı arasında kimyasal olarak bağlanma meydana gelmektedir. İyonik adsorpsiyon ise elektrostatik çekim kuvvetlerinin rol aldığı bir adsorpsiyon şeklidir

Adsorbsiyon ile ayrıntılı bilgi Bölüm 2.5'te verilecektir.

2.4.8. Biyosorpsiyon

Biyolojik adsorpsiyonda, canlı veya ölü halde bulunan mikroorganizmalar, kirleticileri fiziksel ve kimyasal olarak adsorblarlar.

Ağır metallerin ve bazı radyoaktif elementlerin atıksulardan uzaklaştırılmasında biyosorpsiyon yöntemi son yıllarda oldukça sıklıkla kullanılmaktadır.

Biyosorpsiyon ile ilgili ayrıntılı bilgi Bölüm 2.6'da verilecektir.

2.5. Adsorpsiyon

Bir ortamda sıvı ya da gaz fazında çözülmüş halde bulunan maddelerin, ortama eklenecek katı bir maddenin yüzeyi üzerinde kimyasal ya da fiziksel kuvvetler aracılığıyla tutulma işlemidir.

Katı faz içerisinde yer alan atom ve moleküller, aralarındaki fiziksel ve kimyasal etkileşimlerden ötürü, iyonik bağlar ve Van der Waals çekim kuvvetleri arasında değişen kuvvetlerden ötürü bir arada bulunurlar. (Unalan 2006)

Katı maddenin örgüsünün iç taraflarında bulunan bir molekül diğerleri tarafından tamamen çevrelendiği için çekim kuvvetleri dengeli bir dağılım sergilemektedir. Buna karşın katının yüzeyi için farklı bir durum söz konusudur. Katı molekülünün iç tarafı diğer moleküllerle çevrelendiğinden, karşılıklı çekim kuvvetlerinin etkisinde bulunur ama dış tarafında yani yüzey tarafında serbest birtakım kuvvetler hüküm sürmektedir. (Sahin 2004)

Bu doymamış kuvvetler, maddenin dış yüzeyinde bir yüzey gerilimine yol açmaktadır. Doymamış bu kuvvetler, katı yüzeyden dışarıya doğru yayılır ve buldukları ortamdaki sıvı veya gaz moleküllerinin çekim kuvvetleri ile etkileşime girer. Böylelikle karşılıklı, kombine çekim kuvvetleri oluşur ve birbirlerini dengeler. Bu durum da adsorpsiyonun şiddetini oluşturur.

Daha yüksek çekim gücüne sahip molekülün adsorpsiyon esnasında yüzeyindeki dengesiz çekim kuvvetlerinin bir kısmı doyurularak yüzey gerilimi düşürülür. (Sag and Aktay 2001)

Atıksu arıtımı uygulamalarındaki kullanım şeklide ise, adsorpsiyon, atıksularda çözünmüş olarak bulunan bazı organik ve kimyasal kirleticilerin, uygun bir katı yüzey üzerinde tutulmasıdır. Konvansiyonel su arıtımı yöntemleriyle arıtılması sıkıntılı olan, içinde buldukları ortamda toksisite, koku ve renk kirliliğine sebep olan organik ve kimyasal maddelerin, ortama eklenecek katı bir madde ile kimyasal ve fiziksel bağlar aracılığıyla tutundurulularak, ortamdaki uzaklaştırılmasıyla atıksu arıtımı sistemlerinde kullanılmaktadır. (Calik 1998; Acikel 2003)

2.5.1. Adsorpsiyon fazları

Adsorpsiyonda iki faz bulunmaktadır:

1. Adsorbent: Adsorbe eden katı madde
2. Adsorbat: Katı madde yüzeyinde adsorbe edilen madde

Genellikle isim ve yöntem benzerliğinden ötürü adsorpsiyon ile absorpsiyon karıştırılabilmektedir. Absorpsiyonun adsorpsiyondan temel farkı, absorpsiyonda absorplanan madde, absorplayıcı maddenin içine doğru yayılır, adsorpsiyonda ise yüzeyde tutunma söz konusudur. (Suzuki 1990)

2.5.2. Adsorpsiyon mekanizmaları

Adsorbent ile adsorbat arasında çekim kuvvetleri açısından üç temel adsorpsiyon türü bulunmaktadır. Bunları belirleyen kriter ise çekim kuvvetleridir. (Weber 1972) Bunlar:

1. Fiziksel Adsorpsiyon

2. Kimyasal Adsorpsiyon

3. İyonik Adsorpsiyon

2.5.2.1. Fiziksel adsorpsiyon

Adsorbat ile adsorbent arasında zayıf çekim kuvvetleri yani Van der Waals kuvvetleri yüzeye tutulmayı gerçekleştirir. Adsorpsiyon uygulamalarında en yaygın olan türdür. Hemen hemen tüm katılar adsorbent, buna karşın pek çok sıvı ve gaz da adsorbat olarak kullanılabilirler. (Sahin 2004)

Fiziksel adsorpsiyon zayıf bağlardan oluştuğu için adsorplanma kolaylıkla tersinir şekle dönüştürülebilmektedir. (Unalan 2006) Bu tür adsorpsiyon için düşük bir sıcaklık aralığı yeterlidir. Adsorpsiyon sonucu yoğuşma enerjisinden bir miktar daha yüksek enerji açığa çıkar. Bu 0.5 ile 5 kcal/mol arasındadır. (Green 2008) Aktivasyon enerjisi düşüktür. Bundan ötürü, adsorbatın çözültideki derişimin değişimiyle adsorplanan moleküller rahatça desorbe olabilmektedir. (Satterfield 1980)

2.5.2.2. Kimyasal adsorpsiyon

Bu adsorpsiyonda, adsorbatla adsorbent arasındaki bağlarda fonksiyonel gruplar ön planda olup, yüzeydeki fonksiyonel gruplar kimyasal etkileşime girmektedir. Kimyasal adsorpsiyon, bağların zayıf olduğu fiziksel adsorpsiyonla karşılaştırıldığında daha spesifik olduğu görülmektedir. Burada hemen hemen tüm katılar ve sıvı ya da gazlardan adsorbent ve adsorbat olarak bahsedebilmek mümkün değildir, çünkü ancak bazı katılar adsorbent ve ancak bazı sıvı ya da gazlar adsorbe olabilmektedir. Bu tür adsorpsiyonlar genelde yüksek sıcaklık aralıklarında oluşabilmektedir ve adsorpsiyon esnasında oluşan ısı, reaksiyon ısısından daha yüksektir (5 ile 100 kcal/mol). Aktivasyon enerjisi de yüksek olup, tepkime tersinmezdir. (Satterfield 1980)

2.5.2.3. İyonik adsorpsiyon

Elektrostatik çekim kuvvetlerinin rol aldığı bir adsorpsiyon şeklidir. Yüzeylerdeki yüklü bölgelere elektrostatik kuvvetler ile çözeltideki iyonik özelliklere sahip adsorbelerin tutulması işlemidir. İyonik adsorpsiyonun fiziksel adsorpsiyondan farkı, iyonik etkileşmenin yani bağlanma kuvvetinin fiziksel adsorpsiyona göre daha güçlü olmasıdır. Ortamın iyonik şiddeti ve pH seviyesi, bu tür adsorpsiyonları doğrudan etkilemektedir. (Satterfield 1980)

Bu üç tür adsorpsiyon şeklinde, çeşitli farklılıklar bulunuyor olmasında rağmen, çoğu sefer hangi tür adsorpsiyonun hüküm sürdüğüne dair kesin bir ayırım yapılamaz, birlikte veya peşisıra oluşabilirler (Weber 1972; Treybal 1981; Oguz 1986; Metcalf and Eddy 1991)

2.5.3. Adsorpsiyona etki eden etkenler

Adsorpsiyon verimi çok sayıda değişkene bağlı olarak değişim gösterebilmektedir. Bunlar:

2.5.3.1. Ortamın pH seviyesi

Hidroksil ve hidroniyum iyonları çok kuvvetli adsorbe oldukları için, diğer iyonların adsorpsiyonu çözeltinin esas pH seviyesini doğrudan etkiler. (Wang, Han et al. 2000) Yapısı basit bileşikler pH 7 ve civarındaki seviyelerde en düşük miktarda adsorbe olmaktadır.

Düşük pH seviyelerinde adsorbent yüzeyindeki pozitif gerilimlerin artışı, negatif yüklü adsorbatların adsorpsiyon oranını yükseltmekteyken, yüksek pH değerlerinin hakim olduğu çözeltilerde, tam tersi bir durum gerçekleşmektedir.

2.5.3.2. Ortamın sıcaklığı

Adsorpsiyon tepkimeleri egzotermik tepkimeler olduğundan, azalan sıcaklığa karşın adsorpsiyon artar. Fakat sıcaklıktaki küçük değişmeler, adsorpsiyon şiddetine pek etki etmez. Sıcaklık yükseldikçe, genel olarak maddelerin çözültideki çözünürlükleri arttığından adsorpsiyon verimi düşüş göstermektedir.

2.5.3.3. Çözünen maddenin özellikleri

Çözünen maddenin çözünürlüğü adsorpsiyon dengesinde önemli bir rol oynar. Genel olarak çözünen maddenin adsorpsiyon hızı ile sıvı fazdaki çözünürlüğü arasında ters bir ilişki vardır. Çözünürlük arttıkça, çözücü-çözünen bağı kuvvetlenir ve adsorpsiyon azalır. Bir madde yüksek gerilimli bir çözücüde, düşük gerilimli bir çözücüye oranla daha kuvvetli adsorplanır.

2.5.3.4. Diğer çözünenlerin etkisi

Genellikle adsorbelerin adsorpsiyonu, ortama katılan diğer çözünen maddelerin etkisiyle azalır.

2.5.3.5. Adsorbent özellikleri

Adsorbentin fizikokimyasal yapısı, adsorpsiyon üzerinde önemli bir kriterdir.

Adsorpsiyon bir yüzey işlemi olduğundan, adsorpsiyon büyüklüğü spesifik yüzey alanı ile orantılıdır. Gözenekli ve boyutları küçük olan adsorbentlerin toplamda yüzey alanı miktarının yüksek olmasından ötürü, bu yapıdaki malzemelerin adsorpsiyon kapasiteleri de yüksektir. (Hayward and Trapnell 1964; Aiba, Humphrey et al. 1973; Hassler 1974)

Bunun yanısıra adsorbentlerin yüzeydeki yükleri de adsorpsiyon üzerinde etkilidir. Kuvvetli asit ya da baz uygulaması ile adsorbentlerin adsorplama kapasiteleri rejenere

edilebilmektedir. Çözünürlük arttıkça çözücü ile çözünen arasındaki bağ kuvvetlenir ve adsorbatın adsorbentçe adsorbe edilmesi düşer.

2.5.4. Adsorpsiyon dengesi ve izotermi

Adsorpsiyon, denge reaksiyonlarına benzer davranış gösterir. Sürücü kuvvet, adsorbent yüzeyinde adsorplanan katı madde konsantrasyonu ile dengede olan sıvıdaki katı madde arasındaki farktır. (Unalan 2006) Adsorpsiyon dengesi kurulduğunda adsorbatın çözelti içindeki konsantrasyonu sabit kalır.

Adsorpsiyon dengesi, sabit sıcaklıkta, dengedeki ortamda, çözeltide bulunan çözünen derişimi ile, adsorbentin birim ağırlığı başına çözünmüş adsorbat miktarıdır. Bu fonksiyona ise adsorpsiyon izotermi denir. (Bellot and Condoret 1993)

Adsorpsiyon izotermi matematiksel olarak başlıca üç model ile belirtilir. (Metcalf and Eddy 1991; Sag and Kutsal 1995; Sag and Kutsal 1998)

- a. Langmuir izoterm modeli
- b. Freundlich izoterm modeli
- c. Redlich-Peterson izoterm modeli

2.6. Biyosorpsiyon

21. Yüzyıl'da sürekli olarak artan çevre bilinci ve dolayısıyla getirilen yeni yasal yönetmelikler ve kısıtlamalar neticesinde artık atık sularının deşarj koşullarına uyum sağlayabilmek için uygun maliyetli alternatif teknolojilere gereksinim duyulmaktadır. Bu bağlamda, mikrobiyal biyokütle uygulamaları çevre dostu ve ekonomik atıksu arıtma metodlarının geliştirilmesi için vazgeçilmez bir seçenek olarak ortaya çıkmıştır.

Biyosorpsiyon içinde çeşitli bileşenlerin yer aldığı sularda, daha ziyade de atıksulardaki organik ve inorganik kirleticilerin veya metal iyonlarının biyolojik kökenli malzemelerin ya da mikroorganizmaların yüzeylerine tutunması işlemidir. (Zhou and Kiff 1991)

Biyosorpsiyon, biyolojik malzeme ile eklendiği ortamdaki metallerin ya da benzer maddelerin uzaklaştırılması işlemidir. Hemen hemen tüm biyolojik malzemeler biyosorpsiyon yapabilme özelliğine sahiptir. (Tobin, White et al. 1994)

Biyosorpsiyon, Shumate ve Stranberg'in 1985'te belirttiği gibi "metal / radyonüklid türler ile mikrobiyal hücrelerin arasında oluşabilecek dolaylı bir fizikokimyasal etkileşim" olarak da tanımlanabilir. (Shumate and Il 1985)

Zaten genel olarak biyosorpsiyon terimi iyonları, esas olarak da ağır metal ve radyonüklidleri alıkoyma işleminde biyokütlenin özelliklerini tanımlamak için kullanılmaktadır. (Bahadır 2005)

Mikrobiyal biyokütle uygulamalarından olan biyosorpsiyon, atıksulardan metal arıtımı için yararlı bir enstrüman olup, aktif karbon ile iyon alışverişi veya adsorpsiyon işlemlerinin kullanıldığı konvansiyonel pek çok uygulama için de iyi bir alternatiftir. (Veglio and Beolchini 1997)

Yöntem biyolojik malzemenin bağlama kapasitesi ile doğrudan ilişkilidir. Bakteriler, algler, mantarlar ve mayaların metal sorbe etmek yetileri çok yüksek olup, bu mikroorganizmaların potansiyel metal biosorbentleri olduğu kanıtlanmıştır. (Kuyucak and Volesky 1988)

Gelişmiş ülkelerde mikroorganizmalar kullanarak atıksu arıtımı çalışmalarına çok sık rastlanmaktadır. Mikroorganizmalar mikro düzeyde canlılar olduklarından yüzey / hacim oranları çok yüksek olup, süratli bir şekilde üreyebilmeleri, çevre koşullarına karşı çabuk uyum sağlayabilmeleri, kısa ama sürekli ömürleri nedeniyle kesintisiz olarak substrat tüketmeleri ve çok çeşitli ürün sentezleyebilme yetilerinden ütüü biyolojik sistemlerde ve arıtmalarda oldukça fazla rol almaktadırlar. (Nakajima and Sakaguchi 1986)

Biyosorpsiyon uygulamalarındaki geri kazanım esnekliği, biyosorpsiyonun endüstriyel düzeyde de yaygın halde kullanılabilir hale gelmesine imkân sağlamıştır. Değerli elementlerin atık yerine, geri kazanımına olanak veriyor olması - altın ve gümüş gibi metallerin geri kazanımı için de kullanılabilinen bir uygulamadır (Mattuschka and Straube 1993) - ve diğer rejenerasyon methodlarıyla karşılaştırıldığında daha uygun olması, biyosorpsiyonu cazip kılmaktadır.

Geri kazanım bir başka ifade şekliyle biyokütleden metal uzaklaştırma yani desorpsiyon ile değerli metaller yeniden elde edilebilirken, biyosorpsiyon amaçlı kullanılmış olan biyokütle tekrar değerlendirilebilmektedir. Bazı durumlarda, biyosorpsiyondan ziyade hücre içi biyobirikimin devrede olduğu uygulamalarda ise geri dönüşüm ile metaller kazanılamayabilir. Bu metalleri kazanmak için hücre parçalaması işlemleri uygulanması gerekmektedir. (Macaskie, Dean et al. 1989; Garnham, Codd et al. 1992)

Biyosorpsiyon uygulamaları çok çeşitlidir. Bazı uygulamalarda mikroorganizma tutuklanmış özel katılar, çözünmüş maddeler adsorbant olarak kullanılabilirken, biyosorpsiyon sınırı ve adsorbsiyon ısısı mikroorganizmaya bağlı olarak değişmektedir. Bu yöntemlerde mikroorganizma cinsine göre değişmekle birlikte daha düşük aktivasyon enerjisi geçerlidir.

2.6.1. Biyosorpsiyon mekanizmaları

Son yıllarda giderek önem kazanan biyosorpsiyon işleminin çalışma prensipleri ve proses esnasındaki basamakların oluşma silsilesi henüz tam olarak açıklanamamıştır. Mikroorganizma yapılarının genel olarak karmaşık olmasından dolayı, metalin hücre tarafından yakalanması ve tutulmasında çeşitli mekanizmalar yer almaktadır. Bu karmaşık ve çok çeşitli yapıdan ötürü biyosorpsiyon mekanizmaları bazı durumlarda ayırd edilemez, birbirleriyle grift bir şekilde çalışır.

Karmaşık ve günümüze kadar çok az anlaşılmış olan biyosorpsiyon mekanizması organizma ister canlı ister cansız olsun mikroorganizmanın ve elementin türüne bağlıdır.

Biyosorpsiyon, yüzey alanına bağlı biyokimyasal mekanizmaların açıklanmasında çok önemlidir. (Buyukgungor 2003)

Biyosorpsiyon mekanizmaları, biyosorpsiyonun mikroorganizma hücresine bağımlı veya bağımsız olması hususunda iki ana gruba ayrılır. (Veglio and Beolchini 1997)

Cansız hücrelerden oluşan bir ortamda metal tutuklama işlemi, metabolizmal faaliyetler söz konusu olmadığında metabolizmadan bağımsız bir yolla gerçekleşir. Bu durumda metal uzaklaştırmada rol oynayan en önemli yer hücre duvarıdır. Çözeltideki metal iyonları hücre duvarı biyopolimerlerinde bulunan kimyasal fonksiyonel gruplarla etkileşerek yüzeye adsorbe olurlar. Hücre yüzeyindeki potansiyel bağlanma bölgeleri; aminler, amidler, imidazoller, hidroksiller, karboksilatlar, fosfatlar, tiyoeterler ve diğer fonksiyonel grupları içerir. Potansiyel ligantların sayısı ve türü çeşitli bölgelerde meydana gelen bağlanmalara ve metal türlerine bağlıdır. Metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyon genellikle hızlıdır, pH'dan etkilenir ve ılımlı bir sıcaklık (4-30 °C) aralığında verimli olur. (Bahadir 2005)

Metalin çözelti içerisinde alınıp, hücreye gideriliş konumuna göre ise üç şekilde bir sınıflandırma yapılmaktadır:

1. hücre dışı birikim
2. hücre yüzeyinde emilim
3. hücre içi birikim → biyobirikim

Ağır metallerin bazıları mikroorganizma metabolizması için yüksek toksisite gösterebilmektedir. Bu gibi elementlerin toksik etkisi nedeniyle, özellikle yüksek konsantrasyonlarda, biyosorpsiyon prosesi gerçekleşmeyebilmektedir.

Metabolizma faaliyetlerinin hayati olanlarından olan hücre zarı üzerindeki kanallardan sodyum ve potasyum gibi iyonların transferleri, zaman zaman ortamdaki ağır metallerin

mikrobiyal hücre zarlarına aktarımı durumunda aynı yük ve iyonik çaptaki iyonlar söz konusu olduğunda karışabilmektedir. Metabolik faaliyetlere bağlı olan bu transfer de biyosorpsiyon olarak kabul edilmektedir. Hücrelerin üzerinde, hücrelerden bağımsız gerçekleşen diğer tutunma prosesine ise metabolizmadan bağımsız biyosorpsiyon davranışı denmektedir.

Kısacası hücre duvarlarında metabolizmaya bağımlı ve metabolizmadan bağımsız olmak üzere iki tür biyosorpsiyon çalışması görülmektedir. (Veglio and Beolchini 1997; Cubukcu 1998)

Canlı mikroorganizmalar biyosorpsiyon dışında biyobirikim mekanizmalarını da kullanarak ağır metal yakalama yeteneğine sahiptirler. Mikrobiyal hücre zarından hücre içine doğru metalin taşınımı sonucu biyobirikim meydana gelir. Biyobirikim hücrenin metabolik yapısına bağlı bir durumdur. Ağır metallerin bu şekilde yakalanmaları biyosorpsiyon ile kıyaslandığında oldukça yavaş gerçekleşen bir durumdur. (Veglio and Beolchini 1997)

2.6.2. Ağır metal iyonlarının biyosorpsiyonu ve mikroorganizmaların biyosorpsiyonda kullanılması üzerine yapılmış çalışmalara bakış

Mikroorganizmaların biyosorpsiyon yetenekleri açısından literatür incelendiğinde sürekli olarak çok çeşitli çalışmalarda bu konunun değişik boyutlarıyla incelendiği görülmektedir.

Bu konuda yapılan çalışmalardan en önemlilerinden olan ve 1966 yılında gerçekleştirilmiş olan bir araştırmada radyoaktif elementlerin sulu ortamda mikroorganizmalar tarafından adsorplanabildiği ortaya konulmuştur. Çalışmada, Polikarpov, bu özelliğin mikroorganizmaların yaşam fonksiyonlarından bağımsız olduğunu belirtmiştir. (Polikarpov 1966)

Daha sonraki süreç içerisinde Tezuka, aktif çamur bakterisinin tersinir flokulasyonunun negatif yüklü hücre yüzeyleri ile çözeltideki Ca^{+2} , Mg^{+2} gibi iki değerlikli katyonlar

arasında kurulan iyonik bağ köprülerinin bir sonucu olduğunu incelemiştir. (Hiroya, Saito et al. 1968)

1973 yılında yaptığı çalışmalarla Cooperman ve Chiu, bir mantar kültürü ile çalışmıştır. Bu çalışmada uranyum giderebilen bir mantar kültürünün ortamdan izolasyonu gerçekleştirilmiştir. (Cooperman, Chiu et al. 1973)

Sonraki dönemde çalışmalarda daha farklı mikroorganizmalarla araştırmalar sürdürülmüştür. Beveridge ve Murray, *Bacillus subtilis* mikroorganizmasını kullanarak yüksek atom numaralı elementleri adsorplamış ve bu elementler geri kazanmayı başarmıştır. (Beveridge and Murray 1976; Tsezos and Volesky 1981)

1980 yılında dönemin koşullarına da uygun olarak uranyum üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Shumate ve arkadaşları, *Saccharomyces cerevisiae*'nin uranyum adsorpsiyonunu pH, sıcaklık ve ortamda bulunan diğer anyon ve katyonların derişimlerinin varyasyonlarına bağlı olarak değerlendirmişlerdir. (Shumate, Strandberg et al. 1980; Acikel 2003)

Benzer alışmalar devam etmiş ve Tsezos ve Volesky, uranyum ve toryum adsorpsiyonunda değerliş türde mikroorganizmalar kullanarak, farklı sıcaklık ve pH değerlerinde adsorpsiyon izotermelerini ıkarımış, sonuçları aktif karbon ve iyon değerlişirici reçineler ile yapılan adsorpsiyon çalışmalarıyla karşılaştırmış ve mikroorganizmaların daha etkin adsorptif özelliklere sahip olduklarını göstermişlerdir. (Tsezos and Volesky 1981; Alp 2007)

Crist ve arkadaşları ise 1988 yılında daha başka bir konuda, hemen hemen tüm canlıların yani hem prokaryot, hem de ökaryotların hücre duvarlarının temel yapı taşı olan doğal polisakkaritlerin iyon değerlişirici özellikleri üzerinde çalışmışlardır. (Crist, Oberholser et al. 1988)

1989'da Ting ve arkadaşları tarafından çoklu metal iyonu karışımlarıyla ilgili çalışmalar yürütülmüştür. Işık etkisinin incelendiği çalışmalarda, *C. vulgaris* ile çalışılmıştır. Işık

varlığında ve yokluğunda altında kadmiyum(II) ve çinko(II) iyonlarının, metabolizmaya bağlı ve yarışmalı giderimini incelenmiştir. Bu çalışmalarda sabit ışık şiddeti altında, hücrel metabolizma için temel bir element olan çinkonun gideriminin, kadmiyum iyonları tarafından inhibe edildiği gözlenmiştir. Yine aynı koşullarda hücrel metabolizma için temel bir element olmayan kadmiyum gideriminin ise çinkonun varlığından bağımsız olduğu ortaya konmuştur. (Ting, Lawson et al. 1989)

Aksu ve Kutsal ise yaptıkları çalışmalarda, yeşil alglerden *Chlorella vulgaris* ile Cu^{+2} , Zn^{+2} , Cr^{+6} , Pb^{+2} ve Fe^{+2} adsorpsiyonunu kesikli karıştırmalı reaktör ile akışkan yataklı reaktörde incelemiş ve yeşil alglerin yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahip biyosorbentler olduğunu göstermişlerdir. (Aksu and Kutsal 1990)

1995 yılında Sağ ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmada da daha farklı yapıdaki mikroorganizmalarla demir, kurşun, nikel, kadmiyum ve bakır ağır metallerinin adsorpsiyonunu kesikli karıştırmalı reaktör ile akışkan yataklı reaktörde ve tutuklanmış mikroorganizma ile dolgulu kolon reaktörde incelemiş, sürekli sistemde en uygun reaktörün dolgulu kolon olduğu belirtilmiştir. (Sag, Özer et al. 1995; Acikel 2003)

Sonraki dönemde ise, Kapoor ve Viraraghavan, Cr^{+6} , Cu^{+2} , ve Pb^{+2} ağır metallerinin bir başka mikroorganizmaca, *Aspergillus niger*'ce adsorplanabildiğini göstermişlerdir. (Kapoor and Viraraghavan 1997)

Penicillium lanosa-coeruleum mikroorganizması ile 2004 yılında yapılan çalışmada ise, bu biyokütlenin ağır metal adsorplama kapasitesi üzerine ön işlemlerin etkisini İlhan ve arkadaşları çalışmışlardır. Yeni bir biyosorbent olarak denenen bu mikroorganizma biyokütlesinin, atık sulardan kurşun, bakır ve nikel giderimi için düşük maliyetli, etkili bir biyosorbent olarak kullanılabileceğini göstermişlerdir. (Boota, Bhatti et al. 2009)

2005'de Pavasant ve arkadaşları, bir yeşil alg olan *Caulerpa lentillifera* ile bakır, kurşun, çinko ve kadmiyum metallerinin sorpsiyonunu inceledikleri çalışmada, pH değerindeki değişimin ağır metal giderimi üzerindeki etkisi ortaya koymuşlardır. (Apiratikul and Pavasant 2008)

Bir sonraki yılda ise, Akar ve Tunalı, Pb(II) ve Cu(II) iyonlarının *A. Flavus* kullanarak biyosorpsiyonu incelemişlerdir. *A. Flavus*'un sulu çözeltilerden Pb(II) ve Cu(II) iyonlarının giderimi için ucuz ve etkili bir biyosorbent olduğunu belirtmişlerdir. (Akar and Tunalı 2006)

2007 yılında yapılan çok sayıda çalışmadan birisinde Hasan ve arkadaşları, *Eichhornia crassipes* kullanarak sulu çözeltide bulunan Zn(II) and Cd(II) iyonlarını biosorpsiyonla gidermişlerdir. (Hasan, Talat et al. 2007)

Aynı dönemde Karthikeyan ve arkadaşları da, iki farklı yeşil alg *Ulva fasciata* ve kahverengi alg *Sargassum sp.* ile biyosorpsiyon çalışmaları gerçekleştirmişler ve bu mikroorganizmaların adsorpsiyon yeteneklerini incelemişleridir. Sulu ortamdan Cu(II) ağır metal iyonunun arıtımı için kullanılan her iki mikroorganizmanın da etkili biyosorbent maddesi olarak değerlendirilebileceğini ortaya çıkarmışlardır. (Karthikeyan, Balasubramanian et al. 2007)

Sirianuntapiboon ve Hongrsisuwan ise düşük organik giderici etkisi olan özellikle Cu^{+2} ve Zn^{+2} gibi ağır metallerin biyolojik atıksu arıtım sisteminde adsorbent olarak kullanılıp, kullanılamayacağını inceledikleri çalışmalarında, bunun olabileceğini görmüşlerdir. Biyolojik arıtma sistemlerinden sürekli kesikli sisteminin Cu^{+2} ve Zn^{+2} gibi ağır metalleri içeren atıksuda arıtım için uygun olduğunu belirtmişlerdir. (Tsezos and Volesky 1981; Khummongkol, Canterford et al. 1982; Becker 1983; Singh, Verma et al. 1989; Harris and Ramelow 1990; Wilde and Benemann 1993; Wehrheim and Wettern 1994; Volesky and Holan 1995; Sag and Kutsal 1996; Kaewsarn 2002; Sirianuntapiboon and Hongrsisuwan 2007)

2.7. Biyobirikim

Biyobirikim, bir ortamda çözülmüş olarak bulunan çeşitli bileşenlerin aynı ortamdaki canlı hücrelerin içinde, hücre zarından geçerek, birikmesidir. (Acikel 2003)

Biyobirikim prosesi, canlı hücrelerde olan ve biyosorpsiyonla karşılaştırıldığında, daha yavaş işleyen bir prosestir. (Tobin, White et al. 1994)

Canlı hücrelerde görülen biyobirikim, hücre yüzeyinde gerçekleşen ve genellikle hızlı bir yüzey bağlanması olan biyosorpsiyonu müteakiben daha yavaş bir faz olan hücre zarından hücre içerisine geçişten oluşmaktadır. Bu proses metabolizmaya bağımlı uzaklaştırma olarak adlandırılır. (Saltabas 1998)

Mikroorganizmalar, taşıma sistemleriyle hem kendi bünyeleri için gerekli olan elementleri, hem de ortamdaki diğer elementleri hücre içine alabilirler. Çoğu metal taşıma mekanizmasının hücre zarı üzerinde görülen elektrokimyasal gradientlere bağlı olduğu bilinmektedir. Bunun yanısıra hücre içi transportasyon, toksik maddelerin hücre zarının geçirgenliğinde tahribata yol açmasıyla birlikte difüzyonla da oluşabilir. (Garnham, Codd et al. 1992; Gadd 2001)

Canlı organizmaların bulunduğu bir ortamda kendiliğinden oluşan ve difüzyona olanak sağlayan sürücü güç mikroorganizma hücrelerinin ürettiği ortamdaki bileşenlerin hücre içine alımı, hücre içi ve dışı derişim farkından dolayı oluşmaktadır. Böylelikle ortamdaki maddeler hücre zarından geçerek, hücre içinde birikebilmektedir. Difüzyona sebep olan sürücü güç kimyasal potansiyel olarak adlandırılır ve bu durum, hücre dışındaki kimyasalı hücre içerisine hareket ettirir. (Ting, Lawson et al. 1989; Gadd 1990)

Membranın iki yakasındaki konsantrasyon farkından doğan difüzyonun kendi doğası nedeniyle mikroorganizma hücreleri, ortamdaki maddelerin, toksik etkileri olsun ya da olmasın hücre içerisine girmelerine engel olamamaktadır. (Beveridge 1989)

Bunun yanısıra transferaz enzimlerinin de ağır metal transferine imkân sağladıkları incelenen bir diğer konudur. Hücre zarı üzerinde bulunan ve besin maddelerinin hücre dışından hücre içerisine naklini gerçekleştiren transferaz enzimleri, besinlerle beraber bu maddelerin de hücre dışından hücre içerisine transferini gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Yani ortamdaki ağır metaller gibi diğer maddelerin hücre zarından konsantrasyon farkından ötürü kendiliğinden difüzyonu yanında, transferaz enzimlerinin

taşıyıcı özellikleri nedeniyle gerçekleşen transferlerle de ağır metallerin hücre içine alımı söz konusudur. Bu tür madde geçişlerinin oluşturduğu mekanizmaya kolaylaştırılmış difüzyon denmektedir. (Macaskie, Dean et al. 1989; Hildebrandt, Regvar et al. 2007)

Besin olarak kabul görmeyen ve canlı mikroorganizma için toksisiteye sahip olan bu maddelerin etkisini düşürmek için hücreler çeşitli yöntemler sergilemektedir. Bu gibi toksik etkiye sahip ve faydalı başka bir maddeye dönüştüremeyecek olan maddelerin, hücrenin stoplazması içerisindeki boşluklarda (vakol) diğer hücre içi atıklarla beraber biriktirildiği düşünülmektedir. Hücre içerisine giren bu maddelerin bir kısmının ise yüklerine ve stoplazmanın izoelektrik noktasına göre stoplazmada yer alan bazı proteinlere veya yağ asitlerine bağlandığı varsayılmaktadır. (Alp 2007)

Bir diğer önemli husus ise maddelerin sulu ortamdaki davranışlarıdır. Bu davranışlar onların hücre içi biyobirikimlerini doğrudan etkilemektedir. Madde biyobirikimini, o maddenin sudaki çözünürlüğüyle son derece ilgilidir. Hidrofobik bir madde hücre içerisinde kalma eğilimindedir.

Biyobirikimin çalışmasında tartışılan bir diğer mekanizma ise, hücre içerisine giren ve bir merkeze bağlanan maddenin dış ortamdaki aynı maddenin hücre içine aktarımını kolaylaştırıp, hızlandırdığı şeklinde olanıdır.

Görüldüğü üzere biyobirikim mekanizmalarının ne olduğu konusunda net bir fikirbirliği yoktur; çünkü, biyobirikim oldukça kompleks yapıda bir mekanizma olup, işleyiş süreci ve mekanizmanın net kodları bugüne kadar tam olarak aydınlatılamamıştır. (Basnakova and Macaskie 1997; Goodyear and McNeill 1999; Haritonidis and Malea 1999)

Biyobirikim, birçok doğal fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemde gözlenmektedir. Günümüzde biyobirikim prosesleri atıksulardan çeşitli kirleticilerin giderilmesinde, özellikle aktif çamur proseslerinde sıklıkla kullanılmaktadır. (Dunn and Bull 1983; Caliceti, Argese et al. 2002)

Ortam koşulları diğer pek çok doğal prosesi olduğu gibi biyobirikimi de doğrudan etkiler. Mikroorganizma hücrelerinin yaşı, ortamın pH seviyesi, sıcaklık, substrat, ortamdaki ağır metal konsantrasyonu gibi etkenler biyobirikimi etkilerler. (Kleinow, Melancon et al. 1987; Kujan, Votruba et al. 1995)

Hücrelerin yaşı, yüzey alanlarının ne düzeyde olacağını gösterir. Olgunluğa erişmiş hücrelerin yüzey alanı daha büyük ve hücre aktiviteleri en üst seviyededir, dolayısıyla daha fazla madde transferine imkân tanımaktadır.

Bununla birlikte ortamdaki pH ve sıcaklık seviyeleri de mikroorganizma yaşam koşullarını ve dolayısıyla üreme şartlarını doğrudan etkilemektedir. Canlı mikroorganizma hücrelerinin içinde inkübe edildiği ortam, optimum üreme pH'si ve sıcaklığındaysa, yüksek miktarda ve hızlı şekilde hücre üremesine ve böylelikle de daha yüksek madde alışverişine olanak sağlayarak hücre zarından geçen madde derişiminin artmasına neden olmaktadır.

Mikroorganizmaların üreme ortamlarının uç pH ve tuz seviyelerinde olması veya aşırı toksisiteye sahip maddelerin ortamda yeralıyor olmasından doğan olumsuzluklar mikroorganizma üremesinin yavaşlamasına ile birlikte metabolik faaliyetlerde inhibisyona neden olur. Zaman zaman ise bu tür aşırı koşullarda metabolik faaliyetlerini yerine getirebilen mikroorganizmalar, bu koşullara dayanabilme mekanizmaları geliştirebilir ve bu uç koşullarda çok iyi üreyebilirler. Eğer ortamda ağır metal iyonları varsa yine bazı mikroorganizmalar bu iyonların toksik etkilerine karşı direnç kazanabilir ve bu iyonları hücre içinde biriktirebilirler. (Wilson and Walker 2010)

Ayrıca çözeltideki hidronyum iyonlarının hücre zarından geçerken oluşturdukları etki diğer maddelerin transferini de kolaylaştırmaktadır. Yüksek substrat ve kirlenici derişimleri, itici güç olan ΔC 'nin artmasına neden olduklarından, hücre zarı üzerinden madde alışverişini hızlandırmaktadır. (Mejäre and Bulow 2001)

2.7.1. Ağır metal iyonlarının biyobirikimi ve mikroorganizmaların biyobirikimde kullanılması üzerine yapılmış çalışmalara bakış

Mikroorganizmaların biyobirikim uygulamalarıyla ilgili uluslararası ve yerel çalışmalar incelendiğinde mikroorganizmaların biyosorpsiyon özellikleriyle olanlara kıyasla daha düşük miktarda olduğu görülmektedir.

Literatürde ağır metal iyonlarının çeşitli mikroorganizmalarca biyobirikimlerine ilişkin çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda mikroorganizma olarak değişik türlerden bakteriler, algler, mantarlar ve mayaların kullanıldığı görülmektedir. (Basnakova and Macaskie 1997; Mejáre and Bulow 2001)

Bu bağlamda ağır metallerin biyobirikimiyle ilgili çalışmalar 1989 yılında dikkat çekmeye başlamıştır. Ting ve arkadaşları tarafından seçilen yeşil alg olan *Chlorella vulgaris* mikroorganizması ile çinko ve kadmiyum ağır metal iyonlarının biyobirikimi incelenmiştir. Bu çalışmada ölçüt olarak ışık varlığı ve yokluğu test edilmiştir. Sabit ışıklandırmada ve kadmiyum varlığında, hücresel metabolizma için temel bir element olan çinko(II) iyonlarının biyobirikiminin inhibisyona neden olduğu gözlenmiştir. Kadmiyum(II) biyobirikimi ise, aynı deneysel koşullar altında çinko(II) biyobirikiminden daha düşük bulunmuştur. (Ting, Lawson et al. 1989)

Mikroorganizma olarak mayaların kullanıldığı bir çalışma 2001 yılında Aksu ve Dönmez tarafından gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada mayaların asidik pH'a sahip ve ağır metal kirliliği içeren ortamlarda iyi üreyebilme özelliklerinden istifade edilmiştir. Ayrıca mayalar, ağır metal iyonlarının biyobirikim yöntemiyle gideriminde başarıyla kullanılabilir. Çalışmada maya olarak canlı *Candida sp.* kullanılmıştır. Canlı hücrelerce metal iyonu biyobirikiminde, ortamın pH değeri, sıcaklık, substrat ve kirletici derişimlerinin mikroorganizmanın üremesini ve metal biyobirikimini etkileyişleri incelenmiştir. Bu çalışmada ağır metal olarak bakır ve nikel iyonları incelenirken, metal iyonlarına alıştırılmış canlı *Candida sp.* mikroorganizmasının biyobirikimin yeteneği ortaya konmuştur. (Aksu and Dönmez 2000)

Aynı dönemde mikroorganizma olarak mikroalglerin kullanıldığı diğer bir çalışmada ise Lee ve Wang metal iyonlarının biyobirikimini incelemişlerdir. Bu çalışmada krom, kadmiyum, çinko ve bakır iyonları ağır metal olarak seçilmiş ve bu ağır metal iyonlarının biyobirikimi üzerine besin ortamı bileşenlerinin etkileri ortaya konulmuştur. Besin bileşenleri olarak test edilen maddeler ise amonyum, fosfat ve nitrattır. Nitrat derişimindeki artışın Cd(II) biyobirikim miktarını önemli derecede arttırdığını, buna karşın Cr(VI) ve Zn(II) biyobirikiminin, nitrat düzeyinden fazla etkilenmediğini göstermişlerdir. Bu çalışmalarda ayrıca Cd(II), Cr(VI) ve Zn(II)'nin biyobirikiminin amonyum derişiminden fazla etkilenmediğini, mikroalglerdeki Cr(VI) birikiminin ise artan fosfat derişimi ile arttığını da gözlemlenmiştir. (Ke and Wang 2001)

Dursun ve arkadaşları 2003 yılında yaptıkları çalışmada mikroorganizma olarak *Aspergillus niger* kullanmışlardır. Bu çalışmada Cu(II), Pb(II) ve Cr(VI) iyonlarının *Aspergillus niger*'in üremesi ve biyobirikimi üzerine etkileri incelenmiştir. İnceleme parametreleri olarak ise başlangıç metal iyonlarının konsantrasyonu ve başlangıç ortamındaki pH seviyeleri seçilmiştir. Çalışma neticesinde krom gibi ağır metallerin mikroorganizma üremesini inhibe ettiği, diğer metal iyonlarının bulunduğu ortamlarda ise biyobirikim veriminin çok düşük olduğu belirtilmiştir. (Dursun, Uslu et al. 2003)

Aynı dönemde yapılan bir çalışmada ise mikroorganizma olarak bir küf mantarı olan *Rhizopus delemar* kullanılmıştır. Bu çalışmada, Tsekova ve Galabova, *Rhizopus delemar*'ın atık sulardan Cu(II) iyonunun giderimi için biriktirebilme yeteneğinin yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır. (Tsekova and Petrov 2002; Tsekova and Galabova 2003)

Küf mantarlarında *Rhizopus* ile yapılan çalışmalara 2006 yılında da devam edilmiştir. Bu dönemde yapılan bir çalışmada Preetha ve Viruthagiri, kesikli reaktörde ağır metaller iyonlarından nikel(II), krom(VI) ve bakır(II) ile çalışmışlar ve bu iyonlarının giderimi için *Rhizopus arrhizus*'un biyobirikim yeteneğinden istifade etmişlerdir. Bu çalışmada krom(VI), bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının başlangıç metal iyon derişimi arttıkça *Rhizopus arrhizus*'un üreme özelliğinin düştüğünü belirtmişlerdir. (Preetha and Viruthagiri 2007)

Bazı çalışmalarda ise ortamda birden fazla metal iyonunun bulunduğu koşullar test edilmiştir. Bu gibi durumlarda mikroorganizmanın üremesini ve her bir metalin biyobirikimini etkileyen parametrelere ek olarak metal iyonunun türü, her birinin derişimi, metal iyonlarının karışım oranı gibi daha farklı parametreler de incelenecek unsurlar arasında gösterilebilmektedir.

Adsorpsiyon ve biyobirikimde bir mikroorganizma üzerine bir metal karışımının birleştirilmiş etkisi çok karmaşık olabilmektedir. Bu gibi durumlarda genellikle üç şekilde analiz düşüncesine gidilmektedir. (Ting, Lawson et al. 1989) Bunlar:

- a. Sinerjizm: Bu durumda karışımın etkisinin karışımındaki bileşenlerin tek tek etkilerinin her birinden daha büyük olduğu görülmektedir.
- b. Antagonizm: Karışımın etkisinin karışımındaki bileşenlerin tek tek etkilerinin her birinden daha küçük olduğu durumlardır.
- c. Etkileşimsizlik: Karışımın etkisi karışımındaki bileşenlerin tek tek etkilerinin her birinden bir farkının olmadığı durumları içerir.

2.8. Enzim

Enzimler, kimyasal tepkimelerin hızını artıran biyomoleküllerdir. Birer katalizör olan enzimlerin hemen hemen tamamı protein yapısındadır. Bir başka ifade şekliyle, biyolojik sistemlerdeki reaksiyonların canlılığa zarar vermeyecek ılımlı koşullarda gerçekleşmesini sağlayan biyokatalizörlere enzim denir.

Enzimlerin yer aldığı tepkimelerdeki enzim ile etkileşime giren moleküllere substrat denir. Enzimler kendilerine özgü substratları farklı moleküllere dönüştürür. Genelde hangi tepkimeler katalizleniyorsa ve bu tepkimelerdeki enzim-substratlar ilişkisi çok özgüdür. Enzim ve substratlarının birbirini tamamlayıcı şekil, yük ve hidrofilik-hidrofobik özellikleri bu özgüllüğü meydana getirir.

Bir canlı hücredeki tepkimelerin hemen tamamı yeterince hızlı olabilmek için substratları için son derece seçici olan enzimlere gerek duyar.

Enzimler, hücre içerisinde meydana gelen binlerce tepkimenin hızını ve özgüllüğünü kendisi değişikliğe uğramadan düzenleyebilir. Enzimler, molekülleri parçalar, birleştirir veya belirli grupları bir molekülden diğerine taşırlar.

Enzim proteinleri, genelde küresel yapıda olup, 20 çeşit doğal aminoasitten oluşan polipeptid yapıdaki biyomoleküllerdir. (Avcibası 1991; Cercioglu 1995)

Çizelge 2 Enzimlerin kataliz yöntemlerine göre uluslararası sınıflandırılmaları

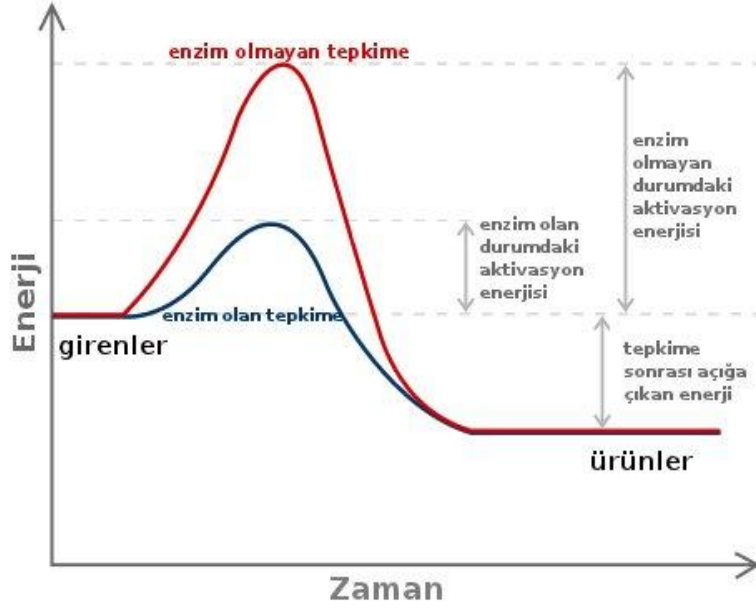
Enzim Komisyonu Numarası	Enzim Sınıfı	Kataliz İşlemi
EC1	Oksidoredüktazlar	Yükseltgenme-indirgenme
EC2	Transferazlar	Fonksiyonel grup aktarımı
EC3	Hidrolazlar	Hidroliz
EC4	Liyazlar	Grup ekleme ya da çıkarma
EC5	Izomerazlar	Izomerleşme
EC6	Ligazlar	Molekül birleştirme

Enzimlerin etkinliği onların üç boyutlu yapısı tarafından belirlenir. Çoğu enzim etki ettikleri substratlardan daha büyüktür. (Anfinsen 1973)

Sarmal biçimde kıvrılmış yüksek molekül ağırlığındaki proteinler olan enzimlerin içerdiği aminoasitlerin sayısı ve dizilişi her enzimin kendine özgü yapısını teşkil eder. Protein yapısındaki enzimlerin diğer kimyasal moleküllerden en belirgin farkı canlı bir hücrede oluşan kimyasal tepkimeleri katalizlemeleridir.

Çizelge 2’de görüldüğü şekliyle katalitik fonksiyonları bakımından enzimler 6 sınıfa ayrılırlar.

Enzimleri diğer katalizörlerden ayıran belirgin özelliklerden birisi biyokimyasal reaksiyonları düşük sıcaklıkta ve az enerji ile katalizleyebilmeleridir (Şekil 4).



Şekil 4 Kimyasal tepkimelerin enzim içeren ve içermeyen durumlara göre enerji – zaman eğrisi.

ε

geçiş halini daha kararlı konuma getirerek ürünlerin oluşması için gereken enerjiyi azaltır.

Normal laboratuvar koşullarında çok yüksek sıcaklık ve enerji gerektiren birçok kimyasal reaksiyon, enzimler sayesinde daha az enerji ile metabolik faaliyetlerin hüküm sürebileceği sıcaklıklarda gerçekleşebilmektedir.

Enzimlerin en önemli özelliklerinden birisi de reaksiyonları diğer katalizörlerden çok daha hızlı bir şekilde yürütmektedirler. Bazı enzimlerin bir dakikada milyonlarca molekülü etkilediği bilinmektedir.

Katalizörler kimyasal reaksiyonu başlatmayıp ölçülemeyecek derecede yavaş oluşan kimyasal reaksiyonların hızını arttırmaktadırlar. Enzimler, inorganik katalizörlere oranla aktivasyon enerjisini daha etkin bir şekilde düşürmektedirler. Böylece reaksiyonların daha düşük sıcaklık ve basınçta, az enerji ile yürümelerini sağlamaktadırlar. Bu sebepten ötürü endüstriyel uygulamalarında yüksek maliyetli korozyonu önleyici ekipmanlara ihtiyaç yoktur. (Avcibasi 1991; Fersht 1998)

Enzimler reaksiyonları özgül olmaları yani her bir enzimin reaksiyona spesifik olmasından ötürü karmaşık kimyasal reaksiyonlarda daha rahat işlemler yapılabilmektedir.

Enzimlerin bu tek tip bir reaksiyonu spesifik olarak katalizörlük görevini yerine getirmelerine karşılık kimyasal katalizörler, çok çeşitli kimyasal reaksiyonlarda katalizör olarak görev yaparlar. Bir enzim yüzlerce farklı atomdan oluşan bir kimyasal bileşiği etkilerken, bu molekülün belirli bir bölgesini seçerek buradan bir veya iki atomu veya fonksiyonel bir grubu, molekülün ana yapısını bozmadan koparır veya ilave eder. (Alptekin 2008)

Enzimler, substrata özgü olduklarından tepkime sonrası yan ürün oluşumunu engellerler. Asit, baz, metal ve metal oksit gibi anorganik katalizörlere kıyasla çok seçicilerdir. İstenmeyen yan ürün oluşumunun engellenmesi ve ürünün saflaştırma maliyetinin düşük olmasından dolayı da endüstriyel uygulamalarda tercih sebebi olabilmektedirler. (Piri 2003)

Ancak endüstriyel uygulamalarda genel olarak sulu çözeltiler kullanılmaktadır. Bu yüzden enzimlerden katalizör olarak istifade etmek çeşitli zorlukları da beraberinde getirmektedir. Bunlardan en önemlisi enzimin geri kazanılması durumundadır. Enzimler yüksek maliyetli biyokimyasallar olduklarından ve reaksiyon sonrası ortamda hala

bulunuyor olmalarından ötürü, yenilenecek üretim için de kullanılmak istenmektedir. Hâlbuki gerçekleşmiş olan bir evvelki reaksiyon sonucu ortam koşullarının enzimin yapısını bozabilecek koşullara gelmiş olması, enzimin tekrar kullanılabilmesi için önemli bir dezavantaj teşkil etmektedir.

Bunun yanısıra enzimlerin ortam koşulları elverdiği ölçüde tepkimeleri katalizlemeyi sürdüreceklerinden ötürü, tepkimenin istenilen koşullarda ve zamanda bitirilmesi için ortama inhibitör takviyesi yapılması gerekebilmektedir. Bazı durumlarda ise ortam koşullarının, örneğin ortamın sıcaklığının ürünün yapısını bozmayacak ama enzimi denatürülize edecek şekilde değiştirilmesi ile enzimin yapısı bozulacağından tepkimenin katalizlenmesi duracak ve ürün istenilen şekilde elde edilecektir.

Enzimlerin yüksek fiyatlı katalizörler olduğu dikkate alınırsa enzimlerin geri kazanılamaması tepkimelerin maliyetini yükselten önemli bir etkidir. Tüm bu sorunları çözebilmek ve enzimleri endüstride çekici hala getirebilmek için enzimler immobilize edilerek kullanılmaktadır. Enzimler jel, membran veya mikrokapsülleme yoluyla tutuklandıkları gibi adsorpsiyon yöntemleriyle de immobilize edilebilmektedirler.

Böylelikle tepkimelerin ilerleyişi içerisinde sıcaklık veya pH seviyesindeki değişimlerden ötürü enzim yapısı denatüre olamaz ve tepkime sonrasındaki geri kazanım imkânlarından ötürü tekrar kullanılmaları mümkün olmaktadır. (Bonnet, Andreescu et al. 2003)

2.8.1. Enzimlerin kimyasal yapısı

Aminoasitler birbirlerine peptid bağlarıyla bağlanarak enzim molekülünü oluştururlar. Bu sebepten enzimler biyolojik polimerlerdir, yani, enzimler biyokimyasal tepkimeleri katalizleyebilme özellikleri olan protein molekülleri olarak da değerlendirilebilirler.

Enzimlerin katalitik fonksiyonları, peptid bağında yeralan aminoasit miktarı, aminoasitlerin diziliş silsilesi, aminoasitler arasındaki hidrojen bağları, elektrostatik

çekim kuvvetleri ve disülfid bağlarına bağlı olan üç boyutlu sarmal yapıya ve etkin bölgelerindeki fonksiyonel grupların özelliklerine göre değişmektedir.

Enzimler iki temel yapı bölgesinden oluşmaktadırlar. Bunlar

- apoenzim ve

- koenzim

- kofaktör bölgeleridir.

Apoenzim ve koenzim bir araya gelerek haloenzim denen, enzimin esas yapısını ortaya koymaktadırlar. Eğer enzim, koenzim ve kofaktörü ile birlikte ve katalitik bakımdan tamamen aktif ise enzimin bu haline ancak haloenzim adı verilir.

2.8.1.1. Apoenzim

Enzimlerin özelliğini ve spesifik yapısını belirleyen kısım olan apoenzimlerin aminoasit parçaları ve bunların dizilişleri değişik yapıdaki tüm enzimlerde farklıdır. Apoenzim kısmı, enzimin nispeten daha büyük olan, esas protein kısmını teşkil eder. Eğer enzim koenzim ve kofaktörden ayrı ve inaktif hale gelecek olursa enzimin diyalize edilemeyen ve yalnız proteinden meydana gelmiş bu inaktif şekli apoenzimi teşkil eder.

2.8.1.2. Koenzim

Katalitik yapıyı enzime kazandıran kısımdır. Apoenzimler tek başlarına sadece protein yapısında büyük moleküllerdir. Enzimlerin aktivite göstermek için ihtiyaç duyduğu bu organik organik moleküllere kompleks yapıdadırlar.

2.8.1.3. Kofaktör

Kofaktörler enzimlerin aktivite göstermeleri için gerekli olan ve protein yapısında olmayan, genellikle metal iyonlarından meydana gelmiş yan gruplarıdır. Apoenzime katalitik aktivite özelliği veren kısım olan kofaktörler, apoenzimden ayrı halde bulunan aktif iyonlardan olup, enzim aktivitesi üzerinde aktivatör etkisi gösterebilmektedirler.

Enzimlere katalitik fonksiyonlar getiren diğer bir bölüm de bunlardır. Örneğin sitokrom oksidaz Cu(II), DNA polimeraz Zn(II)' ye kofaktör olarak gereksinim duymaktadırlar.

Apoenzimler katalitik etki gösteremezken, kofaktörler tek başlarına normal enzim yapısına nazaran çok düşük miktarda katalitik etkiye sahiptirler. Apoenzim ve kofaktör bir arada olduğunda ise gerçek enzim aktivitesi ortaya çıkmaktadır.

Bazı durumlarda ise tam ters etki görülebilmektedir. Birtakım ağır metal iyonları ise enzim aktivitesi üzerine toksik etki yaparak inhibitör etkisi gösterebilir. (Das, Samantaray et al. 1997)

Bazı hallerde enzim aktivite göstermek için hem kofaktöre hem de koenzime ihtiyaç duyabilmektedir.

Kofaktör ve koenzimler enzime gevşek veya sıkı şekilde bağlı olabilmektedirler. Enzim yüzeyine sıkıca bağlanmış ve protein yapısında olmayan bu gruplara prostetik grup adı verilmektedir.

Literatürde Rhizopus delemar mikroorganizmasının ürettiği lipaz ve asid fosfataz gibi enzimlerin üzerine hangi ağır metal iyonlarının kofaktör-aktivatör, hangilerinin inhibitör olarak etki ettiği ya da hangi ağır metal derişimlerinin üstünde, toksik etkinin başladığı üzerine bir çalışma yer almamaktadır.

2.8.2. Enzim aktivitesini etkileyen etkenler

2.8.2.1. Sıcaklık

Hemen hemen tüm enzimatik reaksiyonlar sıcaklığa bağılı olarak gerçekleşebilmektedir. Genellikle kimyasal tepkimelerin hızının sıcaklıkla artmasına rağmen enzimlerin rol aldığı tepkimelerde sıcaklık değerinin bir kısmını bulmaktadır çünkü belirli bir sıcaklığa ulaştıktan sonra enzimin yapısının bozulmasıyla birlikte deaktive olan enzim sonucu reaksiyon hızında bir gerileme görülmektedir.

Bu yüzden enzimlerin katalizlediği tepkimelerin hızları da optimum sıcaklığa kadar, sıcaklıkla doğru orantılı olarak artarken, belirli eşik değerinin üzerinde enzimlerin denatüre olmasıyla enzim aktivitesi düşüş gösterdiğinden optimum sıcaklıktan daha yüksek sıcaklık seviyelerinde tepkimelerde yavaşlamalar gözlenmektedir.

Sıcaklık yükselişinin devam ettiği durumlarda ise belirli bir seviyeden sonra enzim tamamen yapısını kaybederek etkisiz hale gelmekte ve bu da tepkimenin durmasına sebep olmaktadır.

Genellikle enzimlerin çoğu 50 °C ile 60 °C seviyelerinde inaktif hale gelmekte olsalar bile 80 °C ile 100 °C gibi aşırı sıcaklıklarda da aktivitelerini koruyan enzimler bulunabilmektedir. (Orhan 2002)

Enzimatik tepkimelerin hızında enzimin kaynağına göre de birtakım değişkenlikler gözlenebilmektedir. Genelde bitkisel kaynaklı enzimler 60-70 °C, hayvansal kaynaklı enzimler 30-35 °C de yüksek aktivite göstermektedirler. (Erdogan 2002)

2.8.2.2. pH

Enzimler biyolojik kökenli malzemeler olduğu için diğer biyolojik unsurların olduğu gibi enzimlerin de verimli oldukları pH seviyeleri bulunmaktadır. Enzim aktivitesinin maksimum olduğu pH değerleri, o enzim için optimum pH değerlerini teşkil etmektedir.

Bu değerde en yüksek seviyeleri görülen aktivitelerin, optimum pH değerinin altında ve üstünde düştüğü bilinmektedir.

Enzimlerin verimli oldukları pH aralıkları çok dardır. Biyolojik canlılarla ilişkili olduğu üzere genellikle bu değerler pH 5 ile pH 8 civarında görülmektedir. Çok düşük pH seviyelerinde, özellikle de pH 3 seviyesinin altında genellikle enzim aktivitesi tamamıyla bitmektedir. (Erdogan 2002)

2.8.2.3. Kofaktörlerin etkisi

Kofaktörler apoenzime kovalent bağ ile bağlanmış gruplar ile kovalent bağ ile bağlanmamış koenzimlerden oluşmaktadırlar. Kofaktörlerin apoenzimlere bağlanmış olma durumları tamamıyla enzim aktivitesine etki eden önemli etkenlerdendir. Genellikle iyonlar, enzimin aktif bölgesine veya başka bir bölgesine bağlanarak aktiviteyi arttırırken, buna karşın bazı durumlarda ağır metal iyonları inhibitör görevi görebilmektedirler.

2.8.2.4. Yüklü substratların iyonik şiddeti

Yüklü substratların enzimlere bağlanması esnasında iyonik şiddetin varlığından szedilebilmektedir. Bunun etkisi özellikle yüklü moleküllerin birbirine bağlı hareketleri ile gerçekleşen katalizlenme sırasında fark edilmektedir. Yüklü substratların enzimlere bağlanması ve yüklü grupların katalitik aktif bölge içindeki hareketi ortamın iyonik kompozisyonundan etkilenmektedir. (Piri 2003)

Enzimlerin aktivasyonu esnasında, apoenzim ve koenzimin yapılarının yanısıra birtakım özel metal iyonlarına da ihtiyaç duyulmaktadır. Bu metalik iyonlar enzimin kararlılığını yükseltmektedir. Kullanılan enzimin türüne göre, gerekli iyon konsantrasyonları da değişim göstermektedir. (Atkinson and Tuna 1991; Avcibasi 1991; Erdogan 2002)

2.8.2.5. Substrat konsantrasyonunun etkisi

Substrat konsantrasyonunun artması sabit enzim konsantrasyonunda reaksiyon hızını arttırmaktadır. Ancak belirli bir derişimden sonra enzim konsantrasyonunun da benzer bir artış gerçekleşmezse substrat konsantrasyonunun artması tepkime hızında herhangi bir artışa sebebiyet veremez.

Substrat konsantrasyonunun enzim konsantrasyonunda çok daha fazla olduğu tepkime ortamlarında aşırı substrat konsantrasyonundan ötürü enzim aktivitesinin düştüğü görülmektedir. Bunun sebebi fazla miktarda substratın enzimleri inhibe ederek, aktiviteyi düşürmesidir. (Orhan 2002)

2.8.2.6. Enzim konsantrasyonunun etkisi

Enzim konsantrasyonunun artması da tepkime hızına olumlu şekilde yansıyabilmektedir. Enzim tarafından katalizlenen bir tepkimenin başlangıç hızı ile ortamdaki enzim konsantrasyonu doğru orantılıdır. Bunun nedeni ise her enzim molekülünün diğer enzim moleküllerinden bağımsız olarak çalışması durumudur. Bu yüzden ortamda ne kadar çok enzim bulunuyorsa, tepkime o denli süratli olmaktadır.

2.8.3. Bitki ve hayvan kaynaklı enzim üretimi

Artık günümüzde ticari olarak önemli birçok enzim mikroorganizmalarca üretilip, saflaştırılmaktadır. Fakat bitkisel ve hayvansal orijinli enzimler de yok değildir.

Hayvansal kaynaklı enzim üretiminin sıkıntıları arasında mikrobiyal kaynaklılara göre daha düşük seviyede elde edilmeleri ve maliyet problemleri gösterilmektedir. Hayvansal enzimler genellikle sakatat denen organlardan elde edildiği için et endüstrisine doğrudan bağımlıdır. Bu da fiyatlandırmanın bir süreklilik arz edememesine sebebiyet vermektedir.

Hayvansal kaynaklı enzimler artık birkaç tane düzeyine inmiştir. Bunların en yaygın olanları pankreas lipazı ve tripsindir. Rekombinant DNA tekniklerinin de gelişim göstermesi sonucu mikroorganizma kökenli bu tür enzimler de proseslerde hayvansal enzimler gibi davranabilmektedir.

Bitkisel kaynaklı enzim üretiminde en cazip özellik, enzimlerin bitki özsularından bol miktarda ve kolayca elde edilebilmeleridir.

Ekonomik sıkıntıların yanısıra teknik olarak da hem hayvansal, hem de bitkisel kaynaklı enzim üretiminin handikapları bulunmaktadır. Bunların en önemlisi bu hücrelerin mikroorganizma hücreleri ile kıyaslanamayacak kadar yavaş üremeleridir. (Orhan 2002)

Yapılan araştırmalar sonucu bitki ve hayvan kökenli enzim üretimi, mikroorganizmalarca üretilen enzime nazaran neredeyse bin misil daha pahalıdır. Bu da endüstriyel uygulamalarda artık neredeyse tamamen mikroorganizmaların kullanılması sonucu doğurmaktadır. (Gacesa, Hubble et al. 1992; Saxena, Ghosh et al. 1999; Hasan, Shah et al. 2006)

2.8.4. Mikroorganizma kaynaklı enzim üretimi ve kullanımı

Enzimlerin katalizör olarak diğer kataliz yeteneği olan kimyasallara nazaran üretimleri 1970'li yıllara kadar oldukça kısıtlı imkânlarda gerçekleştirilebilmekteydi. O döneme kadar enzimlerin en iyi kaynakları olarak bitki ve hayvan materyalleri kullanılmaktaydı. Gelişen endüstrinin ihtiyaçları doğrultusunda yapılan çalışmalar neticesinde mikroorganizma kökenli enzimler farkedilmiş ve bu konuda önemli çalışmalara ve başarılarla imza atılmıştır.

Artık, günümüzde mikrobiyal kaynaklı enzimler oldukça etkin bir şekilde kullanılmaktadır. Bunların gerek ekonomik, gerekse de teknik avantajlarından ötürü önemleri giderek artmaktadır. (Cherry, Hossain et al. 2004)

Endüstrinin hemen her alanında kullanılan mikroorganizma kaynaklı enzimlerin bitkisel ve hayvansal kaynaklı enzimlere nazaran tercih sebebi olabilecek avantajları arasında aktivitelerinin çok yüksek olması, pek çok koşulda daha stabil olmaları ve elde edilme proseslerinden ötürü çok daha ucuza mal olmaları ile çok yüksek miktarda ürüne hızla ulaşılabilmesi belirtilebilir. (Fogarty and Kelly 1983)

Mikroorganizmaların enzim üretimi konusunda tercih nedenlerinden bir diğeri de yüzey alanı/toplam hacim hesaplamaları gözönüne alındığından, diğeri enzim kaynaklarına göre oldukça fark atıyor olması gösterilebilir. (Rose 1980)

Mikroorganizmalarca çok çeşitli reaksiyonların gerçekleştiriliyor olması, bunlardan değişik sentezlerin yapılabilmesine de imkân tanımaktadır. Farklı çevrelere çok kolay adapte olma yetenekleri sayesinde, mikroorganizmaların üretim esnasındaki sıkıntıları kolayca halledilebilmektedir.

Ucuz karbon ve azot kaynaklarında gelişebilme yetenekleri sayesinde enzim gibi oldukça değerli bileşiklerin üretimi daha düşük maliyetler çerçevesinde gerçekleştirilebilmektedir.

Geniş bir çeşitliliğe sahip olmaları nedeniyle, farklı türlerin aynı reaksiyonu katalizleyen oldukça farklı enzimleri üretmesi, reaktördeki işletim şartlarına da bir esneklik sağlar.

Mikroorganizmalar ürettikleri enzimi gerek hücre içinde tuttıkları gibi, gerekse de hücre dışına salgılayabilmektedir. Hücre dışı üretilen enzimlerin avantajları daha çoktur. Enzim dışarıya salgılandığı için, intrasellüler enzimi hücre dışına çıkarmak için gerekli olan hücre parçalama gibi yöntemlere gereksinim duyulmaz. (Asano 2002)

Intrasellüler enzimler hücre içindeki diğeri proteinlerle aynı ortamda olduklarından protein saflaştırması daha zordur. Hâlbuki ekstrasellüler enzimlerin saflaştırılması daha uygundur.

Bununla birlikte hücre dışı enzimler, hücre içi enzimlere oranla hücre dışına salgılandıklarından daha kuvvetli bir yapıya sahiptirler.

Bu koşullardan ötürü endüstriyel uygulamalarda hücre dışı enzim üretimi yöntemleri ve bu doğrultuda ürün elde edilmesi daha cazip olup, çok daha fazla uygulanmaktadır. (Orhan 2002)

2.8.5. Lipaz enzimi

Lipaz enzimi, gliserin ile yağ asitlerinden oluşan esterleri hidroliz eden hidrolaz enzimleri arasında en yaygın olarak kullanılanlarındandır.

Hidrolaz olarak lipitlerin ester bağlarının hidrolizini katalizleyen lipazlar esterazların bir alt sınıfını oluşturmaktadır.

Lipazlar, çoğu canlıda gıdasal lipitlerin (yani trigliseritlerin) sindirimi, taşınması ve işlenmesinde önemli rol oynarlar. Bazı virüslerde dahi lipaz genleri bulunur.

Uluslararası biyokimya Birliği Enzim Komitesi'nin numaralandırma sistematğine göre lipaz enzimlerinin kodlanması şu şekildedir:

3. Hidrolaz enzimleri

3.1 Ester bağını etkileyen hidrolaz enzimleri

3.1.1 Karboksilik hidrolaz enzimleri

3.1.1.3 Gliserol-ester hidrolaz enzimleri

Bu çalışmada incelenen enzim 3.1.1.3 kodlu Gliserol-ester hidrolaz enzimi olan lipazdır.

Lipazlar gerek bitkisel, gerek hayvansal, gerekse de mikrobiyal kaynaklardan elde edilebilmektedir.

Bitkisel lipazlar bitkinlerin kök ve dokularında yer alırken, hayvansal lipazlar hayvanların pankreas, karaciğer gibi doku, organ ve vücut sıvılarında yer almaktadır.

Mikroorganizmaların pek çoğunun hücre sıvılarında da lipaz enzimi bulunmaktadır.

Örneğin, bu çalışmada da kullanılmış olan misel yapılı küf mantarı *Rhizopus delemar*'ın, ikincil değil birincil esterlerin hidrolizi için çok yüksek seçicilik gösteren dış hücresel lipazlar ürettiği bilinmektedir.

Mantar ve bakterilerden elde edilen lipazlar eski çağlardan beri yoğurt ve peynir yapımında önemli rol oynamaktadırlar. Bunların yanısıra, modern uygulamalarda lipazlar lipitlerin yıkımı için kullanılan ucuz ve çok yönlü katalizörler olarak değerlendirilmektedir. (Orhan 2002)

Lipazlar son yıllarda oleokimya, organik sentez, deterjan bileşimlerinin formülasyonu ve gıda alanında sadece endüstriyel enzim olarak değil, endüstriyel olarak önemli materyallerin hazırlanması için katalizör olarak da kullanılmaya başlanmıştır. (Omar, Malaysia et al. 1997)

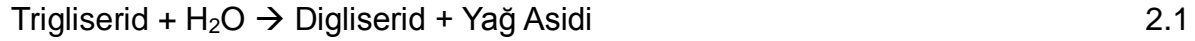
Eczacılıkta transesterifikasyon ve hidroliz reaksiyonlarında kullanılan lipazlardan, kozmetik endüstrisinde kullanılan ham kimyasal maddelerin sentezlenmesinde, deri, kağıt ve deterjan endüstrilerinde de yağların hidrolizi amacı ile yararlanılmaktadır. (Yamane 1987)

2.8.6. Hidroliz tepkimeleri

Yağların hidrolizi iki şekilde gerçekleşebilmektedir. Bunlar, kimyasal ve enzimatik yöntemlerdir.

Bitkisel yağların ana bileşeni, yağ asitlerinin gliserin ile yaptığı trigliserid esterleridir. Yağ ile suyun reaksiyona girerek, gliserin ve üç mol yağ asidi oluşturduğu reaksiyon olarak tanımlanan hidroliz reaksiyonu toplam 3 aşamada gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonda digliserid ve monogliseridler oluşmaktadır. (Gandhi 1997; Shimada 2001)

Lipazların katalizör olarak yer aldığı trigliserid hidrolizi tepkimesinin basamakları Eşitlik 2.1, 2.2 ve 2.3'de gösterilmektedir. (Orhan 2002)



Kısaca hidroliz tepkimesi şu şekildedir:

- 1) İki izomerik digliserid oluşumu
- 2) 1 ve 2 monogliserid oluşumu
- 3) Gliserin oluşumu

Hidroliz reaksiyonu, yağ suda çözünmediği için su ile yağın ara fazında gerçekleşir. Suyun yağdaki çözünürlüğü, yağın sudaki çözünürlüğünden daha fazla olduğundan, hidroliz reaksiyonu yağ fazında çözünmüş suyun etkisi ile oluşan homojen reaksiyon olarak da tanımlanabilmektedir. (Alptekin 2008)

Bu reaksiyon oldukça karmaşık yapıda bir reaksiyondur. Homojenizasyon hidroliz tepkimeleri için çok önemli bir kriterdir. Optimum homojenite koşullarında en fazla çözünürlüğe sahip olduğunda verim maksimize olur.

Hidroliz tepkimelerinin hızı, başlangıçta suyun yağdaki çözünürlüğünün az olmasından ötürü yavaştır. Sonraki süreç içerisinde yani orta evrede reaksiyon hızlanır. Bunun nedeni suyun digliserid ve monogliseridlerle artan bir çözünürlüğe sahip olmasıdır. Bitiş döneminde ise tepkime hızı düşmeye başlar. (Adler-Nissen 1986)

Bu reaksiyonlarında katalizör, pH, sıcaklık, basınç, su/yağ oranı, hidroliz sonucu oluşan gliserinin uzaklaştırılması gibi etkenlerin uygun seçimi verimli bir ürün elde edilmesini sağlamak için çok önemlidir. Sıcaklık ve basıncın artması suyun yağ fazındaki çözünürlüğünü arttırdığından, reaksiyon hızının da artmasını sağlamaktadır. (Adler-Nissen 1986)

Bunların yanı sıra birtakım asitler, bazı metal oksitler ile özellikle çinko ve magnezyum oksitler hidroliz tepkimesinin hızını tetiklemektedir. Bu maddeler katalizör görevlerinin yanı sıra, suyun yağ fazındaki emülsiyonunu ilerleterek tepkime hızını olumlu yönde etkilemektedirler. (Björkling, Godfredsen et al. 1991)

Hidroliz reaksiyonu geri dönüşümlü bir reaksiyondur. Ortamdaki gliserin uzaklaştırılmadığı takdirde hidroliz ve esterleşmenin sürekli gerçekleştiği denge noktasına ulaşılır ve bundan ötürü tepkimenin tamamlanana kadar ilerleyebilmesi için ortamdaki gliserinin çekilmesi gerekmektedir. (Alptekin 2008)

Hidroliz reaksiyonları kimyasal katalizör veya enzimlerin katalitik etkisi altında gerçekleşebilmektedir. (Pattison 1968; Johnson and Fritz 1989)

Enzimatik hidroliz reaksiyonu, düşük sıcaklıklarda gerçekleştiğinden yağ yapısal olarak bozunmaya uğramaz ve böylece reaksiyon sonunda oldukça kaliteli ürün elde edilmektedir. Bunun yanı sıra enzimatik tepkime atmosferik basınç ve oda sıcaklığında gerçekleştiğinden enerji açısından da oldukça ekonomiktir. (Johnson and Fritz 1989)

3. DENEY YÖNTEMLERİ

Rhizopus delemar küf mantarının ağır metal giderimi ve ekstrasellüler lipaz enzimi özelliklerinden yararlanılan çalışmalar üç temel analiz yöntemi içermektedir. Bunlar;

- a. Enzim aktivitesi analizi
- b. Biyobiriktirilen ağır metal tayini
- c. Mikroorganizma konsantrasyonu ölçümü

Bu analiz yöntemleriyle birlikte ağır metal giderimi incelenecek üç ağır metal seçilmiştir. Bunlar ise;

- a. Cd(II)
- b. Cu(II)
- c. Zn(II)

Ayrıca, başlangıçta ağır metal içermeyen koşullarda da yukarıda belirtilen analizler gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerden enzim aktivitesi analizi ile mikroorganizma konsantrasyonu ölçümü başlangıçta ağır metal içermeyen koşullarda test edilebilirken, başlangıçta ağır metal olmaması nedeniyle bu deney setlerinde biyobirikim incelemeleri söz konusu olmamıştır.

Bir sonraki bölümde ayrıntılı sonuçları gösterilen deneyler ise iki ana şekilden oluşmaktadır.

1. Mikroorganizmaların davranışlarının incelendiği süreç gözleme ve inceleme deneyleri

2. Belirlenen parametreler doğrultusunda gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi, ağır metal biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu çalışmaları

Görüldüğü üzere hangi deney olursa olsun, bütün proses için bir ortam yürütücüsü yani mikroorganizmaya ihtiyaç bulunmaktadır. Bu sebepten ötürü çalışmalarda kullanılacak olan mikroorganizmanın tedarik edilmesi gerekmektedir.

3.1. *Rhizopus delemar* Küf Mantarının Temini ve Üretilmesi

Çalışmalarda kullanılacak olan *R. delemar* mikroorganizması Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar Bölümü'nden (United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service) getirilerek, Türkiye'deki ekimi ve üretimine başlanmıştır.

Yurtdışından getirilerek çalışmalarda kullanılacak olan mikroorganizmanın NRRL numarası 1472'dir.

Getirilen mikroorganizmalar dondurulmuş şekilde olduklarından, bu mikroorganizmaların besin ortamlarında tekrar faal hale getirilmesi ve üretilmesi için çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Liyofilize halde getirilen *R. delemar*, iki çeşit yöntem uygulanarak üretilmeye başlatılmıştır. Bunlar sıvı besin ortamına eklenme ve katı agar ortamına yerleştirilme şeklindedir. İki yöntem denenmesinin sebebi, bu mikroorganizmanın ilk başta sıvı ya da katı ortamlardan hangisinde daha rahat ve kontrollü şekilde üreyebileceğini güvenceye almak içindir. Hızlı bir şekilde üreyen ve daha ziyade dominant olan bu küf mantarı, her iki ortamda da tatmin edici üreme sergilemiştir. Böylelikle ilk üreme çalışmalarında herhangi bir mikroorganizma kaybı oluşmamıştır.

Çalışmalara sıvı besin ortamında üremesine başlatılan mikroorganizmalarla devam edilmiştir.

3.2. Besin Ortamları

Liyofilize haldeki mikroorganizmaların çalışmalarda kullanılacak besin ortamlarına alıştırılması için bazal metabolizma seviyelerini koruyacakları koşullarda alıştırma ve üretilme uygulamaları gerçekleştirilmiştir.

Çizelge 3'te konsantrasyonları ile birlikte görüldüğü üzere, bu ortamlarda karbon yani enerji kaynağı olarak sakkaroz, azot kaynağı olarak maya özütü, mineral gereksinimleri için de potasyum, kükürt ve magnezyum içeren bileşenler kullanılmıştır.

Mikroorganizmalar besin ortamları içerisinde üremeye başladıktan 5 gün sonra, yeni besin ortamlarına aşılansak mikroorganizma kalitesi korunmuştur.

Bununla birlikte deneysel çalışmaların yapılacağı besin ortamlarında karbon kaynağı olarak melas takviyesinde bulunulmuştur. Doğal sakkaroz kaynağı olan melas, şeker pancarlarının işlenemeyen, proses atığı olan bölümlerinden oluşmaktadır. Bu proses şeker kristalleşmesindeki nihai proste olup, bu esnada oluşan şurup atığı olan melas şeker, organik ve inorganiklerin %84 (w/w) oranında olduğu bir derişik çözeltilidir.

Melas yaklaşık % 50 (w/w) oranında kuru ağırlığında şeker ihtiva etmektedir. Bu şeker esas olarak sakarozdan oluşmaktadır. % 11 (w/w) oranında proses külü ve % 7-8 oranında azot bileşenleri içermektedir.

Melas bileşenleri arasında ayrıca eser miktarda K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} , Al^+ , Cl^- gibi elementler ve SO_4^{-1} , PO_4^{-1} , NO_3^{-1} , ile metal oksit ve asit anhidritler de bulunmaktadır. (Acikel, Acikel et al. 2011)

Ankara Şeker Fabrikası'ndan temin edilen melas çok derişik bir madde olduğu için besin ortamına eklenmeden önce seyreltilmiştir.

Çizelge 3 Mikroorganizmaların ortama alıştırma koşullarındaki besin ortamları bileşenleri

Besin Ortamı Bileşeni	Konsantrasyon (g/L)
Sakkaroz	5.0
Maya Özütü	2.0
K_2HPO_4	0.5
KH_2PO_4	0.5
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.5

Deneysel çalışmaların lipaz enzimi aktivitesi içermesinden ötürü, besin ortamlarına ayrıca enzim aktivitesini tetikleyici bileşenler de eklenmiştir. Ayçiçek yağı ve tween 80 eklenmesiyle birlikte çalışmalarda kullanılacak besin ortamları tam haliyle şekillenmiştir.(Çizelge 4)

TÜBİTAK MİSAG-282 no'lu projede belirtilen şekliyle de *R. delemar*'ın üretimi için en uygun pH, sıcaklık, karbon ve azot kaynakları, indükleyiciler ve yüzey aktif maddeler saptanmıştır. (Sag 2006)

Besin ortamı bileşenleri ayçiçek yağı hariç, tamamıyla yurtdışı menşelidir.

Besin ortamlarının hazırlanmasında tartım işlemleri için Sartorius ED224S cihazı kullanılmıştır.

Besin ortamlarında kullanılan kimyasalların listesi Çizelge 89'da görülebilir.

Çizelge 4 Deneysel çalışmalarda kullanılan besin ortamı bileşenleri

Besin Ortamı Bileşeni	Konsantrasyon (g/L)
Melas	1.0
Sakkaroz	5.0
Maya Özütü	2.0
K ₂ HPO ₄	0.5
KH ₂ PO ₄	0.5
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.5
	% Hacim
Ayçiçek Yağı	0.5
Tween 80	1.0

3.3. Deney Sistemleri

Yapılan deney çalışmasına göre besin ortamlarına ağır metal eklemesi ile pH ayarlamaları gerçekleştirilmiştir. pH ayarlamalarında asidite kullanılan ağır metalin içinde bulunduğu bileşiğe göre seçilmiştir. Çalışmada kullanılan ağır metallerin içinde bulunduğu kimyasalların listesi Çizelge 90'da verilmiştir.

Çalışmada pH ayarlaması için yararlanılan pHmetre cihazı Eutech Instruments Cyberscan PCD5500'dür. Ayrıca çalışma boyunca kullanılan tüm reaktörler 250 mL'lik

Erlen-Meyer kaplardır. Bu reaktörlere 100 mL besin ortamı eklenerek deney düzenekleri oluşturulmuştur.

Gerek başlangıçta ağır metal, gerekse de başlangıçta ağır metal ihtiva etmesin, tüm reaktörlere besin ortamı eklenir eklenmez, sargı bezi ve pamuktan oluşan tıpa cinsi kapakları kapatılarak sterilizasyon işlemine tabii tutulmuşlardır. 121 °C sıcaklıkta, 20 dakika boyunca, basınç altında otoklavlanma işleminin ardından, otoklavdan alınarak soğutulmaya bırakılmışlardır. Otoklav olarak kullanılan cihaz Raypa Steam Sterilizer Stericlav-S AES 75'tir.

Otoklavdan alınıp, soğutulan besin ortamlarına, uyum fazından alınan mikroorganizmaların ekimi gerçekleştirildikten sonra, inkübasyon periyodu için inkübatörlere yerleştirilmiştir. Oda sıcaklığı ve yüksek sıcaklık çalışmaları için çalkalama frekansları birbirinin aynı olan iki değişik inkübatör kullanılmıştır. Bu inkübatörlerin farkı, sıcaklık ayarı özelliği taşıyabilmektir. Sıcaklık ayarlı inkübatör ile oda sıcaklığı olarak kabul edilen 24 °C'den yüksek sıcaklıktaki deneyler rahatlıkla gerçekleştirilmiştir. İnkübatör olarak kullanılan cihaz Edmund Bühler GMBH SM30 – TH30'dur.

3.4. Analiz Yöntemleri

Çalışmalarda üç parametre sürekli olarak kontrol ve takip edilmiştir. Her deney için şayet kriterler uyuyorsa bu parametreler incelenmiştir. Sadece başlangıç metal konsantrasyonu içermeyen koşullarda gerçekleştirilen deneyler için iki parametre ölçülmüştür. (Çizelge 5)

Çalışma ve Bulgular Bölümü'nde sayfa 77 içerisinde ayrıntılı şekilde açıklanan başlangıçta Cd(II) içeren ortamlarda gerçekleştirilen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde anlatıldığı üzere Cd(II) ağır metalinin toksik etkisi nedeniyle, enzim aktivitesi deneylerinde elde edilen sonuçların belirli bir düzende bulunamamasından ötürü Cd(II) için biyobirikim ve mikroorganizma konsantrasyonu deneyleri gerçekleştirilmemiştir.

Çizelge 5 Ortam metal içeriğine göre analizi yapılan parametreler

Başlangıç Ortamı	Ölçülen Parametreler		
	Enzim Aktivitesi	Biyobirikim	Mikroorganizma Konsantrasyonu
Metalsiz	•		•
Cd(II)		•	
Cu(II)	•	•	•
Zn(II)	•	•	•

3.4.1. Lipaz enzimi aktivitesi tayini

Lipaz enzimi aktivitesi bir spektrofotometrik yöntem olan paranitrofenilpalmitat yöntemi ile belirlenir. (Vorderwulbecke, Kieslich et al. 1992)

Bu yöntemde, p-nitrofenilpalmitat, lipaz enzimi için substrat olarak kullanılmaktadır.

Bu yöntemde iki ayrı çözelti hazırlanmaktadır. Bunlar Çözelti A ve Çözelti B olarak kodlanmışlardır.(Çizelge 6)

Çözelti A ve Çözelti B ayrı kaplarda hazırlanırlar. Hazırlandıktan sonra Çözelti A ve Çözelti B yavaşça birbirlerine karıştırılırlar ve böylelikle 100 mL'lik bir esas çözelti elde edilir. Bu esnada kapların çeperlerinde malzeme kalmamasında dikkat edilmelidir.

Hazırlanan esas çözeltinin pH'sı tris tamponu yardımıyla 8.5'e getirilir. Böylelikle lipaz enzimi tayini için substrat ortamı hazırlanmış olur.

Çizelge 6 Lipaz enzimi aktivitesinin p-NPP yöntemiyle tayini için hazırlanan çözeltiler

Çözelti A		Çözelti B	
p-NPP	30 mg	triton-x	0.4 g
propanol	10 mL	arap zamkı	0.1 g
		distile su	90 mL

Enzim aktivitesi ölçülecek olan deney setinden 5 mL'lik bir çözelti çekilir. Bu çözelti, içerisindeki safsızlıklardan ve mikroorganizma parçalarından arındırılmak için santrifüjde 5000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenir.

Çalışmalarda santrifüj cihazı olarak Hettich Zentrifugen Universal 320R ve Nüve NF 615 kullanılmıştır. Ayrıca lipaz enzimi aktivitesi çözeltilerinde kullanılan kimyasalların özellikleri Çizelge 91'de verilmiştir.

Çözelti A ve Çözelti B'nin karışımından oluşan esas çözeltilerden 9 mL alınarak 25 mL'lik Erlen-Meyer kaba konur. Santrifüjlenen 5 mL'lik çözeltilerden ise 1 mL alınarak 9 mL'lik çözeltinin içine eklenir. Kör numunesinin ölçümü için ise 9 mL'lik çözeltinin içine 1 mL saf su eklenir.

Elde edilen 10 mL'lik çözelti seri bir şekilde 37 °C'de 150 rpm hızındaki manyetik karıştırıcı içerisinde 32 dakika boyunca karıştırılır. Her 4 dakikada bir çözeltilerden örnek alınarak, spektrofotometrede 410 nm dalga boyunda absorbans analizi gerçekleştirilir. Çalışmada kullanılan spektrofotometre cihazı olarak Spectronic Instruments Spectronic 20 Genesys ve sıcaklık ayarlı manyetik karıştırıcı olarak ise Heidolph Instruments D91126 kullanılmıştır.

Okunan absorbans değerlerinin zamana karşı çizilen grafiğinden oluşturulan hesaplanan kalibrasyon eğrilerinden enzim aktivitesi hesaplamaları geręekleřtirilir.

Bir ünite lipaz aktivitesi, 37 °C'de, bir dakika içerisinde tüketilen 1 µmol p-nitrofenilpalmitat olarak ifade edilir.

3.4.2. Biyobiriktirilen ağır metal tayini

Çalışmada optimizasyon koşulları incelenek olan Cd(II), Cu(II) ve Zn(II) ağır metallerinin biyobirikim değerleri atomik absorpsiyon spektrofotometresi kullanılarak ölçölmüştür. Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümü temel analiz laboratuvarındaki Thermo Scientific Ice 3000 marka ve modelindeki atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile ölçümler geręekleřtirilmiřtir.

Biyobirikim tayini yapılacak olan deney setinden 2 mL'lik bir çözelti çekilir. Bu çözelti atomik absorpsiyon spektrofotometre cihazında verilmeden önce içerisindeki safsızlıklardan ve mikroorganizma parçalarından arındırılmak için santrifüjde 5000 rpm'de 5 dakika boyunca santrifüjlenir.

Santrifüjlenen çözeltden alınan numuneler seyreltme tüplerine konarak seyreltmeleri geręekleřtirilir ve ölçümleri atomik absorpsiyon spektrofotometresinde geręekleřtirilir. Cihaz okuması sonucu elde edilen değerler ve seyreltme oranları doğrultusunda çözelti içerisindeki ağır metal konsantrasyonu sonuçları elde edilmiş olur.

3.4.3. Mikroorganizma konsantrasyonu ölçümü

Mikroorganizma derişimleri spektrofotometrik yöntemle elde edilmiştir.

Bunun için 1 g/L'ye kadar değişik derişimlerde *Rhizopus delemar* içeren çözeltilerin, 360 nm dalga boyunda absorbans okumalarıyla yaş mikroorganizma eğrisi elde edilmiştir. Bu eğrinin eğimi hesaplanmıştır.

Çalışma boyunca belirtilen bütün mikroorganizma konsantrasyonlarında kuru mikroorganizma ağırlığı esas alınmıştır. Bundan ötürü, yaş mikroorganizma ile kuru mikroorganizma arasındaki ilişkinin hesaplanması gerekmektedir.

Kuru mikroorganizma ağırlıklarının hesaplanması için, mikroorganizmalar sıvı besin ortamında üretilmiş, daha sonraki aşamada santrifüjlenerek ayrılmış, ayrılan mikroorganizmalar ise çeşitli ağırlıklarda tartılarak 50 °C'deki etüvde kuruyana kadar bekletilmişlerdir. Kuru ağırlıklar sabitlendikten sonra nihai kuru ağırlıkları belirlenmiştir. Kuru ağırlığa karşı yaş mikroorganizma ağırlıkları grafiğe geçirilerek *Rhizopus delemar* için yaş-kuru mikroorganizma çalışma doğrusu elde edilmiştir. Çalışmada etüv olarak Labart marka cihazdan yararlanılmıştır.

Mikroorganizma konsantrasyonu tayini için besin ortamından alınan 5 mL'lik örnek, 5000 devirde, 10 dakika boyunca santrifüjlenmiş, santrifüj tüpünün dibinde kalan mikroorganizma kütlesi saf su ile tekrar 5 mL'ye seyreltilerek 360 nm dalga boyunda kör çözeltisine yani saf suya karşı absorbansı okunmuş ve yukarıda belirtilen dönüşüm eğrileri kullanılarak kuru mikroorganizma ağırlığı saptanmıştır.

4. ÇALIŞMA VE BULGULAR

Düşük derişimde ağır metal iyonları içeren kentsel atık sularda ve deri endüstrisi gibi hem ağır metal iyonlarını, hem de lipid kirliliğini içeren endüstriyel atık sularda, *R. delemar* mikroorganizması kullanılarak gerçekleştirilen lipaz enzimi üretimi ile bir yandan şebekelerde büyük sıkıntı yaratan lipid kirliliğinin giderilmesi, bir yandan da *R. delemar*'ın biyobirikim ve biyosorpsiyon mekanizmaları ile ağır metal iyonlarının atık sulardan uzaklaştırılması fikrinin altyapısı olaması planlanan bu tez çalışmasında, optimum koşulları incelenmek üzere olarak üç ağır metal seçilmiştir.

Bunlar, **Cd(II)**, **Cu(II)** ve **Zn(II)**'dir.

Çalışmalarda izlenen iş planları çerçevesinde öncelikli olarak çeşitli koşullardaki besin ortamlarında biyobirikim ve enzim aktivitesi özelliklerinden yararlanılacak olan mikroorganizmaların aşu miktarı tayini bulunmaktadır.

Aşu miktarı tayininden sonra ise değişik başlangıç metal konsantrasyonlarında ve iki değişik pH ile sıcaklık değerinde, dokuzar günlük enzim aktivitesi, biyobirikim ve mikroorganizma konsantrasyonu tayini çalışmalarının yer aldığı süreç gözleme ve inceleme deneyleri gerçekleştirilmiştir.

Bu deneyler ve bilgisayar destekli istatistiki bir yazılım programı kullanılarak belirlenen koşullarda enzim aktivitesi, biyobirikim ve mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

4.1. Aşu Miktarının Belirlenmesi

Besin ortamlarına eklenecek mikroorganizma konsantrasyonunun belirlenmesi için üremekte olan mikroorganizmaların aşu ortamlarında, mikroorganizmalar beş değişik hacimde alınarak, lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişiminin inceleneceği birbirlerinin aynı besin ortamlarına ekilmiştir.

Bu hacimler, 1, 2, 3, 4 ve 5 mL şeklindedir. Tüm deneylerde kullanılan besin ortamları toplam 100 mL'lik hacme sahip olduklarından, en fazla % 5'lik bir aşılama dozajına karar verilmiştir.

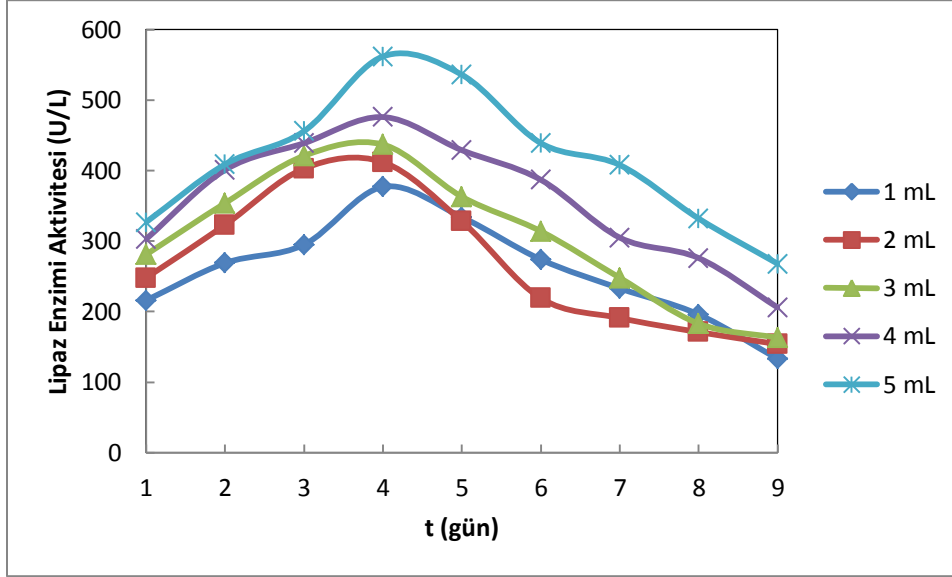
Daha sonraki bölümlerde ayrıntılı şekilde gösterilecek olan süreç gözleme ve inceleme deneylerinde olduğu gibi, mikroorganizma aşı miktarının belirlenmesi için, dokuz günlük dönemler içerisinde lipaz enzimi aktivitesi ölçümleri yapılmıştır.

Çizelge 7 ve Şekil 5'te görüleceği üzere, 4. günde tüm aşı miktarlarında lipaz enzimi aktiviteleri en yüksek seviyelerde ölçülmüştür. En yüksek enzim aktivitelerinin sıralamasına bakıldığında ise 562 U/L ile 5 mL'lik mikroorganizma ekiminde 4. günde elde edildiği görülmektedir.

Çizelge 7 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), ağır metal iyonları içermeyen ortamlardaki mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

Aşı Miktarı (mL)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	216	269	295	377	334	274	233	196	133
2	248	323	403	412	328	219	191	171	154
3	281	354	421	437	363	314	248	183	163
4	303	401	439	476	429	387	305	276	206
5	327	409	456	562	536	439	408	332	268

Enzim aktivitelerinde mikroorganizma ekimi olarak 5 mL seçilen deney setlerinde, 1, 2, 3 ve 4 mL'lik ekimlere göre daha yüksek, daha belirgin veriler elde edilmiştir. Sonuç olarak, tüm deney setlerinde 5 mL'lik mikroorganizma ekimine karar verilmiş ve bundan sonraki tüm uygulamalar bu şekilde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), ağır metal iyonları içermeyen ortamlardaki mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

4.2. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Gerçekleştirilen Deneylerdeki Parametrelerinin Oluşturulması

Kesikli karıştırmalı kaplarda gerçekleştirilen deneylerde, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi, biyobiriktilen ağır metal iyonları ile mikroorganizma konsantrasyonlarının dokuzar gün boyunca zamanla değişimi incelenmiştir. Bu deney setlerinde, parametreler dört ana şekilde oluşturulmuştur.

Bunlar;

- pH 5 ve oda sıcaklığı (24 °C)
- pH 8 ve oda sıcaklığı (24 °C)
- pH 5 ve 35 °C
- pH 8 ve 35 °C

pH 5 ve pH 8 gerek enzim aktivitesi, gerekse de mikroorganizmanın metabolik faaliyetleri için iki sınır değeri olarak ele alınmıştır. Bu değerlerin dışında kalan bölgelerde mikroorganizmaların lipaz enzimi aktivitesi özelliklerinde düşme olduğu bilinmektedir. (Koblitz and Pastore 2006)

Oda sıcaklığı (24 °C) ve 35 °C sıcaklık değerlerinin belirlenmesinde de benzer faktörler göz önünde tutulmuştur. Gerek mikroorganizmanın lipaz enzimi aktivitesi, gerekse de biyobirikim için ağır metallerin davranışları dikkate alınarak bu parametreler oluşturulmuştur. (Nahas 1988)

Çizelge 8 Başlangıçta ağır metal iyonları içeren ortamlarda, süreç gözleme ve inceleme deneylerinde çalışılan ağır metal konsantrasyonları

Ağır Metal Konsantrasyonu (mg/L)	Ağır Metal		
	Cd(II)	Cu(II)	Zn(II)
5	•	•	•
10	•	•	•
15	•	•	•
20	•	•	•
30	•	•	•
50	•	•	•
100	•	•	•
150	•	•	•
200	•	•	•

Bunlarla birlikte, çalışmanın uygulamaya aktarılabilmesi için, hem çalışma koşullarının sağlanabileceği düşük maliyetli bir mekanizma gerçekleştirilmeli, hem de mekanizma içerisindeki her bir unsur verimli bir şekilde çalışabilmelidir. Maliyet önemli bir kriterdir

çünkü konvansiyonel arıtma uygulamalarında, tatbik esnasında yüksek maliyetler, önemli problem teşkil etmektedirler ve bu yüzden sistemlerin kullanılmasında caydırıcı etken olarak da görülebilmektedirler.

Bu etkenler ışığında süreç gözleme ve inceleme deneylerinin parametreleri değerlendirilmiş ve deneyler bu doğrultuda gerçekleştirilmiştir. Başlangıçta ağır metal içeren ortamların hazırlanmasında ise düşük metal konsantrasyonundan yükseğe doğru dokuz değişik değer esas alınmıştır. Bunlar her ağır metal çalışmasında aynı şekilde oluşturulmuştur.

DeneySEL çalışmalarda başlangıçta ağır metal içeren ortamlardaki ağır metal konsantrasyonları, çalışmada incelenen ağır metal iyonları için Çizelge 8'de verildiği şekilde gerçekleştirilmiştir.

4.3. Ağır Metal İyonu İçermeyen Ortamlarda Lipaz Fermentasyonunun Kesikli Karıştırmalı Kaplarda İncelenmesi

Bu bölümde gerçekleştirilen deneylerde ortamlara ağır metal eklemesi yapılmamıştır. Bu deney sistemlerinde şu parametreler incelenmiştir:

- *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi
- *R. delemar*'ın konsantrasyonu

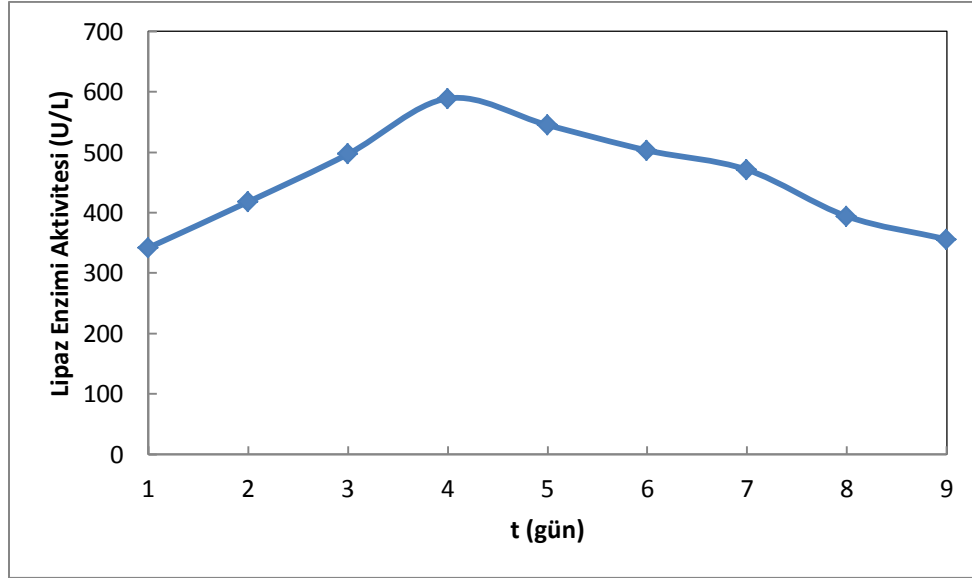
4.3.1. Lipaz enzimi aktivitesi

4.3.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığı (24 °C)

Ağır metal içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi, süreç gözleme ve inceleme deneylerinde, pH 5 ve oda sıcaklığında 4 ve 5. günlerde yüksek aktivite değerleri elde edilmiştir. 4. günde elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 589 U/L iken 5. günde bu değer 545 U/L'ye gerilemiştir.

Çizelge 9 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Enzim Aktivitesi (U/L)	342	418	497	589	545	503	471	394	356



Şekil 6 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği

Çizelge 9 ve Şekil 6 incelendiğinde lipaz enzimi aktivitesinin başlangıçta ağır metal içermeyen ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ölçümleri görülebilmektedir.

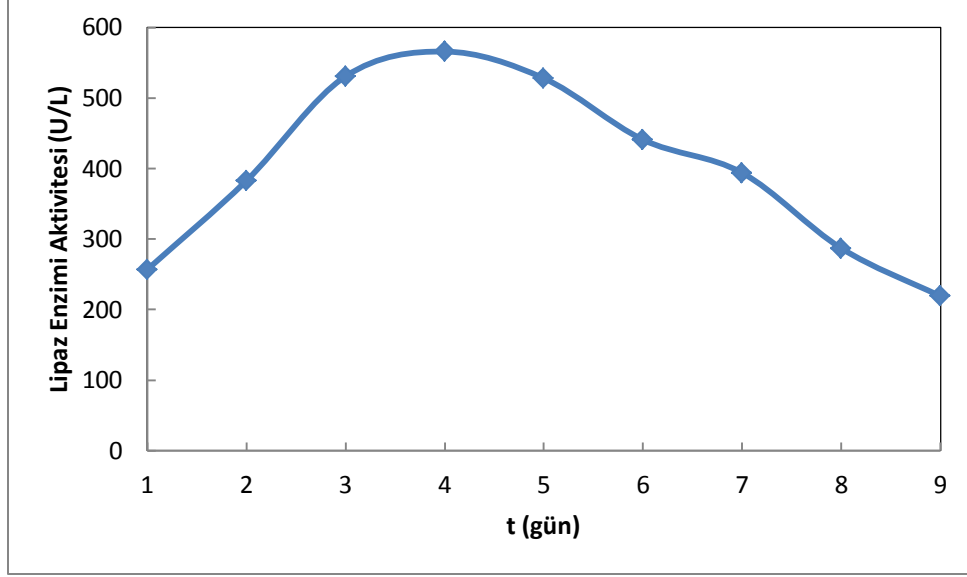
4.3.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığı (24 °C)

Ağır metal içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi deneylerinde pH 8 ve oda sıcaklığında 3, 4 ve 5. günlerde daha yüksek aktivite değerleri elde edilmiştir.

3. günde lipaz enzimi aktivitesi 531 U/L iken 4. günde elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 566 U/L'ye çıkmış ve 5. günde ise bu değer 528 U/L'ye gerilemiştir. Çizelge 10 ve Şekil 7, lipaz enzimi aktivitesinin başlangıçta ağır metal içermeyen ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ölçümleri belirtmektedir.

Çizelge 10 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Enzim Aktivitesi (U/L)	257	383	531	566	528	441	394	287	219



Şekil 7 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği

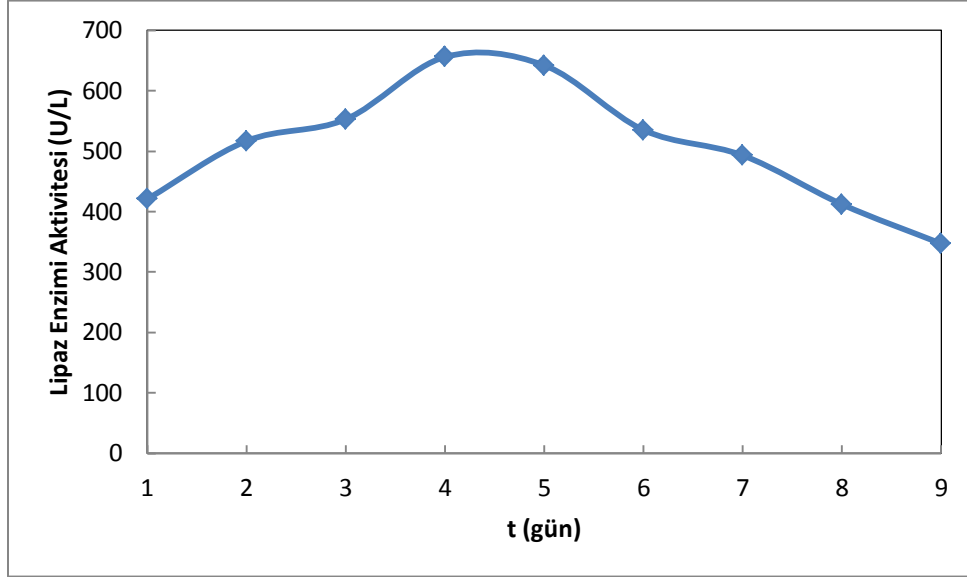
4.3.1.3. pH 5 ve 35 °C

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C’de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi incelendiğinde 4 ve 5. günlerde en yüksek aktivite değerlerine ulaşılmış olduğu görülmektedir.

Çizelge 11 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C’de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Enzim Aktivitesi (U/L)	421	517	553	656	642	535	493	412	347

Çizelge 11 ve Şekil 8 incelendiğinde görüldüğü üzere 4 gün sonunda elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 656 U/L iken bu değer 5. gün sonunda 642 U/L'ye gerilemiştir.



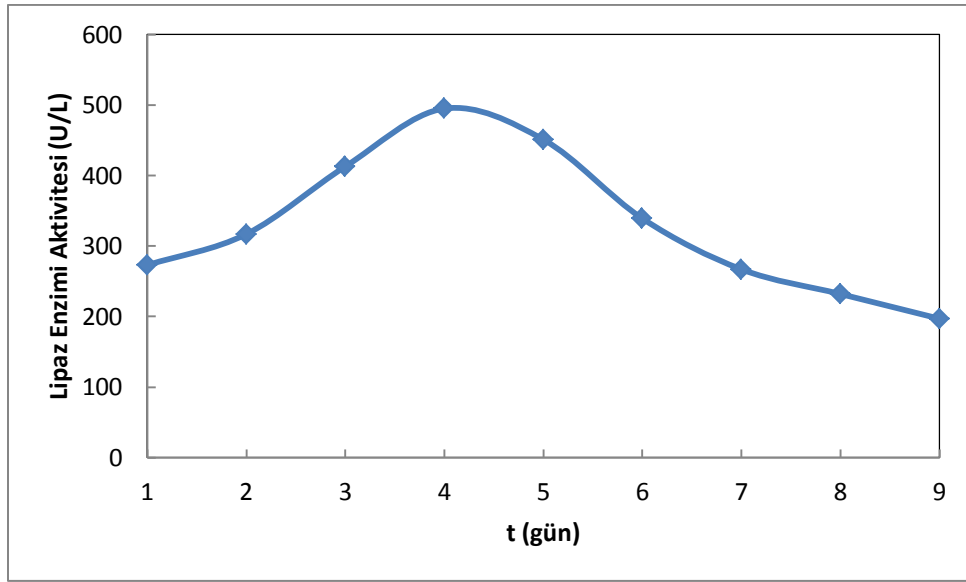
Şekil 8 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği

4.3.1.4. pH 8 ve 35 °C

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen enzim aktivitesi tayini deneylerindeki bir diğer uygulama ise pH 8 ve 35 °C'de gerçekleştirilmiştir. Çizelge 12 ve Şekil 9'da görüldüğü üzere 3, 4 ve 5. günlerde elde edilen enzim aktivitesi değerleri daha yüksektir. Buna göre 3 gün sonunda 413 U/L olarak ölçülen enzim aktivitesi, 4. günde 495 U/L'ye yükselirken, 5. günde 451 U/L'ye gerilemiştir.

Çizelge 12 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Enzim Aktivitesi (U/L)	273	317	413	495	451	339	267	232	197



Şekil 9 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişim grafiği

4.3.2. Mikroorganizma konsantrasyonu

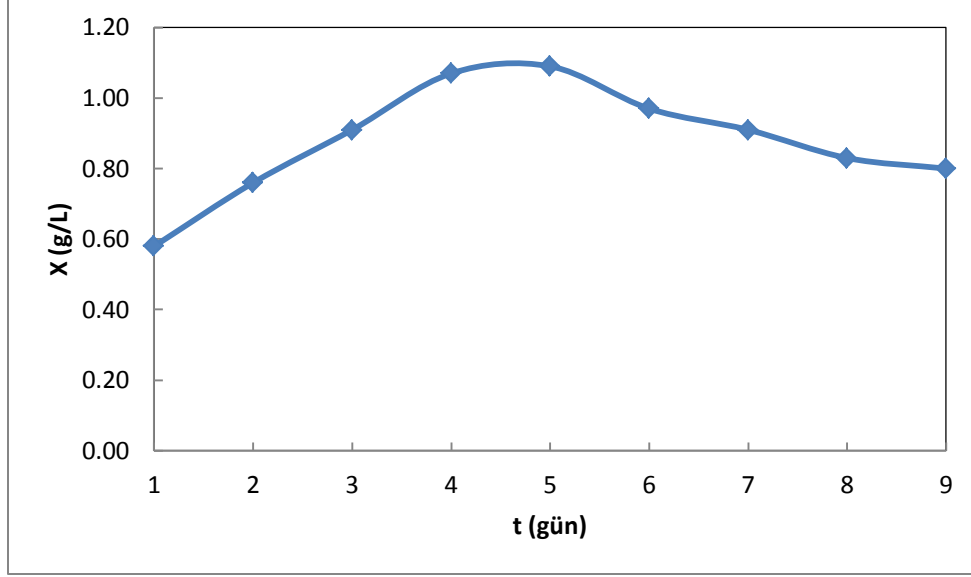
4.3.2.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Ağır metal içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen *R. delemar* konsantrasyonunun süreç gözleme ve inceleme deneylerinde pH 5 ve oda sıcaklığında 4 ve 5. günlerde en yüksek mikroorganizma konsantrasyonu değerleri elde edilmiştir. 3, 6 ve 7. günlerde ise kalan diğer günlere göre daha belirgin değerlere ulaşılmıştır.

Çizelge 13 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
X (g/L)	0.58	0.76	0.91	1.07	1.09	0.97	0.91	0.83	0.80

Çizelge 13'ten görüleceği üzere 4. günde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonu 1.07 g/L iken 5. günde 1.09'a yükselmiştir. Mikroorganizma konsantrasyonların dokuz gün boyunca değişiminin izlenebildiği Şekil 10'dan da görüleceği üzere 3, 6 ve 7. günlerdeki mikroorganizma konsantrasyonu değerleri ise sırasıyla 0.91, 0.97 ve 0.91 g/L'dir.



Şekil 10 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

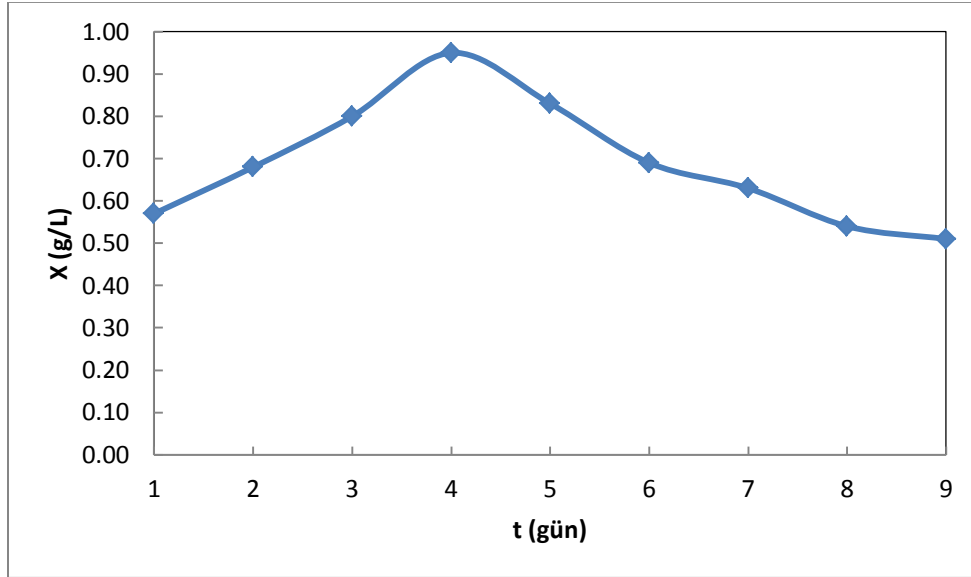
4.3.2.2. pH 8 ve oda sıcaklığı (24 °C)

Ağır metal içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen mikroorganizma konsantrasyonu süreç gözleme ve inceleme deneylerinde pH 8 ve oda sıcaklığında 4 ve 5. günlerde birbirine çok yakın ve diğer zamanlardakilere göre çok daha yüksek değerler elde edilmiştir. 3 ve 6. günlerde ölçülen konsantrasyon değerleri ise kalan diğer günlerden daha yüksek fakat 4 ve 5. günlerden daha düşüktür.

Çizelge 14'ten görüleceği üzere 4. gündeki mikroorganizma konsantrasyonu 0.75 g/L iken bu durumda 5. günde kayda değer bir değişim gözlenmemiş ve 0.76 g/L olarak gerçekleşmiştir. Çizelge 14 ve Şekil 11'de ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi verilmektedir.

Çizelge 14 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
X (g/L)	0.57	0.68	0.80	0.95	0.83	0.69	0.63	0.54	0.51



Şekil 11 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

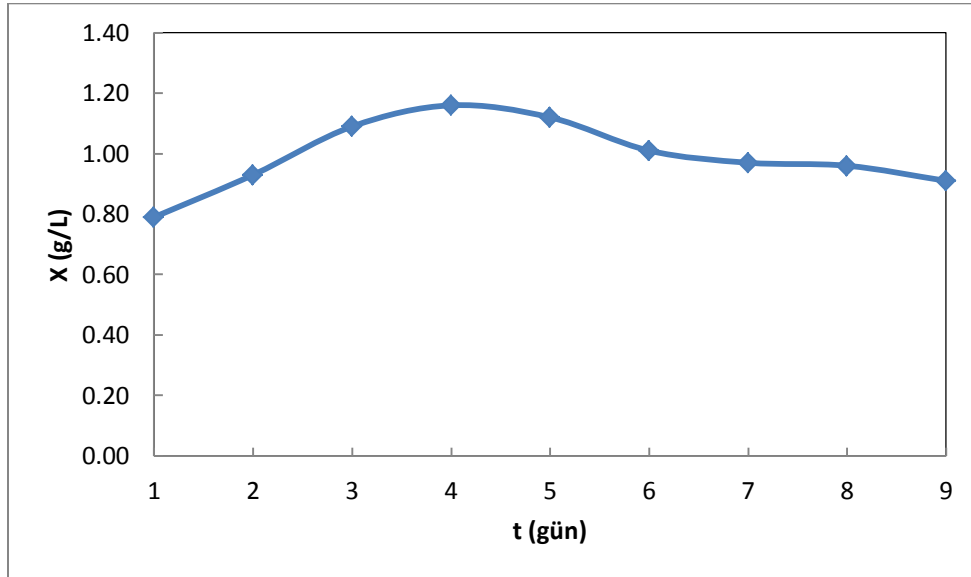
4.3.2.3. pH 5 ve 35 °C

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi incelendiğinde, 3, 4 ve 5. günlerde en yüksek değerlere ulaşılmış olduğu görülmektedir. Çizelge 15 ve Şekil 12'nin de gösterdiği gibi 3.

gündeki mikroorganizma konsantrasyonu 1.09 g/L iken, 4. gün sonunda 1.16 g/L ve 5. günde ise 1.12 g/L ölçülmüştür.

Çizelge 15 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
X (g/L)	0.79	0.93	1.09	1.16	1.12	1.01	0.97	0.96	0.91



Şekil 12 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

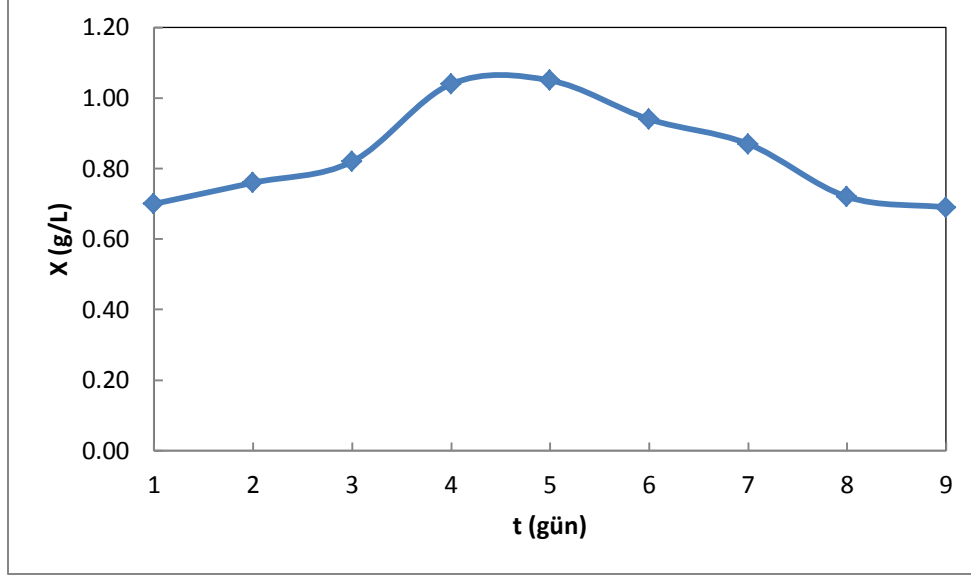
4.3.2.4. pH 8 ve 35 °C

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekteştirilen mikroorganizma konsantrasyonu tayini deneylerindeki bir diğer çalışma ise pH 8 ve 35 °C'de gerçekteştirilmiştir. Çizelge 16 ve Şekil 13'te görüldüğü üzere 4 ve 5. günlerde elde edilen değerler belirgin bir Şekilde daha yüksektir. Buna göre 4. gün sonunda 1.04 g/L olarak ölçülen mikroorganizma konsantrasyonu, 5. günde hemen hemen aynı Şekilde 1.05 g/L olmuştur. Bu iki değere en yakın olarak ise 6. günde ölçülen 0.94 g/L görülmektedir.

Kesikli karıştırmalı kaplarda, değişik pH ve sıcaklık değerlerinde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonlarının zamanla değişimi incelendiğinde, mikroorganizmanın ilk 24 saatte üstel üreme evresine girdiği, 4. günden itibaren durgun evrenin başladığı görülmektedir. Erken ölüm evresi fermantasyonun 6. gününde başlamakta, 8 ve 9. günlerde ise mikroorganizma konsantrasyonunda belirgin bir azalma gözlenmektedir. Maksimum enzim aktivitesi de durgun evrenin başlangıcında elde edilmektedir.

Çizelge 16 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

Zaman (Gün)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
X (g/L)	0.70	0.76	0.82	1.04	1.05	0.94	0.87	0.72	0.69



Şekil 13 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

4.4. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Cd(II) Biyobirikiminin İncelenmesi

Cd(II) içeren ortamlarda gerçekleştirilen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde mikroorganizmalar tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi, Cd(II) ağır metali biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonlarının 9 günlük zaman dönemi boyunca değişiminin incelenmesi planlanmıştır.

İlk olarak, Cd(II) metalinin biyobirikimi deneyleri için fermantasyon ortamları hazırlanmıştır. pH 5 ve pH 8 olarak iki değişik pH değerindeki besin ortamlarına 5 mg/L ile 200 mg/L arasında değişen 9 ayrı konsantrasyonda ağır metal eklenmiş olup, deneyler oda sıcaklığında (24 °C) gerçekleştirilmiştir.

Bu deneylerde elde edilen verilerden de görüleceği üzere Cd(II) metali içeren ortamların gerek pH 5, gerekse de pH 8 koşullarındaki biyobirikim ölçümleri herhangi bir uyum ve stabilite göstermemektedir. Bu durum bilindiği gibi kadmiyum ağır metalinin son derece

toksik özelliklerinden ötürü mikroorganizma üremesinin üzerindeki olumsuz etkisinden kaynaklanmaktadır.

Hedeflenen şekilde uyumlu ve stabil veriler elde edilemediğinden ötürü, deneylerde planlanan diğer ölçümlere devam edilmemiştir. Bu yüzden başlangıçta Cd(II) içeren ortamlarda mikroorganizmanın lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma konsantrasyonları ölçümleri gerçekleştirilmemiş, sadece Cd(II) ağır metalinin *R. delemar*'ca biyobirikim analizleri gerçekleştirilmiştir.

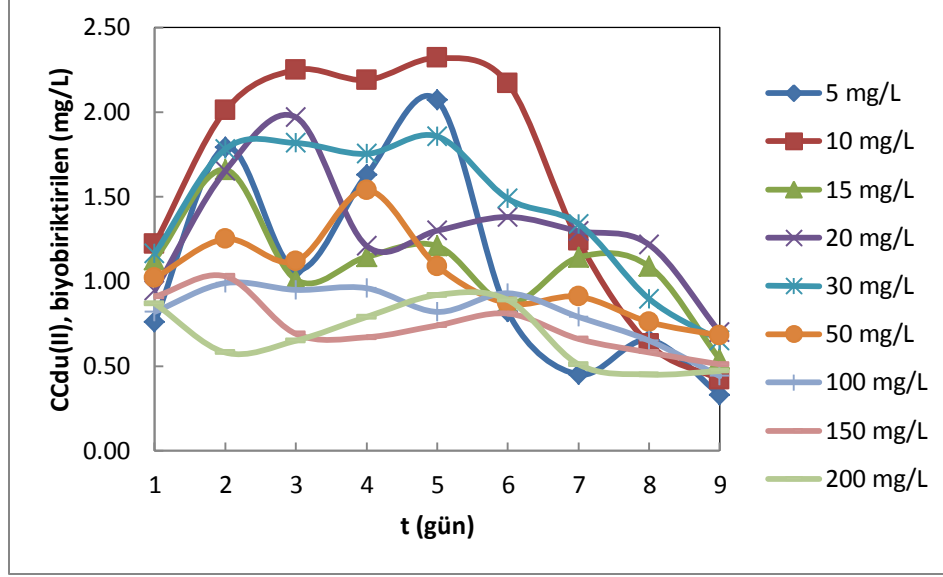
4.4.1. Cd(II) ağır metal biyobirikimi

4.4.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Cd(II) metali içeren ortamlarda gerçekleştirilen *R. delemar*'ın Cd(II) biyobirikimi deneylerinde, pH 5 ve oda sıcaklığında, Çizelge 17 ve Şekil 14'te ayrıntılı şekilde görüleceği üzere Cd(II) biyobirikimi düzgün bir değişim göstermemiştir. En yüksek Cd(II) biyobirikimi 10 mg/L Cd(II) içeren ortamda, mikroorganizma üremesinin 5. gününde, 2.32 mg/L olarak elde edilmiştir. Bu değer yaklaşık % 23'lük bir biyobirikim verimliliğine karşılık gelmektedir. Başlangıç Cd(II) konsantrasyonu arttırıldıkça, biyobiriktirilen Cd(II) miktarları ve buna bağlı olarak Cd(II) giderim verimlilikleri belirgin bir düşüş göstermiştir.

Çizelge 17 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cd(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktirilen Cd(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	0.76	1.79	1.07	1.63	2.07	0.82	0.45	0.65	0.33
10	1.22	2.01	2.25	2.19	2.32	2.17	1.24	0.63	0.42
15	1.13	1.66	1.01	1.15	1.21	0.87	1.14	1.09	0.54
20	0.95	1.65	1.97	1.21	1.30	1.38	1.30	1.22	0.70
30	1.16	1.78	1.82	1.75	1.86	1.49	1.34	0.90	0.65
50	1.02	1.25	1.12	1.54	1.09	0.87	0.91	0.76	0.68
100	0.82	0.99	0.95	0.96	0.82	0.93	0.79	0.65	0.44
150	0.91	1.03	0.69	0.67	0.74	0.81	0.66	0.58	0.51
200	0.87	0.58	0.65	0.79	0.92	0.89	0.51	0.45	0.47



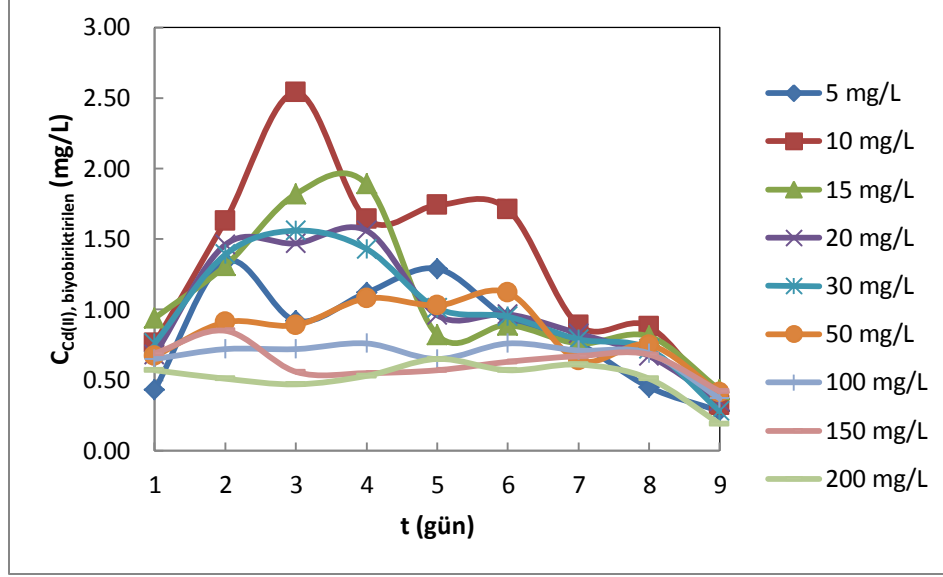
Şekil 14 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

4.4.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Cd(II) iyonu içeren ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 16 ve Şekil 15'de verilmektedir. Ölçüm sonuçları incelendiğinde görülmektedir ki, bu koşullardaki en yüksek Cd(II) biyobirikimi 10 mg/L başlangıç Cd(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu ortamlarda elde edilmiştir. 3. gün sonunda elde edilen 2.54 mg/L'lik biyobirikim, ortama eklenen ağır metal konsantrasyonunun yaklaşık % 25'ine tekabül etmektedir. pH 5 ve oda sıcaklığındaki koşullarda olduğu gibi pH 8 ve oda sıcaklığındaki ortamlarda da Cd(II) biyobirikiminde düzgün ve uyumlu değerler elde edilememiştir. Bu, kadmiumun ağır metalinin canlı mikroorganizması için yüksek seviyedeki toksik etkisinden kaynaklanmaktadır. (Das, Samantaray et al. 1997)

Çizelge 18 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cd(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Biyobiriktirilen Cd(II) Konsantrasyonları (mg/L)									
5	0.43	1.34	0.92	1.12	1.29	0.94	0.76	0.45	0.28
10	0.76	1.63	2.54	1.64	1.74	1.71	0.89	0.88	0.32
15	0.94	1.31	1.82	1.89	0.82	0.89	0.76	0.81	0.43
20	0.68	1.46	1.47	1.56	0.96	0.97	0.83	0.67	0.35
30	0.76	1.39	1.56	1.43	1.01	0.95	0.79	0.72	0.28
50	0.67	0.91	0.89	1.08	1.03	1.12	0.64	0.75	0.41
100	0.65	0.72	0.72	0.76	0.65	0.76	0.71	0.69	0.37
150	0.69	0.85	0.56	0.55	0.57	0.63	0.67	0.68	0.42
200	0.57	0.51	0.47	0.53	0.65	0.57	0.61	0.51	0.19



Şekil 15 Cd(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cd(II) konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

4.5. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Cu(II) Biyobirikiminin ve Lipaz Enzimi Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Cu(II) içeren ortamlarda gerçekleştirilen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi, Cu(II) iyonu biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun dokuz günlük zaman dönemi boyunca değişimi incelenmiştir.

Çalışmalarda *R. delemar*'ın Cu(II) içeren ortamlardaki lipaz enzimi aktivitesi ile Cu(II) metalinin biyobirikimi ölçümleri ile mikroorganizma konsantrasyonu analizleri için dört ana ortam koşulu altında deneyler gerçekleştirilmiştir. pH 5 ve pH 8 olarak iki değişik pH değerindeki besin ortamlarına 5 mg/L ile 200 mg/L arasında değişen 9 ayrı konsantrasyonda ağır metal eklenmiş olup, deneyler oda sıcaklığında (24 °C) ve 35 °C'de mikroorganizma davranışlarını incelemek üzere gerçekleştirilmiştir.

4.5.1. Lipaz enzimi aktivitesi

4.5.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

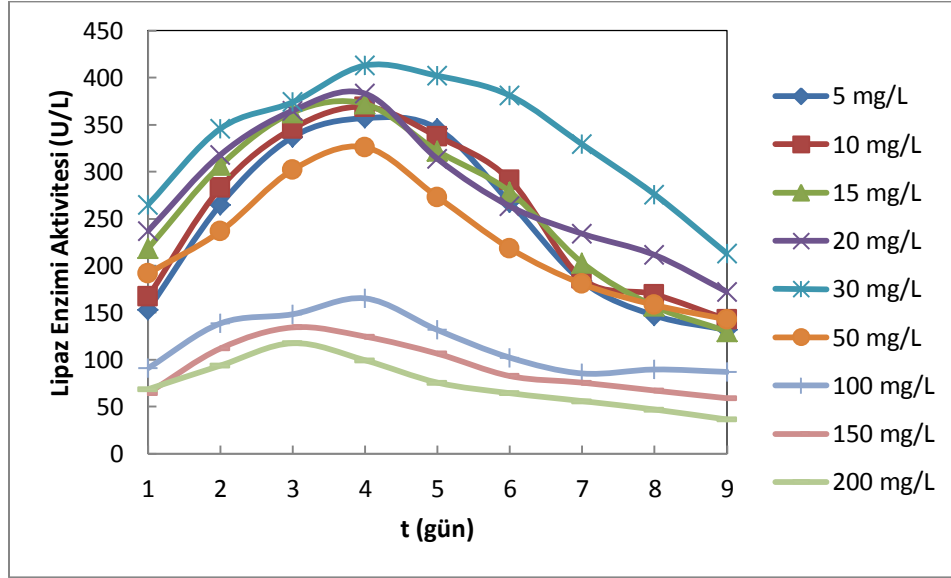
Cu(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi ölçüm deneylerinde pH 5 ve oda sıcaklığında, Çizelge 19 ve Şekil 16'dan da görüldüğü üzere 3, 4 ve 5. günlerde yüksek aktivite değerleri elde edilmiştir.

Çizelge 19 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
5	153	265	337	357	346	267	183	147	132
10	167	283	346	369	337	291	186	169	143
15	218	307	363	372	322	279	203	157	130
20	237	318	365	383	314	263	234	211	172
30	265	346	374	413	402	381	329	276	213
50	192	237	302	326	273	218	181	158	143
100	91	139	148	165	132	102	85	90	87
150	64	112	134	125	106	83	76	67	59
200	69	94	118	99	76	64	56	47	36

Enzim aktivitesinin en yüksek olduğu değer 4. gün ile Cu(II) başlangıç konsantrasyonunun 30 mg/L olduğu koşullardadır. Bu noktada ölçülen lipaz enzimi aktivitesi 413 U/L'dir. 5. günde ise bu değer 402 U/L'ye gerilemiştir. 100 mg/L ve

üzerindeki Cu(II) başlangıç ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullardaki ölçümlerde elde edilen değerler ise çok düşük olmuştur.



Şekil 16 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği

4.5.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığı (24 °C)

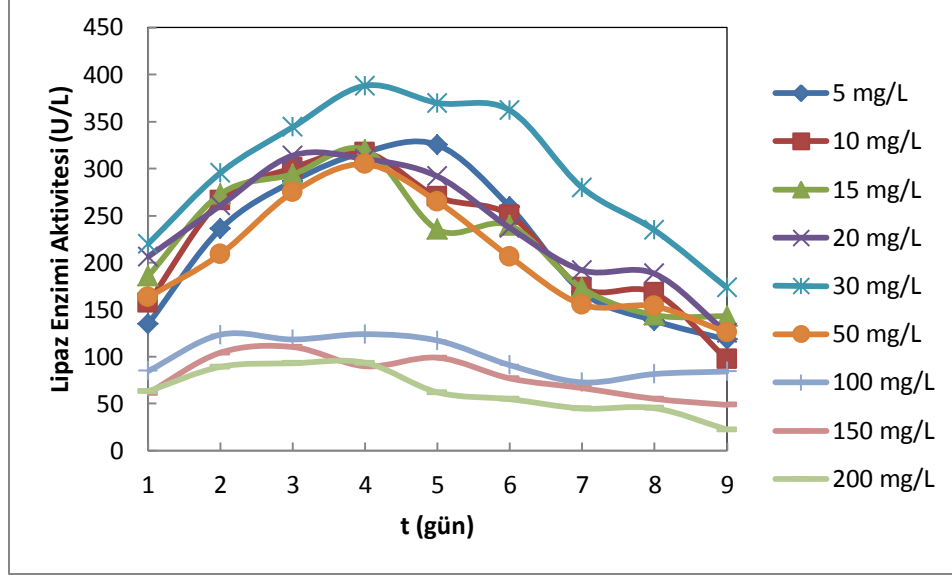
Cu(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi ölçüm deneylerinde pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ölçümlerde, en yüksek aktivite değerlerine 30 mg/L başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun olduğu koşullarda ulaşılmıştır. 5, 10, 15, 20 ve 50 mg/L'lik başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda elde edilen veriler, 30 mg/L koşullarından daha düşük fakat birbirlerine yakındır.

30 mg/L Cu(II) iyonu içeren ortamlarda 3, 4, 5 ve 6. günlerde daha yüksek değerler elde edilmiştir. 3. günde lipaz enzimi aktivitesi 344 U/L iken 4. günde elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 388 U/L'ye çıkmış ve 5. günde bu değer 370 U/L'ye, 6. gün sonunda ise 362 U/L'ye gerilemiştir.

5 ile 50 mg/L arasında birbirine yakın görünen enzim aktivitesi değerleri, başlangıç metal konsantrasyonunun 100 mg/L ve daha yüksek olduğu koşullarda oldukça düşük olarak ölçülmüştür. (Çizelge 20 ve Şekil 17)

Çizelge 20 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
5	135	236	286	318	325	259	169	138	118
10	157	266	301	317	270	250	173	168	97
15	186	273	294	320	235	240	173	144	143
20	206	261	314	310	292	237	192	188	125
30	220	295	344	388	370	362	280	234	173
50	163	209	275	305	265	206	155	153	126
100	85	123	118	124	117	91	73	82	84
150	61	104	110	90	99	77	67	55	49
200	63	89	93	93	62	55	45	45	22



Şekil 17 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği

4.5.1.3. pH 5 ve 35 °C

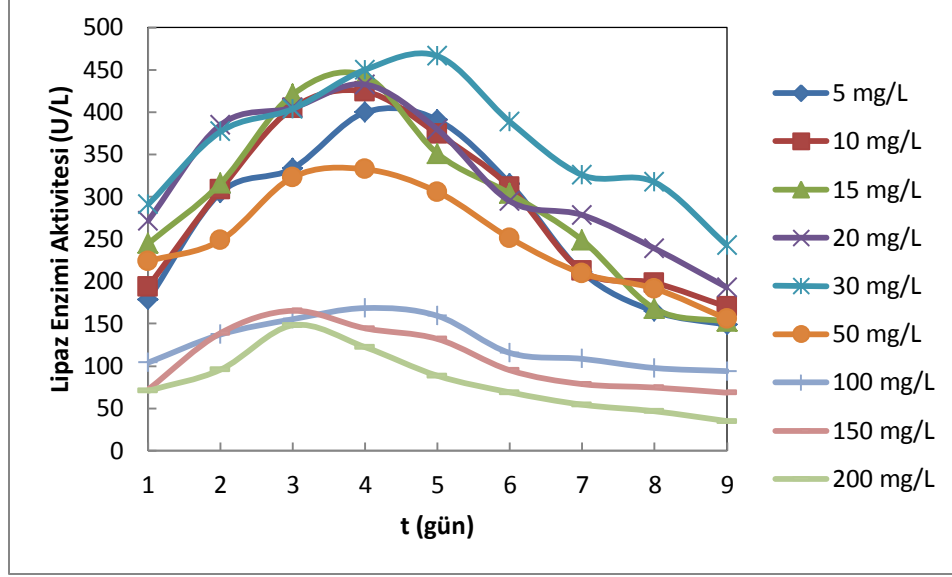
Başlangıçta Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de gerçekleştirilen *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi ölçüm deneylerinde Çizelge 21'de görüldüğü üzere 3 ile 5. günler arasındaki dönemlerde maksimum lipaz aktiviteleri elde edilmiştir.

Enzim aktivitesinin en yüksek olduğu zaman fermantasyonun 4 ve 5. günleridir. Bu dönemlerdeki en yüksek enzim aktiviteleri, Cu(II) başlangıç konsantrasyonunun 15, 20 ve 30 mg/L olduğu koşullarda elde edilmiştir.

Bu noktalardan 4. günde ölçülen lipaz enzimi aktiviteleri 15, 20 ve 30 mg/L başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre sırasıyla 443, 433 ve 450 U/L'dir. 5. gündeki ölçümler ise gene aynı sıralamayla 351, 379 ve 466 U/L şeklinde olmuştur. 50 mg/L ile birlikte azalma eğilimi gösteren lipaz enzimi aktivitesi değerleri, 100 mg/L ve üzerindeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullardaki ölçümlerde oldukça büyük düşüşler göstermiştir (Çizelge 21 ve Şekil 18).

Çizelge 21 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
5	178	305	334	400	391	316	211	165	149
10	194	308	405	424	375	312	212	198	170
15	245	316	421	443	351	304	249	168	152
20	272	385	405	433	379	295	278	239	193
30	291	377	404	450	466	389	326	317	243
50	224	248	323	333	306	251	209	191	156
100	104	137	155	169	159	115	108	98	94
150	72	139	165	145	132	95	79	75	68
200	71	96	148	122	88	69	54	47	35



Şekil 18 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği

4.5.1.4. pH 8 ve 35 °C

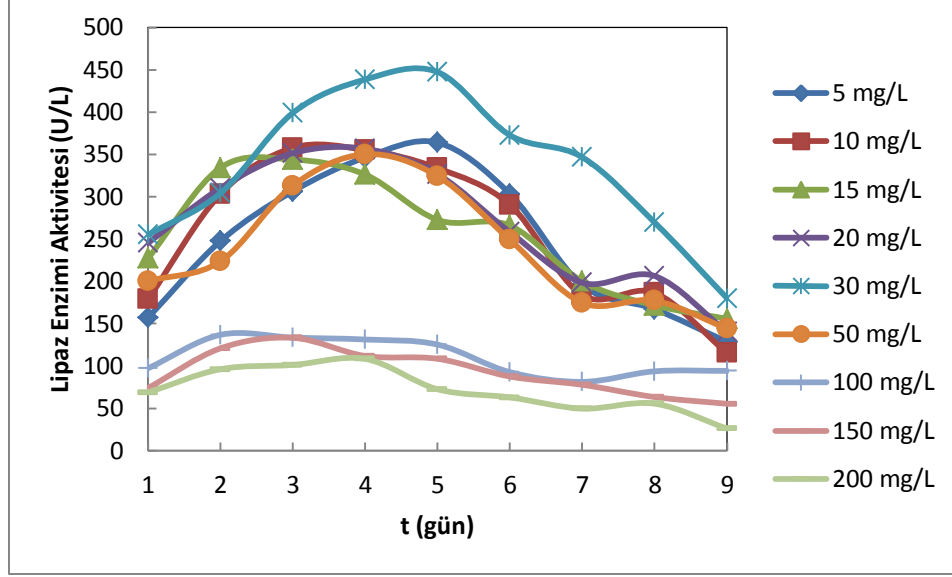
Cu(II) iyonu içeren ortamlarda, pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi ölçüm deneylerinde, en yüksek aktivite değerlerine 30 mg/L başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun olduğu koşullarda ulaşılmıştır. 5, 10, 15, 20 ve 50 mg/L'lik başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda elde edilen veriler, 30 mg/L koşullarından daha düşük fakat birbirleriyle yakındır.

30 mg/L başlangıç metalinin olduğu koşullarda 3, 4, 5 ve 6. günlerde daha yüksek değerler elde edilmiştir. 3. günde lipaz enzimi aktivitesi 399 U/L iken 4. günde elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 439 U/L'ye çıkmış ve 5. günde bu değer 448 U/L'e yükselmiş ve 6. gün sonunda ise 373 U/L'ye gerilemiştir (Çizelge 22).

Ortamdaki Cu(II) iyon derişiminin 5 ile 50 mg/L arasında artırılması lipaz enzimi aktivitesini arttırmış, ancak daha sonra artan başlangıç Cu(II) iyon derişimi ile enzim aktivitesi azalmıştır (Şekil 19).

Çizelge 22 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

C_{Cu(II), i} (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
5	157	248	307	346	364	303	196	167	129
10	179	303	358	355	334	291	184	187	115
15	227	334	344	326	273	266	200	172	156
20	245	310	352	357	327	258	198	206	140
30	255	304	399	439	448	373	347	270	180
50	201	224	313	350	324	249	175	177	144
100	97	137	134	131	125	93	81	94	94
150	74	121	133	112	109	88	78	63	55
200	69	96	101	108	73	63	50	55	26



Şekil 19 Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği

4.5.2. Mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

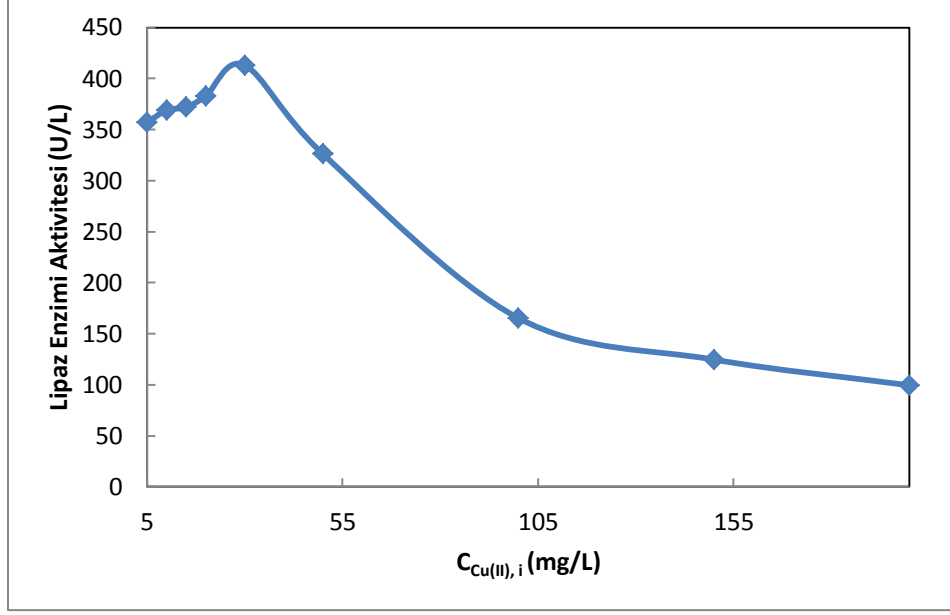
Cu(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen deneylerde genellikle 4. günlerdeki enzim aktivitesi ölçümleri en yüksek değerlerde elde edilmiştir. Bunun yanı sıra 3 ve 5. günlerde elde edilen maksimum aktivite ölçümleri de görülebilmektedir. Genel olarak 4. günde görünen en yüksek değer ölçümlerinden ötürü mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olarak 4. gün kabul edilmiştir. Ortamda Cu(II) iyonlarının bulunmasının enzim aktivitesi için bir gecikme evresi oluşturmadığı görülmektedir. Maksimum enzim aktivitesi yine mikroorganizmanın durgun evresinin başında elde edilmektedir.

4.5.2.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Çizelge 23 ve Şekil 20'den görüleceği üzere başlangıç Cu(II) iyonu konsantrasyonu arttıkça enzim aktivitesi değerlerinde bir yükselme söz konusudur. Yalnız 5 mg/L'lik başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ile 30 mg/L başlangıç Cu(II) metal konsantrasyonuna kadar enzim aktivitesinde bir artış eğilimi varken, bu noktadan itibaren ortamdaki ağır metal artışı, enzim aktivitesi üzerinde azalmaya neden olmaktadır. Ağır metal konsantrasyonunun 50 mg/L ve daha yüksek olduğu ortam koşullarında ise lipaz enzimi aktivitesinde büyük oranda düşüş gözlemlenmektedir

Çizelge 23 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	357	369	372	383	413	326	165	125	99



Şekil 20 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

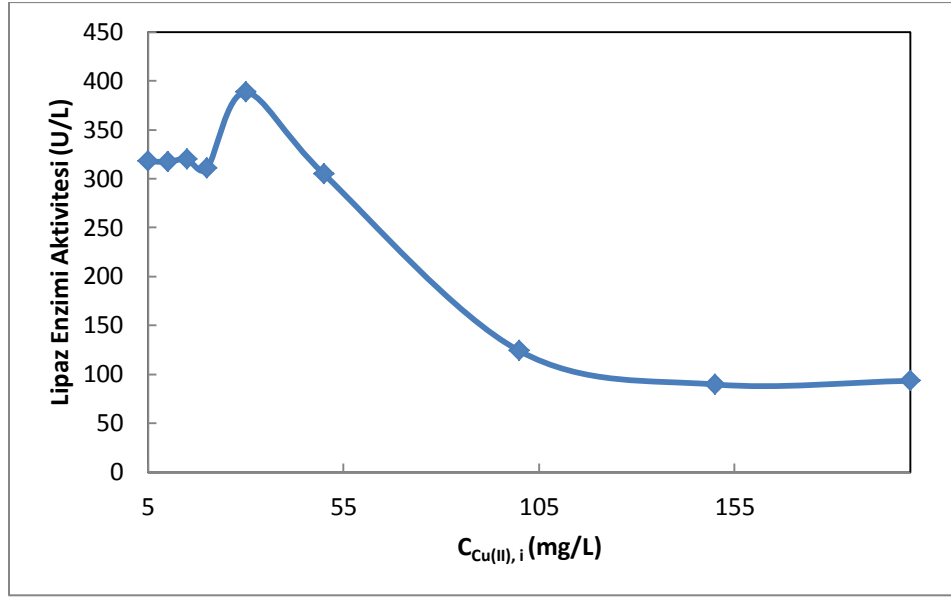
4.5.2.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimleri incelendiğinde, 5, 10, 15 ve 20 mg/L'lik Cu(II) konsantrasyonlarının olduğu koşullarda, enzim aktivitesi önemli bir değişim göstermezken, 30 mg/L'lik başlangıç metali içeren ortamdaki değer olan 388 U/L ile en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

Çizelge 24 ve Şekil 21'den görüleceği üzere 50 mg/L ve üstündeki başlangıç Cu(II) metal konsantrasyonunun olduğu ortamlardaki maksimum enzim aktivitesi değerleri ise oldukça düşüktür.

Çizelge 24 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	318	317	320	310	388	305	124	90	93



Şekil 21 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

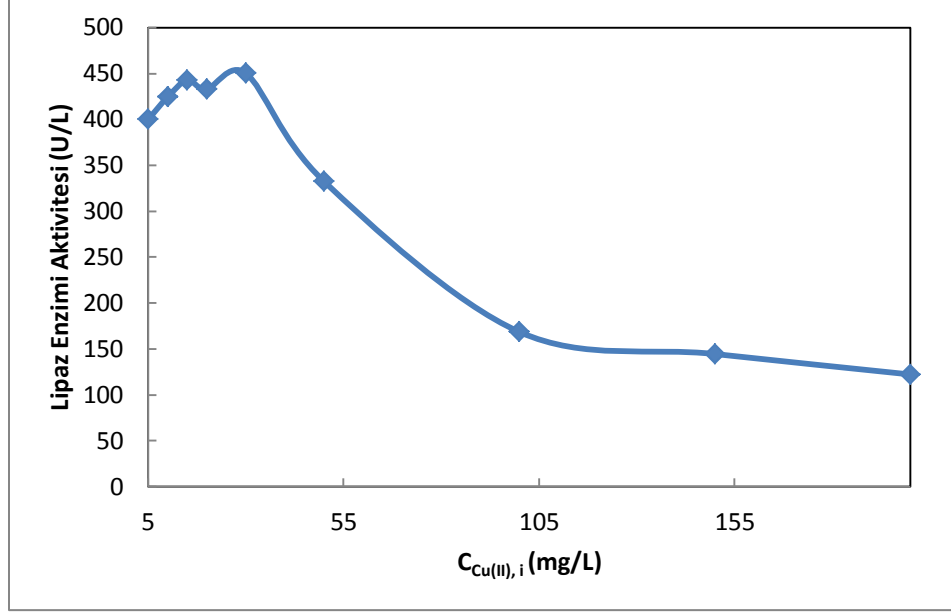
4.5.2.3. pH 5 ve 35 °C

pH 5 ve 35 °C'deki ortam koşullarında, *R. delemar* tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olarak değerlendirilen 4. gündeki, başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi verileri Çizelge 25 ve Şekil 22'de görülmektedir.

Başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonlarının 10 mg/L ile 30 mg/L olduğu aralıkta lipaz enzimi aktivitesi hemen hemen aynı seviyelerde yani 424 ile 450 mg/L arasında ölçülmüştür. Buna karşın 50 mg/L'lık başlangıç metal konsantrasyonu ortamlarından itibaren, başlangıç metal konsantrasyonundaki artış enzim aktivitesinde azalmaya sebep vermektedir.

Çizelge 25 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	400	424	443	433	450	333	169	145	122



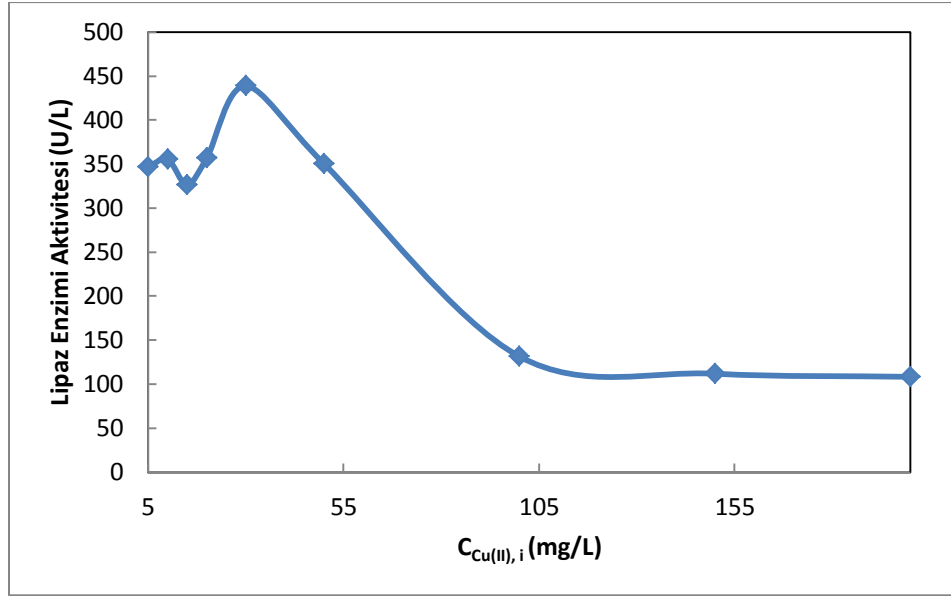
Şekil 22 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

4.5.2.4. pH 8 ve 35 °C

Çizelge 26 ve Şekil 23'ten görüleceği üzere 5, 10, 15, 20 ve 50 mg/L başlangıç Cu(II) metal konsantrasyonunun olduğu ortamlardaki maksimum enzim aktivitesi değerleri birbirlerine çok yakın ve 326 ile 350 mg/L aralığında ölçülmüştür. Maksimum enzim aktivitesi ise 30 mg/L başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun olduğu ortam koşullarda 439 U/L olarak elde edilmiştir. Diğer deney setlerinde görüldüğü gibi pH 8 ve 35 C'lik ortam koşullarında gerçekleştirilen deneylerde de maksimum enzim aktivitesi değerleri başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonunun 100 mg/L ve üzerinde olduğu durumlarda oldukça düşük kaydedilmiştir.

Çizelge 26 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	346	355	326	357	439	350	131	112	108



Şekil 23 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

Buna göre, bir zaman periyodunda, bir parametrenin etkisinin incelendiği, klasik fermantasyon deneylerinde, maksimum enzim aktivitesi, pH 5 ve 35 °C'de 450 U/L olarak elde edilmiştir. Cu(II) iyonu içermeyen ortamlarda yine aynı koşullarda pH 5 ve 35

°C’de elde edilen maksimum enzim aktivitesi ise 656 U/L’dir. Ortamda 30 mg/L Cu(II) iyonunun bulunması enzim aktivitesinde % 31’lik bir düşmeye neden olmuştur.

4.5.3. Cu(II) Ağır Metal Biyobirikimi

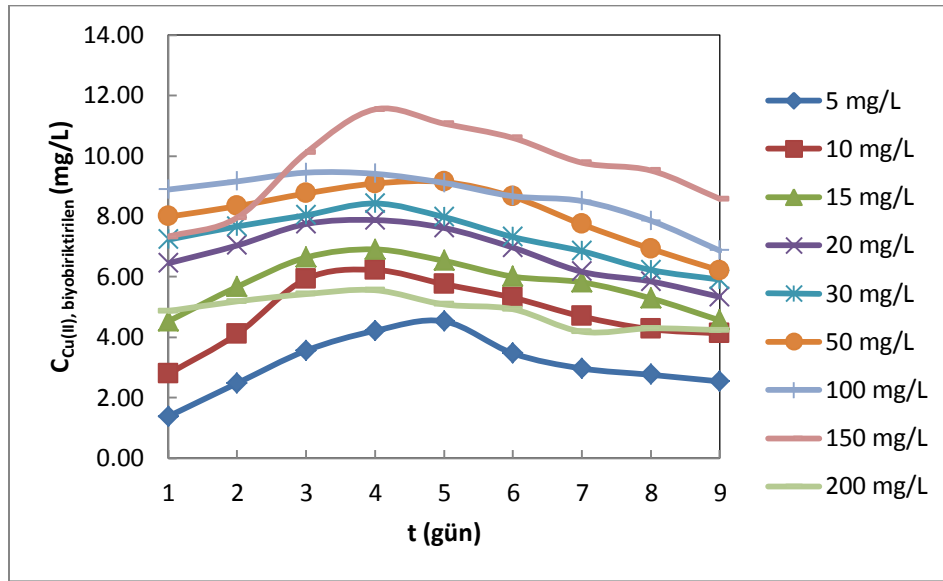
4.5.3.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Cu(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 27 ve Şekil 24’te verilmektedir.

Çizelge 27 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	1.38	2.48	3.56	4.22	4.53	3.47	2.97	2.76	2.54
10	2.79	4.11	5.93	6.23	5.76	5.31	4.69	4.27	4.13
15	4.53	5.67	6.64	6.91	6.53	6.01	5.82	5.29	4.56
20	6.45	7.04	7.75	7.88	7.62	6.97	6.17	5.85	5.34
30	7.23	7.67	8.04	8.43	7.98	7.32	6.85	6.23	5.91
50	7.99	8.34	8.76	9.09	9.14	8.65	7.74	6.93	6.21
100	8.89	9.16	9.45	9.41	9.11	8.67	8.51	7.86	6.87
150	7.33	7.96	10.11	11.55	11.07	10.60	9.78	9.52	8.58
200	4.87	5.19	5.43	5.56	5.09	4.93	4.19	4.30	4.24

Ölçüm sonuçları incelendiğinde görülmektedir ki, mikroorganizmanın genel olarak biyobiriktirdiği Cu(II) iyonları, 3 ve 5. günler arasında maksimum seviyede olmaktadır. Bu koşullardaki en yüksek Cu(II) biyobirikimi, 150 mg/L Cu(II) içeren ortamda 11.07 mg/L olarak bulunmuştur. En yüksek Cu(II) biyobirikim verimliliği ise yaklaşık % 90 ile 5 mg/L başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun olduğu ortamda görülürken, Cu(II) başlangıç metal konsantrasyonundaki artış ile mikroorganizmanın biyobiriktirme verimliliği azalmaktadır.



Şekil 24 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

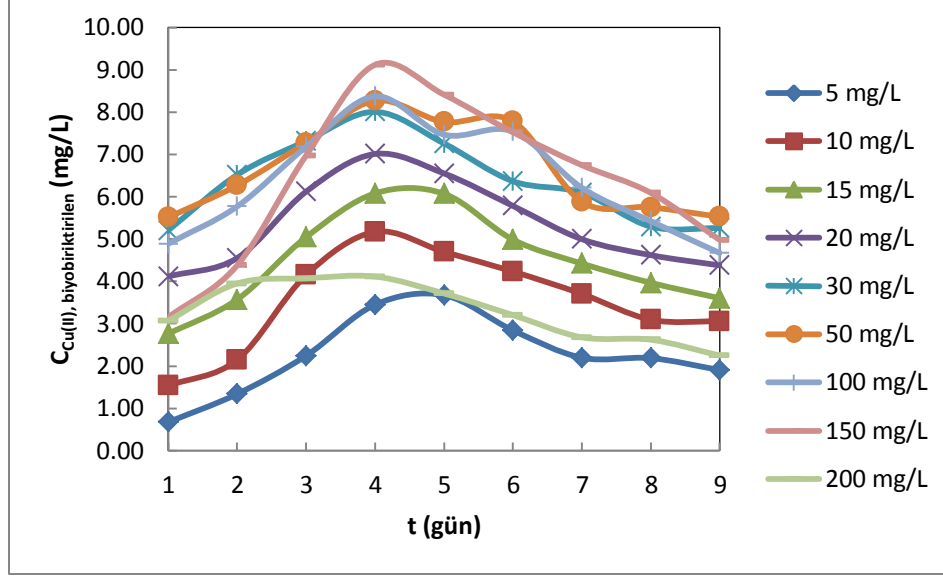
4.5.3.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 28 ve Şekil 25'te görülmektedir. Genel olarak 3 ve 6. günler arasında maksimum değerlerde ölçülen Cu(II) biyobirikimi, başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonunun artışı ile azalma göstermektedir. En yüksek Cu(II) biyogiderimi, fermantasyonun 4. Gününde 150 mg/L Cu(II) içeren ortamda 9.12 mg/L olarak elde edilmiştir.

Başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonunun 5 mg/L olduğu koşullarda, biyobiriktirilen Cu(II) ağır metali konsantrasyonu 5. gün sonunda 3.68 mg/L olmuştur. Bu değer, yaklaşık % 72'lik bir biyogiderime tekabül ederken, 200 mg/L başlangıçta Cu(II) ağır metali içeren ortamdaki maksimum biyobirikim sadece % 2 seviyesindedir. Başlangıç metal iyonu konsantrasyonu arttıkça, 150 mg/L'ye kadar biyobiriktirilen Cu(II) iyon konsantrasyonu artmakta, adsorpsiyon verimliliği ise azalmaktadır.

Çizelge 28 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)									
5	0.67	1.34	2.24	3.45	3.68	2.84	2.20	2.19	1.91
10	1.53	2.15	4.15	5.17	4.70	4.23	3.71	3.09	3.06
15	2.76	3.57	5.05	6.08	6.07	4.99	4.42	3.97	3.60
20	4.12	4.55	6.12	7.01	6.55	5.79	5.00	4.62	4.38
30	5.21	6.52	7.32	8.01	7.26	6.37	6.10	5.30	5.26
50	5.51	6.27	7.27	8.27	7.77	7.79	5.88	5.75	5.53
100	4.89	5.77	7.18	8.37	7.47	7.54	6.21	5.42	4.67
150	3.15	4.38	6.98	9.12	8.41	7.52	6.75	6.09	4.98
200	3.07	3.95	4.07	4.11	3.72	3.20	2.68	2.62	2.25



Şekil 25 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

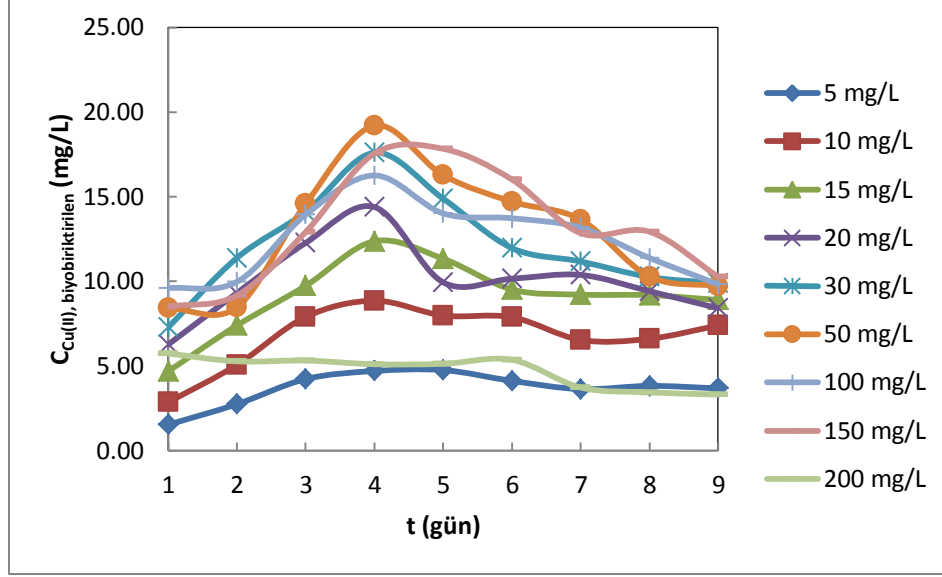
pH 5 ve 35 °C Çizelge 29 ve Şekil 26'dan görüleceği üzere, pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonu başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonu arttıkça artar, biyobirikim verimliliği olarak incelendiğinde ise en yüksek biyobirikim değerlerine 5 mg/L başlangıç konsantrasyonunun olduğu 4 ve 5. günlerde ulaşılmıştır. Sırasıyla 4.70 ve 4.76 mg/L olarak ölçülen biyobirikim değerleri yüzde olarak ise yaklaşık % 95'lik bir Cu(II) giderimine karşılık gelmektedir.

En yüksek metal biyobirikimi, 50 mg/L Cu(II) içeren ortamda, 19.21 mg/L olarak elde edilmiştir, biyobirikim verimliliği ise % 38.42'dir. 200 mg/L Cu(II) iyon derişimine sahip ortamdaki maksimum biyobirikim verimliliği ise sadece % 2 seviyesindedir.

Çizelge 29 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$	Zaman (Gün)
-----------------	-------------

(mg/L)	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	1.53	2.75	4.23	4.70	4.76	4.12	3.64	3.83	3.68
10	2.86	5.07	7.90	8.86	7.98	7.89	6.54	6.61	7.40
15	4.69	7.40	9.74	12.38	11.34	9.52	9.22	9.19	8.91
20	6.27	9.31	12.28	14.40	9.94	10.16	10.38	9.42	8.41
30	7.29	11.39	14.11	17.60	14.89	11.97	11.18	10.26	9.89
50	8.42	8.48	14.59	19.21	16.28	14.71	13.65	10.29	9.72
100	9.60	9.98	13.95	16.26	14.02	13.73	13.17	11.39	9.83
150	8.51	9.17	12.92	17.56	17.84	16.02	12.85	12.94	10.27
200	5.74	5.28	5.33	5.10	5.13	5.37	3.73	3.44	3.32



Şekil 26 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonun zamanla değışimi grafiği

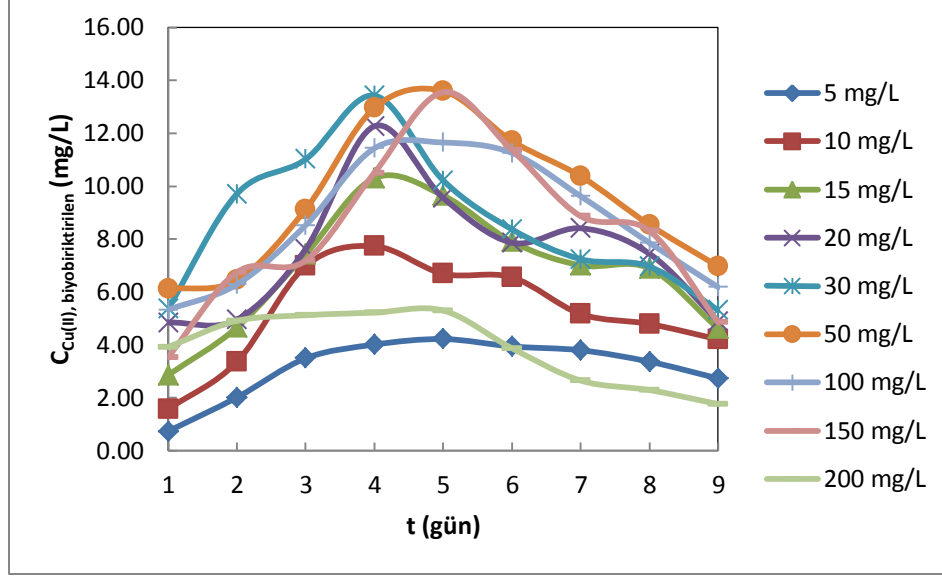
4.5.3.3. pH 8 ve 35 °C

pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değışimi ölçümlerinde, maksimum % 81'lik bir biyobirikim verimliliği değeri 5 mg/L Cu(II) içeren ortamda, 5. gün sonunda elde edilmiştir (Çizelge 30 ve Şekil 27).

En yüksek Cu(II) biyobirikimi ise 150 mg/L Cu(II) içeren ortamda, 13.56 mg/L olarak elde edilmiştir. Buna karşı gelen biyobirikim verimliliği ise % 9'dur. Bir diğer yüksek Cu(II) biyobirikimi 30 mg/L Cu(II) içeren ortamda 13.43 mg/L olarak elde edilmiştir. Buna karşı gelen biyobirikim verimliliği de % 45'tir.

Çizelge 30 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonun zamanla değışimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	0.73	2.01	3.49	4.01	4.22	3.94	3.80	3.37	2.73
10	1.57	3.36	6.99	7.73	6.69	6.56	5.17	4.79	4.21
15	2.86	4.66	7.43	10.31	9.65	7.90	7.01	6.89	4.62
20	4.84	4.96	7.62	12.27	9.56	7.86	8.41	7.45	4.89
30	5.38	9.71	11.02	13.43	10.22	8.37	7.24	6.96	5.31
50	6.11	6.45	9.13	12.96	13.60	11.71	10.38	8.54	6.97
100	5.33	6.28	8.52	11.43	11.65	11.26	9.62	7.86	6.18
150	3.54	6.75	7.19	10.51	13.56	11.37	8.87	8.31	4.85
200	3.92	4.91	5.12	5.22	5.30	3.87	2.65	2.29	1.76



Şekil 27 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

4.5.4. Mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi

Cu(II) iyonunun olduğu koşullarda gerçekleştirilen analizlerde genellikle 3 ve 5. günlerdeki biyobirikim ölçümleri en yüksek değerlerde elde edilmiştir. Değişik başlangıç Cu(II) konsantrasyonları dikkate alındığı takdirde genel olarak 4. günde elde edilen en yüksek biyobirikim ölçümlerinden ötürü mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olarak 4. gün kabul edilmiştir.

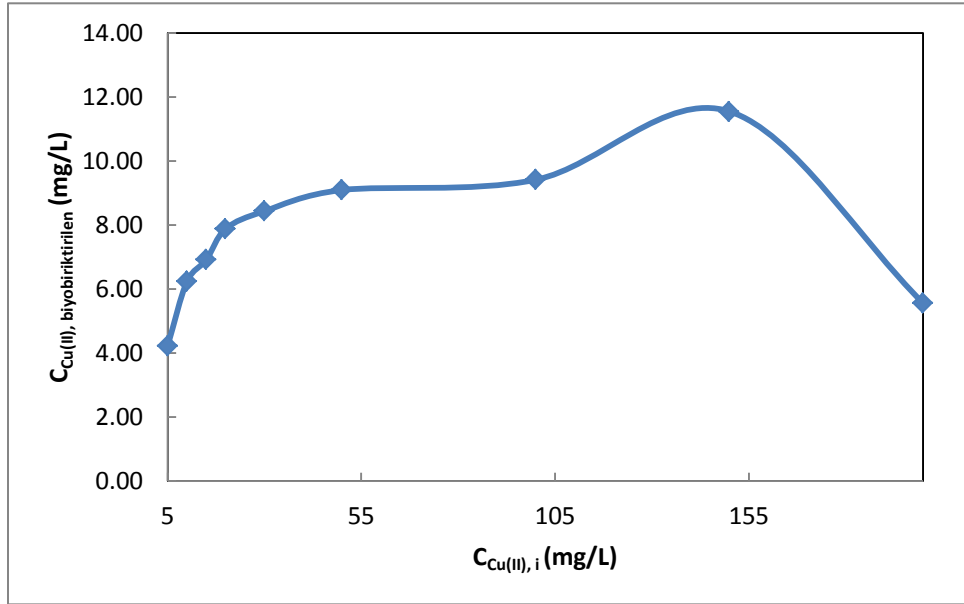
4.5.4.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Başlangıç Cu(II) konsantrasyonuna karşı aynı koşullardaki maksimum Cu(II) biyobirikim verileri incelendiğinde, başlangıç metal konsantrasyonunun 5 mg/L'den 30 mg/L'ye yükseldiği koşullarda, Cu(II) biyobirikiminde azalan bir artış söz konusudur. 50 mg/L başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonuna çıkıldığında biyobiriktilen Cu(II) miktarı çok

fazla değişim göstermemektedir, yani 30 mg/L'de 8.43 mg/L olan Cu(II) biyobirikimi, başlangıç konsantrasyonu 50 mg/L'ye yükseldiğinde sadece 9.09 olarak ölçülmüştür.

Çizelge 31 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Cu(II) Biyobirikim Verimi (%)	84	62	46	39	28	18	9	8	3



Şekil 28 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun değişim grafiği

100 mg/L ve 150 mg/L başlangıç Cu(II) konsantrasyonu koşullarında yapılan çalışmalarda ise önemli bir artış görülmektedir. Fakat 200 mg/L başlangıç Cu(II) konsantrasyonunda gerçekleştirilen çalışmalarda ise hızlı bir düşüş gözlemlenmektedir (Şekil 28).

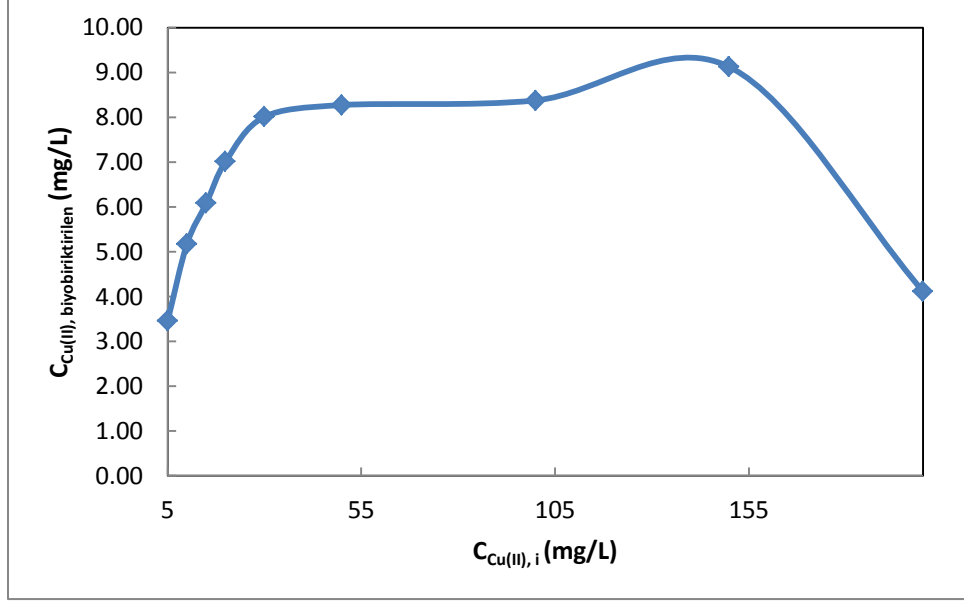
4.5.4.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Çizelge 32 ve Şekil 29'da görüldüğü üzere pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki, başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunda, 5 mg/L başlangıç konsantrasyonundan 30 mg/L, başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun olduğu koşullara kadar hızlı bir biyobirikim artışı gerçekleşmiştir. Başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun 30 mg/L ile 100 mg/L olduğu koşullarda biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu, yatay bir seyir izlemiş ve 8.01 mg/L ile 8.37 mg/L aralığında ölçülmüştür.

Başlangıç metal konsantrasyonunun 150 mg/L olduğu koşullarda biyobirikim ölçümlerinde bir artış gözlemlense de bu miktar oransal olarak çok düşük olup % 6.08'dir.

Çizelge 32 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Cu(II) Biyobirikim Verimi (%)	69	52	41	35	27	17	8	6	2



Şekil 29 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişim grafiği

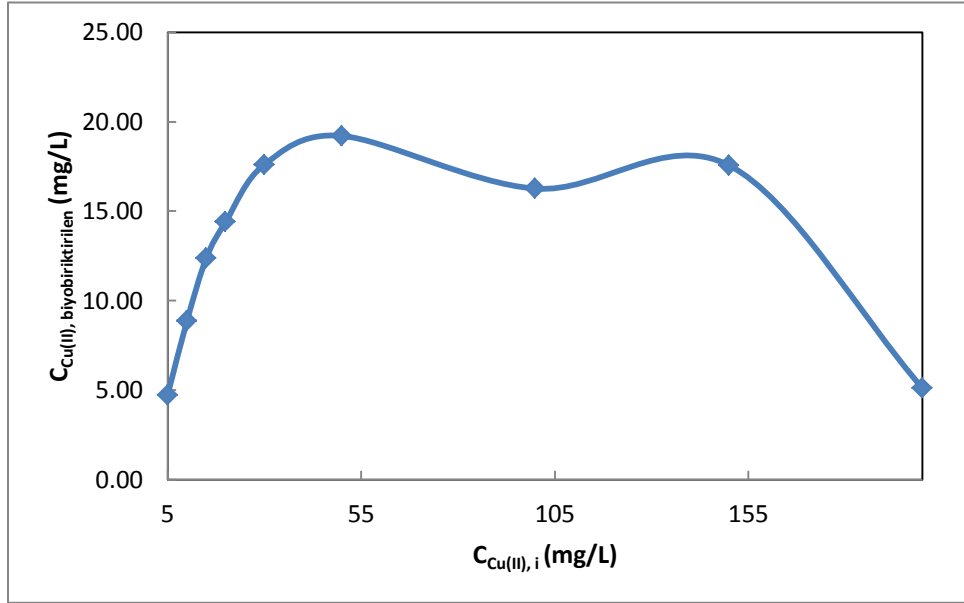
4.5.4.3. pH 5 ve 35 °C

R. delemar mikroorganizması tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişiminin en yüksek olduğu değerler, pH 5 ve 35 °C'de gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilmiştir.

Başlangıç metal konsantrasyonunun biyobirikim değerlerini yansıtan Çizelge 33 ve Şekil 30'da görüldüğü üzere 5 mg/L başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonundan, 50 mg/L başlangıç konsantrasyonuna değişen koşullarda, biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunda dikkat çekici bir artış olmuş ve biyobirikim değerleri 4.70 mg/L'den 19.21 mg/L'ye yükselmiştir. 100 mg/L ve üzerindeki başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarının olduğu koşullardaki biyobirikim değerleri ise düşüş göstermiştir.

Çizelge 33 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Cu(II) Biyobirikim Verimi (%)	94	89	83	72	59	38	16	12	3



Şekil 30 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişim grafiği

4.5.4.4. pH 8 ve 35 °C

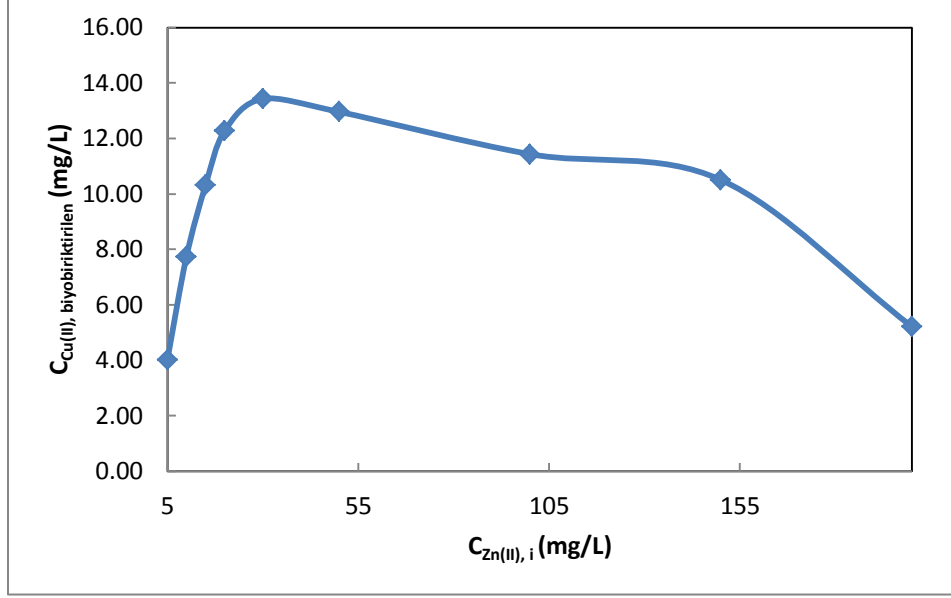
pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre

biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimleri Çizelge 34 ve Şekil 31’de verilmiştir.

Buna göre, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 5 mg/L iken, Cu(II) biyobirikimi 4.01 mg/L olarak ölçülmüş, başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L iken ise 13.43 mg/L biyobirikim elde edimiştir. 50 mg/L ve üzerindeki başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlardaki biyobirikim değerlerinde ise düşüş görölmektedir.

Çizelge 34 pH 8 ve 35 °C’de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Cu(II) Biyobirikim Verimi (%)	80	77	69	61	45	26	11	7	3



Şekil 31 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Cu(II) konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun değişim grafiği

4.5.5. Mikroorganizma konsantrasyonu

4.5.5.1. pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C)

pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişiminde başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonunun mikroorganizma üremesi üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu görülmektedir.

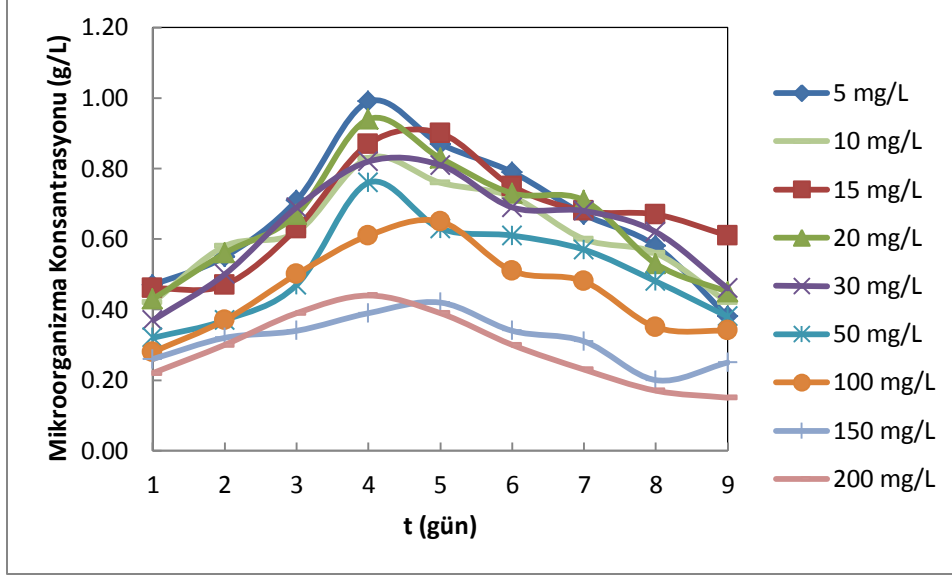
5 mg/L ile 30 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu değişimde mikroorganizma konsantrasyonu değerleri birbirlerine yakın olarak elde edilmiştir. 4. gündeki maksimum seviyede bulunan mikroorganizma konsantrasyonu değerleri ele alındığında bu değişim 0.99 g/L ile 0.82 g/L arasındadır. 5. gündeki mikroorganizma konsantrasyonları incelendiğinde ise bu aralık 0.90 g/L ile 0.81 g/L arasında şekillenmiştir.

150 mg/L ve 200 mg/L başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda ise mikroorganizma üremesi oldukça sınırlıdır.

pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 35 ve Şekil 32'de görülebilmektedir.

Çizelge 35 pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
5	0.47	0.55	0.71	0.99	0.87	0.79	0.67	0.58	0.38
10	0.42	0.58	0.62	0.83	0.76	0.72	0.60	0.56	0.42
15	0.46	0.47	0.63	0.87	0.90	0.75	0.68	0.67	0.61
20	0.43	0.56	0.67	0.94	0.83	0.73	0.71	0.53	0.45
30	0.37	0.50	0.69	0.82	0.81	0.69	0.68	0.62	0.46
50	0.32	0.37	0.47	0.76	0.63	0.61	0.57	0.48	0.38
100	0.28	0.37	0.50	0.61	0.65	0.51	0.48	0.35	0.34
150	0.26	0.32	0.34	0.39	0.42	0.34	0.31	0.20	0.25
200	0.22	0.30	0.39	0.44	0.39	0.30	0.23	0.17	0.15



Şekil 32 pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

4.5.5.2. pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C)

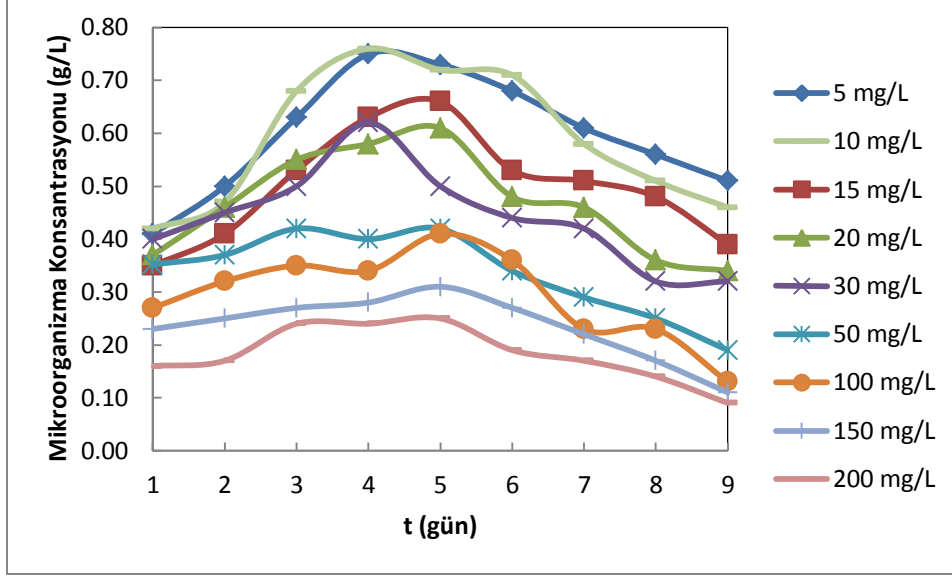
Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen mikroorganizma konsantrasyonu süreç gözleme ve inceleme deneyleri kapsamında pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen çalışmalarda tüm başlangıç metal konsantrasyonu koşullarında 3, 4 ve 5. günlerde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonu ölçümleri birbirine çok yakın gerçekleşmiştir.

En yüksek mikroorganizma konsantrasyonu başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonunun 10 mg/L olduğu koşullarda 4. gün sonunda elde edilmiştir. Bu değer ile hemen hemen aynı olan bir diğer nokta ise 5 mg/L başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu 4. gündür. Bu değerler 5 mg/L başlangıç konsantrasyonundaki ortam için 0.75 g/L iken, 10 mg/L başlangıç konsantrasyonundaki ortam için 0.76 g/L'dir.

pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimleri Çizelge 36 Şekil 33'ten görülebilmektedir.

Çizelge 36 pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
5	0.41	0.50	0.63	0.75	0.73	0.68	0.61	0.56	0.51
10	0.42	0.47	0.68	0.76	0.72	0.71	0.58	0.51	0.46
15	0.35	0.41	0.53	0.63	0.66	0.53	0.51	0.48	0.39
20	0.37	0.46	0.55	0.58	0.61	0.48	0.46	0.36	0.34
30	0.40	0.45	0.50	0.62	0.50	0.44	0.42	0.32	0.32
50	0.35	0.37	0.42	0.40	0.42	0.34	0.29	0.25	0.19
100	0.27	0.32	0.35	0.34	0.41	0.36	0.23	0.23	0.13
150	0.23	0.25	0.27	0.28	0.31	0.27	0.22	0.17	0.11
200	0.16	0.17	0.24	0.24	0.25	0.19	0.17	0.14	0.09



Şekil 33 pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

4.5.5.3. pH 5 ve 35 °C

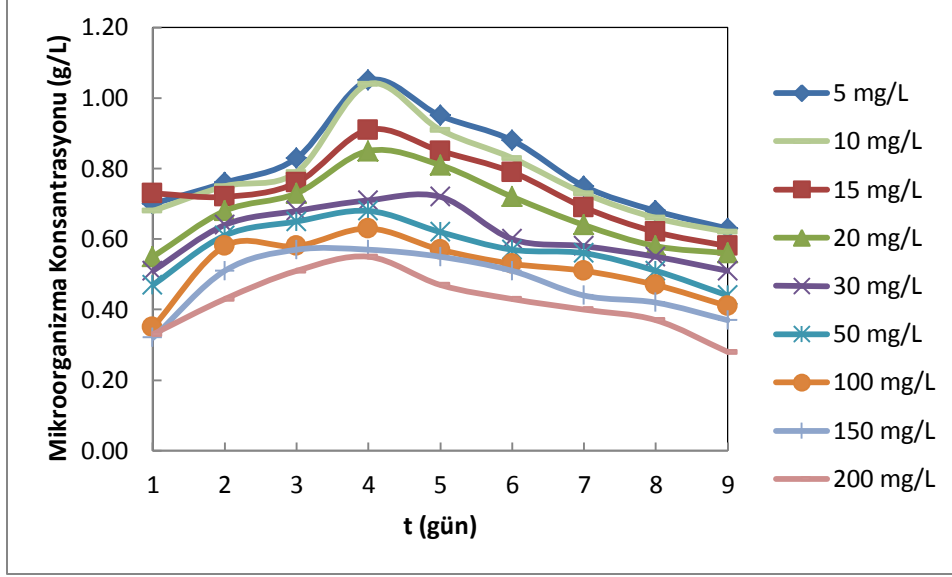
Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonunu olduğu ortamlarda pH 5 ve 35 °C'deki koşullarda gerçekleştirilen deneylerde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi ölçümleri Çizelge 37 ve Şekil 34'te verilmiştir.

Bu koşullarda elde edilen mikroorganizma konsantrasyonu değerleri Cu(II) başlangıç konsantrasyonu içeren ortamlardaki en yüksek mikroorganizma konsantrasyonu değerleri olmuştur.

Bu değerler içinde de en yüksek ölçümlere ağırlıklı olarak 4. günde ulaşılmıştır. Başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonuna göre elde edilen mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu koşullar 5 mg/L ve 10 mg/L'lik başlangıç konsantrasyonlarıdır. Bu noktalarda elde edilen mikroorganizma konsantrasyonları sırasıyla 1.05 g/L ile 1.04 g/L'dir.

Çizelge 37 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
5	0.70	0.76	0.83	1.05	0.95	0.88	0.75	0.68	0.63
10	0.68	0.75	0.79	1.04	0.91	0.83	0.73	0.66	0.62
15	0.73	0.72	0.76	0.91	0.85	0.79	0.69	0.62	0.58
20	0.55	0.68	0.73	0.85	0.81	0.72	0.64	0.58	0.56
30	0.51	0.64	0.68	0.71	0.72	0.60	0.58	0.55	0.51
50	0.47	0.61	0.65	0.68	0.62	0.57	0.56	0.51	0.44
100	0.35	0.58	0.58	0.63	0.57	0.53	0.51	0.47	0.41
150	0.32	0.51	0.57	0.57	0.55	0.51	0.44	0.42	0.37
200	0.33	0.43	0.51	0.55	0.47	0.43	0.40	0.37	0.28



Şekil 34 pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

4.5.5.4. pH 8 ve 35 °C

pH 8 ve 35 °C'de gerçekleştirilen deneylerde görülmektedir ki mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişiminde başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonunun mikroorganizma üremesi üzerinde olumsuz bir etkisi bulunmaktadır.

5 mg/L ile 10 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu içeren ortamlarda mikroorganizma konsantrasyonu değerleri birbirlerine yakın olarak elde edilmiştir. Bununla birlikte 15 mg/L ile 30 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda ölçülen mikroorganizma konsantrasyonu değerleri de birbirlerine çok yakındır.

5 mg/L ile 10 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu içeren ortamlar ve 15 mg/L ile 30 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu içeren ortamlarda 4. gündeki maksimum seviyede bulunan mikroorganizma konsantrasyonu değerleri ele alındığında bu değişim 0.81 g/L ile 0.79 g/L ve 0.68 ile 0.63 g/L arasındadır. 5. gündeki mikroorganizma

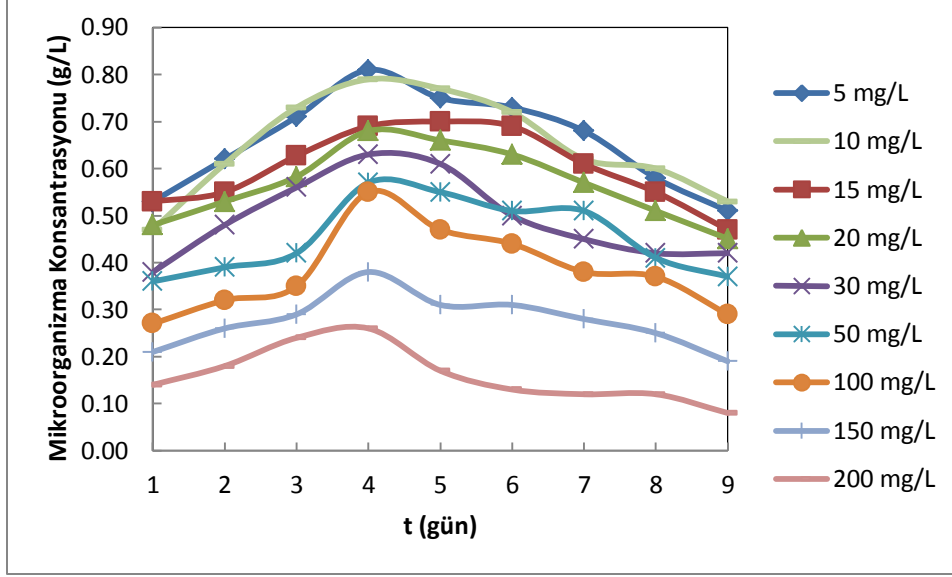
konsantrasyonları incelendiğinde ise bu aralık 0.75 g/L ile 0.77 g/L ve 0.70 ile 0.61 g/L arasında şekillenmiştir.

150 mg/L ve 200 mg/L başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda ise mikroorganizma üremesi oldukça sınırlıdır.

pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 38 ve Şekil 35'te görülebilmektedir.

Çizelge 38 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
5	0.53	0.62	0.71	0.81	0.75	0.73	0.68	0.58	0.51
10	0.47	0.61	0.73	0.79	0.77	0.72	0.62	0.60	0.53
15	0.53	0.55	0.63	0.69	0.70	0.69	0.61	0.55	0.47
20	0.48	0.53	0.58	0.68	0.66	0.63	0.57	0.51	0.45
30	0.38	0.48	0.56	0.63	0.61	0.50	0.45	0.42	0.42
50	0.36	0.39	0.42	0.57	0.55	0.51	0.51	0.41	0.37
100	0.27	0.32	0.35	0.55	0.47	0.44	0.38	0.37	0.29
150	0.21	0.26	0.29	0.38	0.31	0.31	0.28	0.25	0.19
200	0.14	0.18	0.24	0.26	0.17	0.13	0.12	0.12	0.08



Şekil 35 pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişim grafiği

4.5.6. Üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun ilişkisi

Bu bölümde incelenecek olan değerler başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarının 30 mg/L olduğu koşullardaki ölçümlerden oluşmaktadır. 30 mg/L başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonu değerlerinin seçilmesine lipaz enzimi aktivitesinin en yüksek olduğu ve biyobirikim eğilimlerinin artış gösterdiği koşullar birlikte değerlendirilerek karar verilmiştir.

4.5.6.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

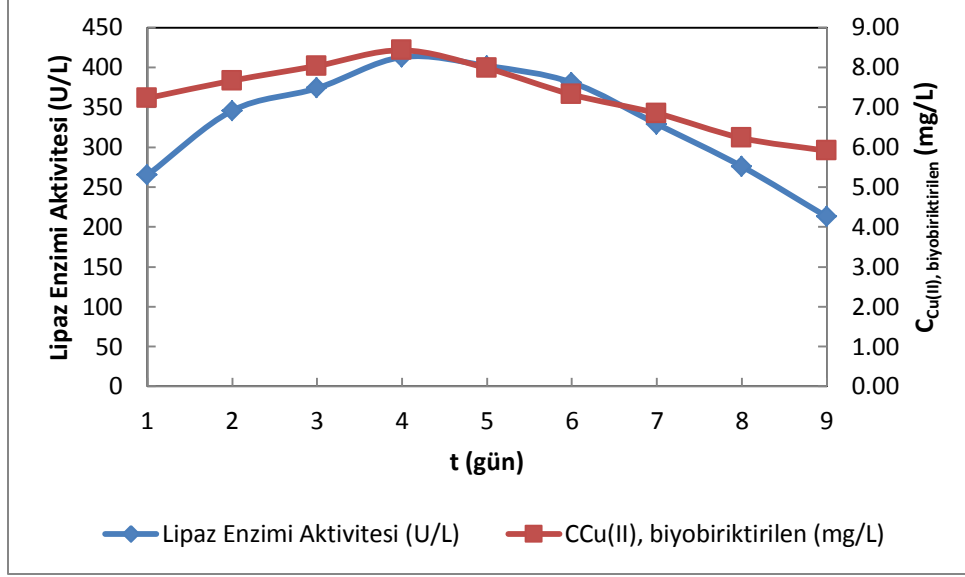
pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda lipaz enzimi aktivitesi ve Cu(II) ağır metal biyobirikimi ölçümleri birlikte değerlendirildiğinde görülen eğilim her iki ölçümün de 1. günden itibaren 4 ve 5. günlere kadar bir artış içerisinde olduklarıdır. Lipaz enzimi aktivitesinin ve Cu(II) biyobirikiminin maksimum olduğu 4. günde elde edilen değerler sırasıyla 413 U/L ve 8.43

mg/L'dir. Bu biyobirikim değeri 30 mg/L başlangıç konsantrasyonunun yaklaşık % 28'ini oluşturmaktadır.

pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonun zamanla değişimi Çizelge 39 ve Şekil 36'da görülmektedir.

Çizelge 39 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	265	346	374	413	402	381	329	276	213
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	7.23	7.67	8.04	8.43	7.98	7.32	6.85	6.23	5.91



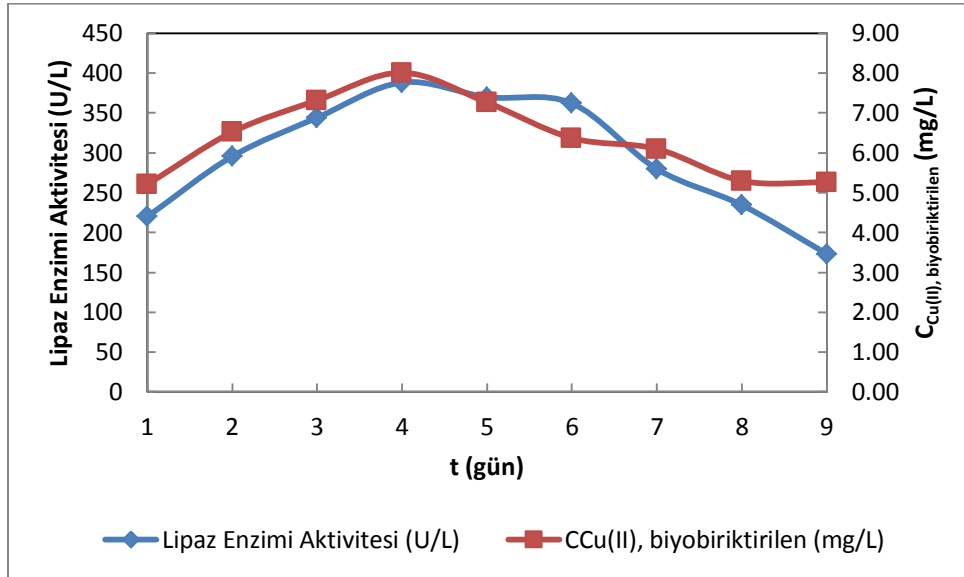
Şekil 36 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.5.6.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Çizelge 40 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

C _{Cu(II), i} (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	220	295	344	388	370	362	280	234	173
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	5.21	6.52	7.32	8.01	7.26	6.37	6.10	5.30	5.26

Çizelge 40 ve Şekil 37’de görüldüğü üzere pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonun zamanla değişiminde ilk 4 gün boyunca beraber bir artış eğilimi söz konusudur. Her iki ölçümün de maksimum seviyede olduğu 4. gün sonunda lipaz enzimi aktivitesi 388 U/L olarak ölçülmüşken, biyobiriktirilen Cu(II) ağır metal konsantrasyonu ise yaklaşık % 27’lik bir oranla 8.01 mg/L olarak elde edilmiştir.



Şekil 37 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonun zamanla değişimi

Daha ileriki zaman dönemlerinde ise Cu(II) ağır metal biyobirikimi düşüş gösterirken, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi 6. gün sonuna kadar fazla bir düşüş göstermeyerek 362 U/L olarak ölçülmüş, fakat daha sonraki günlerde hızla azalmıştır.

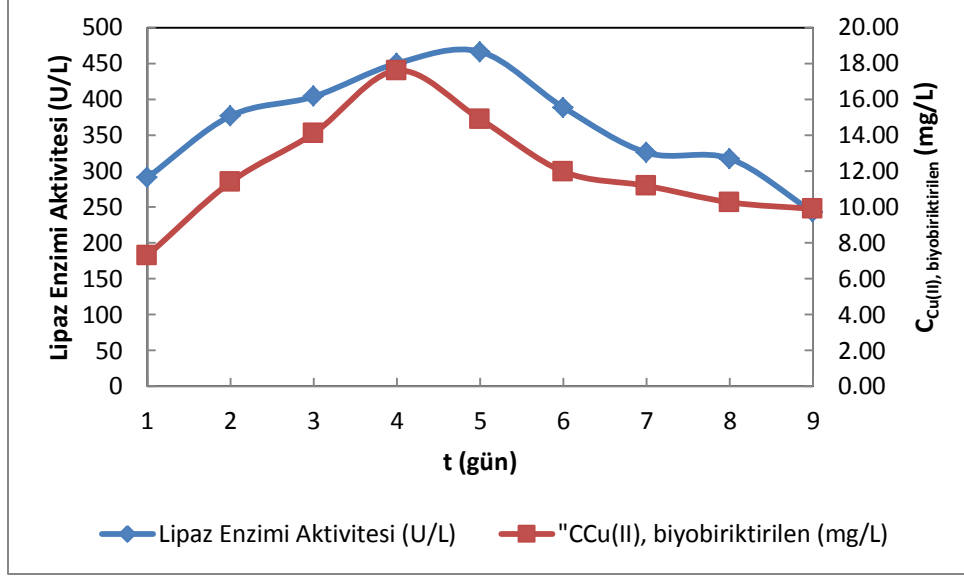
4.5.6.3. pH 5 ve 35 °C

pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi incelendiğinde maksimum enzim aktivitesi ve Cu(II) biyobirikimi değerlerine bu ortam koşullarında ulaşıldığı görülmektedir.

Çizelge 41 ve Şekil 38'de belirtildiği şekliyle 1. günden 4. güne kadar enzim aktivitesi ile birlikte Cu(II) ağır metal konsantrasyonu biyobirikiminde artış bulunmaktadır. 4. gün sonunda lipaz enzimi aktivitesi 450 U/L olurken, biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu 17.69 mg/L olmuştur. Bu biyobirikim oranı yaklaşık % 59'dur. Bu zamandan sonra biyobirikim düşüş gösterirken, enzim aktivitesi 5. gün sonunda en yüksek seviyeye ulaşarak 466 U/L olarak ölçülmüştür. 6. günden itibaren lipaz enzimi aktivitesi de düşüş eğilimi göstermektedir.

Çizelge 41 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	291	377	404	450	466	389	326	317	243
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	7.29	11.39	14.11	17.60	14.89	11.97	11.18	10.26	9.89



Şekil 38 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

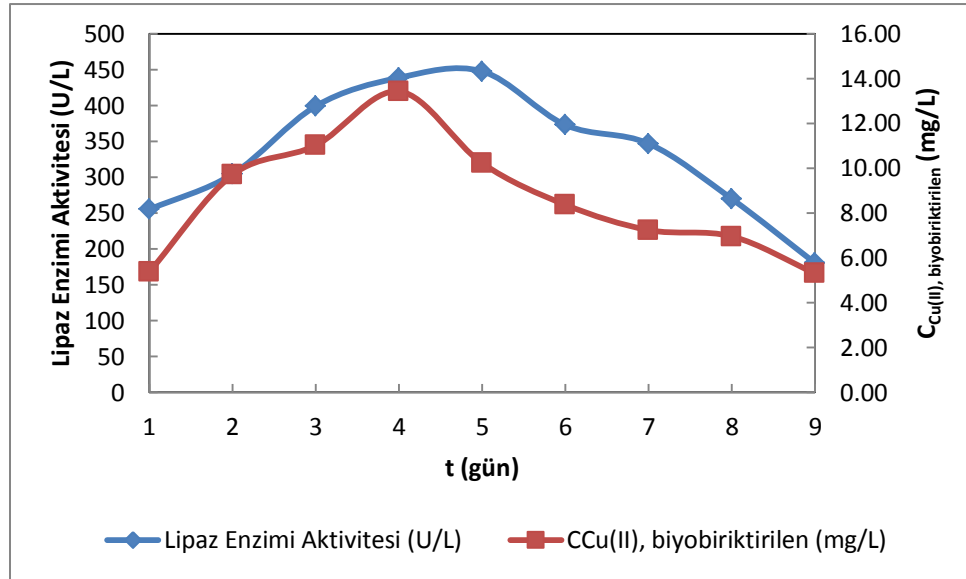
4.5.6.4. pH 8 ve 35 °C

Başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ve pH 8 ve 35 °C koşullarında çalışılmış olan ortamlarda gerçekleştirilen *Rhizopus delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi çalışmalarında 4 ve 5. günlerde en yüksek değerler ölçülmüştür. Bu ölçümler 4. gün için 439 U/L iken, 5. günde ölçülen enzim aktivitesi 448 U/L olarak elde edilmiştir. 6. günden itibaren ise enzim aktivitesinde azalma görülmektedir. Cu(II) ağır metal biyobirikimi çalışmalarında ise yine 4. günde maksimum değerler elde edilmiş ve 13.43 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu ölçüm başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun yaklaşık % 45'inin biyobiriktilildiğini göstermektedir.

pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 42 ve Şekil 39'dan görülebilmektedir.

Çizelge 42 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	255	304	399	439	448	373	347	270	180
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	5.38	9.71	11.02	13.43	10.22	8.37	7.24	6.96	5.31



Şekil 39 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.5.7. Mikroorganizma konsantrasyonu ile biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun ilişkisi

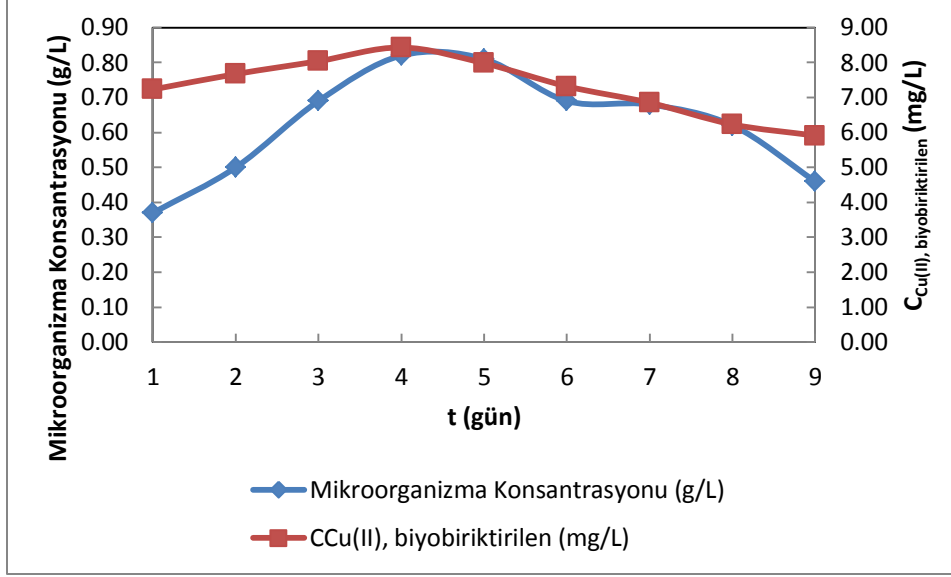
Bu bölümde incelenecek olan parametreler başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarının 30 mg/L olduğu koşullardaki ölçümlerden oluşmaktadır. 30 mg/L başlangıç Cu(II) ağır metal konsantrasyonu değerlerinin seçilmesine bir önceki bölümde yer alan enzim aktivitesi ile birlikte biyobiriktirilen Cu(II) ağır metal konsantrasyonlarındaki seçim referans teşkil etmektedir.

4.5.7.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamlarda mikroorganizma ekimi ile birlikte zaman ilerledikçe artan bir mikroorganizma konsantrasyonu görülmektedir. Bununla birlikte artış miktarı mikroorganizma konsantrasyonu kadar olmasa da Cu(II) biyobirimi de 4. gün sonunda maksimum seviyede ölçülmüş ve 8.43 mg/L olarak elde edilmiştir.

Çizelge 43 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.37	0.50	0.69	0.82	0.81	0.69	0.68	0.62	0.46
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	7.23	7.67	8.04	8.43	7.98	7.32	6.85	6.23	5.91



Şekil 40 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

Aynı noktada mikroorganizma konsantrasyonu ise 0.82 g/L'dir. Mikroorganizma konsantrasyonu 5. günde de aynı şekilde devam edip, daha sonra azalma göstermektedir.

Çizelge 43 ve Şekil 40, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimini göstermektedir.

4.5.7.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

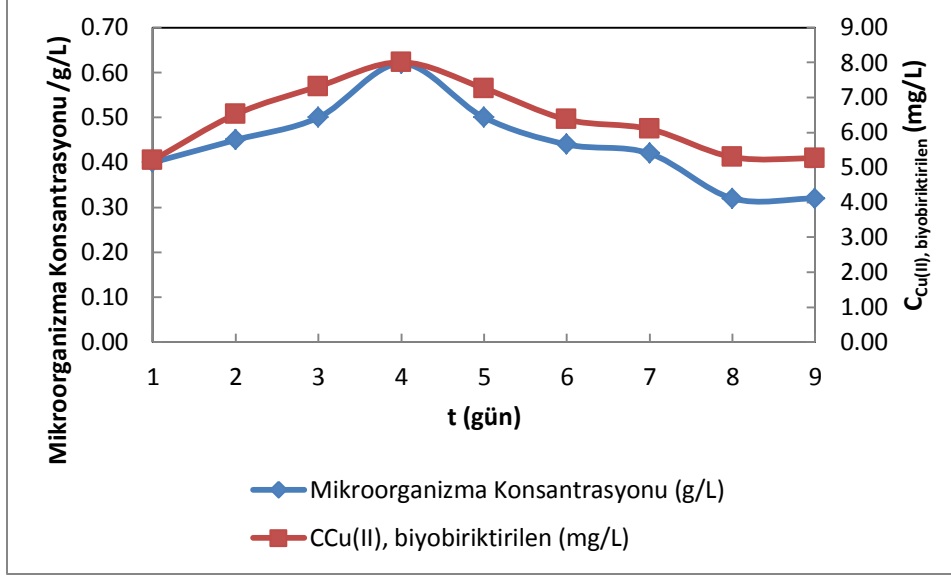
pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu 4. günde en yüksek seviyeye ulaşmış ve 0.62 g/L olarak ölçülmüşken, 3 ile 5. günlerde 0.50 g/L olmuştur. Aynı koşullar altında

mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu 3 ve 5. günler arasında 7. 32 mg/L'den 8.01 mg/L'ye artmış ve daha sonrasında ise 7.26 mg/L'ye gerilemiştir.

pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi yansıtan Çizelge 44 ve Şekil 41'de görüldüğü üzere mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi birbirine paralellik göstermektedir.

Çizelge 44 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.40	0.45	0.50	0.62	0.50	0.44	0.42	0.32	0.32
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	5.21	6.52	7.32	8.01	7.26	6.37	6.10	5.30	5.26



Şekil 41 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

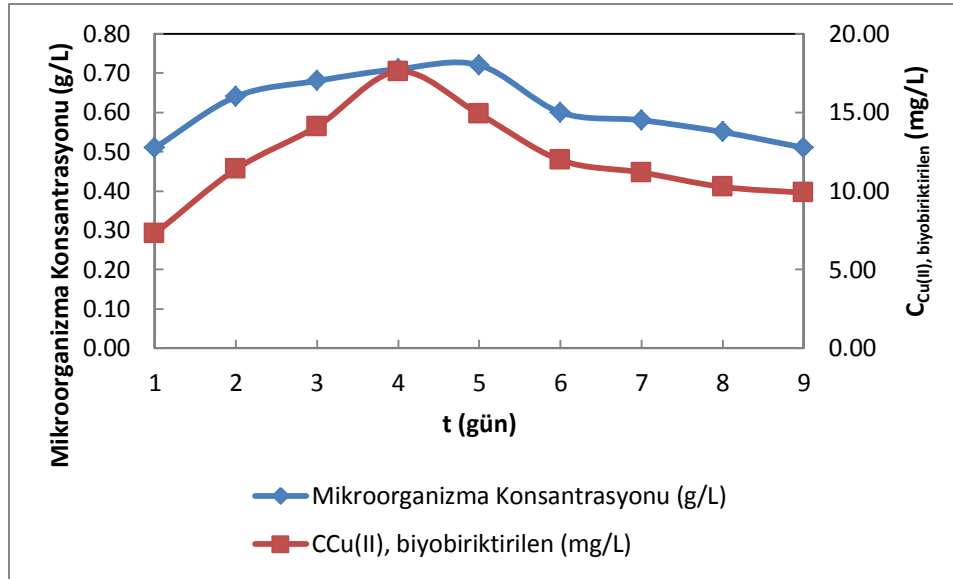
4.5.7.3. pH 5 ve 35 °C

pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimini gösteren Çizelge 45 ve Şekil 42'den görüleceği üzere mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonu 4. gün sonunda maksimum seviyede ölçülmüştür.

Bu noktada elde edilen ölçümler 0.71 g/L mikroorganizma konsantrasyonu ile 17.60 mg/L Cu(II) biyobirikimidir. 4. günden sonra her iki parametrede de düşüş görülmektedir.

Çizelge 45 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.51	0.64	0.68	0.71	0.72	0.60	0.58	0.55	0.51
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	7.29	11.39	14.11	17.60	14.89	11.97	11.18	10.26	9.89



Şekil 42 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

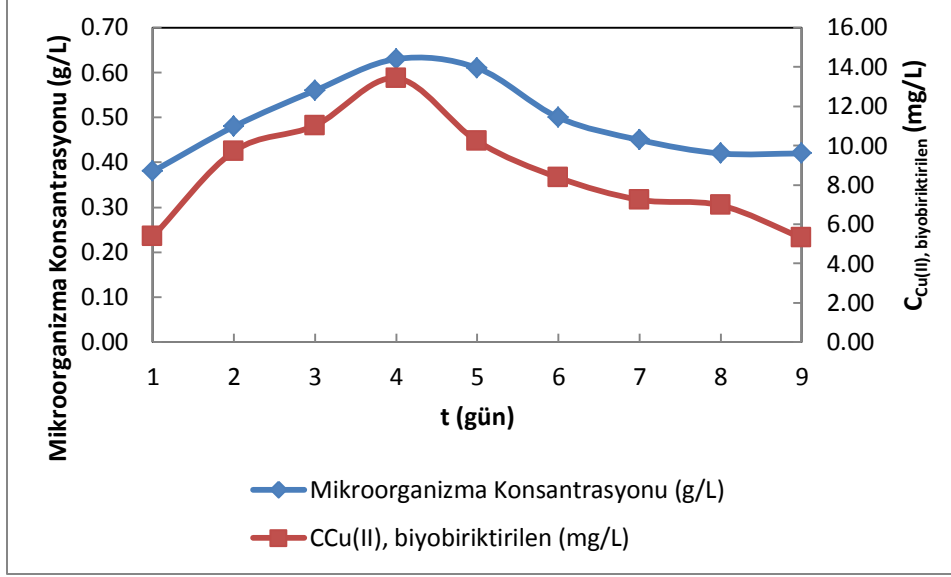
4.5.7.4. pH 8 ve 35 °C

Süreç gözleme ve inceleme deneyleri içerisinde, pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 46 ve Şekil 43'te belirtilmektedir.

Bunlara göre her iki parametrede de belirgin bir şekilde zamana karşı paralel bir değişim görülmektedir. 1. günde 0.38 g/L ile 5.38 mg/L olarak elde edilen mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu, 4. günde maksimum seviyede ölçülmüş ve 0.63 g/L ile 13.43 olmuştur. Buna karşın deney setinin sonunda ise azalma göstererek 0.42 g/L ile 5.31 mg/L değerlerinde ölçülmüşlerdir.

Çizelge 46 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Cu(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.38	0.48	0.56	0.63	0.61	0.50	0.45	0.42	0.42
	Biyobiriktirilen Cu(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	5.38	9.71	11.02	13.43	10.22	8.37	7.24	6.96	5.31



Şekil 43 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Cu(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6. Kesikli Karıştırmalı Kaplarda Zn(II) Biyobirikiminin ve Lipaz Enzimi Üzerine Etkisinin İncelenmesi

Başlangıçta Zn(II) içeren ortamlarda gerçekleştirilen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde mikroorganizmalar tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi, Zn(II) ağır metali biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonlarının 9 günlük zaman dönemi boyunca değişiminin incelenmesi gerçekleştirilmiştir.

Çalışmalarda *R. delemar* küf mantarının Zn(II) içeren değişik koşullardaki lipaz enzimi aktivitesi ile Zn(II) ağır metalinin biyobirikimi ölçümleri ile mikroorganizma konsantrasyonu analizleri için dört ana ortam koşulu altında deneyler gerçekleştirilmiştir. koşulları hazırlanmıştır. pH 5 ve pH 8 olarak iki değişik pH değerindeki besin ortamlarında 5 mg/L ile 200 mg/L arasında değişen 9 ayrı konsantrasyonda ağır metal eklenmiş olup, deneyler oda sıcaklığında (24 °C) ve 35 °C'lik sıcaklıklar altındaki mikroorganizma davranışlarını incelemek üzere gerçekleştirilmiştir.

4.6.1. Lipaz enzimi aktivitesi

4.6.1.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Zn(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi süreç gözleme ve inceleme deneylerinde pH 5 ve oda sıcaklığında, Şekil 44'te görüldüğü üzere 3, 4 ve 5. günlerde yüksek değerler elde edilmiştir.

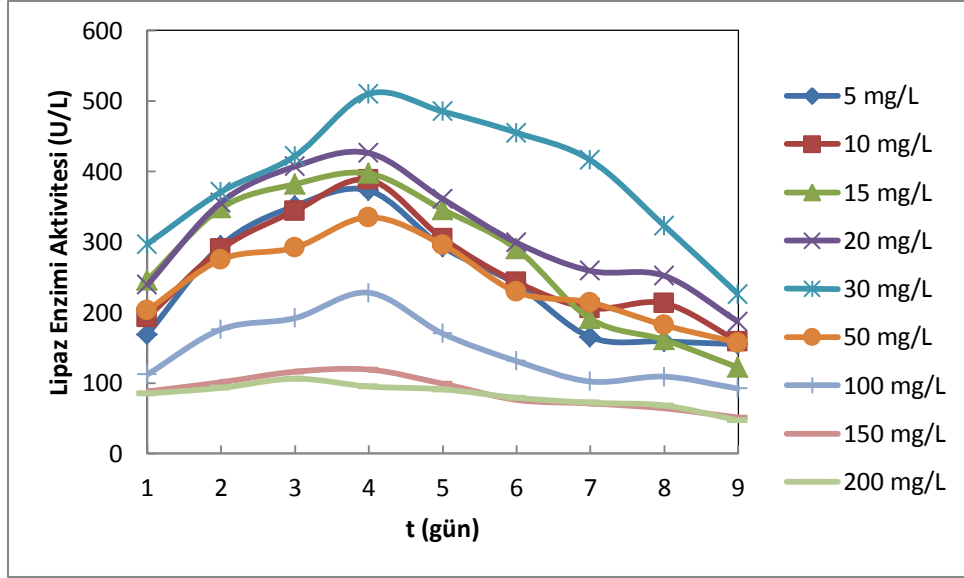
Çizelge 47 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

C _{Zn(II), i} (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
5	169	295	351	373	293	240	165	159	155
10	193	290	344	388	305	243	206	213	159
15	246	348	382	397	346	290	191	161	122
20	239	356	407	426	361	299	259	252	187
30	297	371	422	510	485	455	416	323	226
50	203	275	292	335	296	229	214	182	157
100	112	176	192	228	170	131	102	109	92
150	88	101	116	119	99	76	71	64	51
200	85	93	106	95	91	79	72	68	47

Enzim aktivitesinin en yüksek olduğu değer 4. gün ile Zn(II) başlangıç konsantrasyonunun 30 mg/L olduğu koşullardadır. Bu noktada ölçülen lipaz enzimi aktivitesi 510 U/L'dir. 5. günde ise bu değer 485 U/L'ye gerilemiştir.

100 mg/L ve üzerindeki Zn(II) başlangıç ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullardaki ölçümlerde elde edilen değerler ise çok düşük olmuştur.

Çizelge 47 ve Şekil 44 incelendiğinde başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında, lipaz enzimi aktivitesi ölçümleri görülebilmektedir.



Şekil 44 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

4.6.1.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Zn(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi süreç gözleme ve inceleme deneylerinde pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ölçümlerde en yüksek değerlere 30 mg/L başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun olduğu koşullarda ulaşılmıştır. Daha sonra 20 mg/L'lik ortam koşulları gelirken 5, 10, 15 ve 50 mg/L'lik başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda elde edilen veriler, 20 ve 30 mg/L koşullarından daha düşük fakat birbirleriyle yakındır.

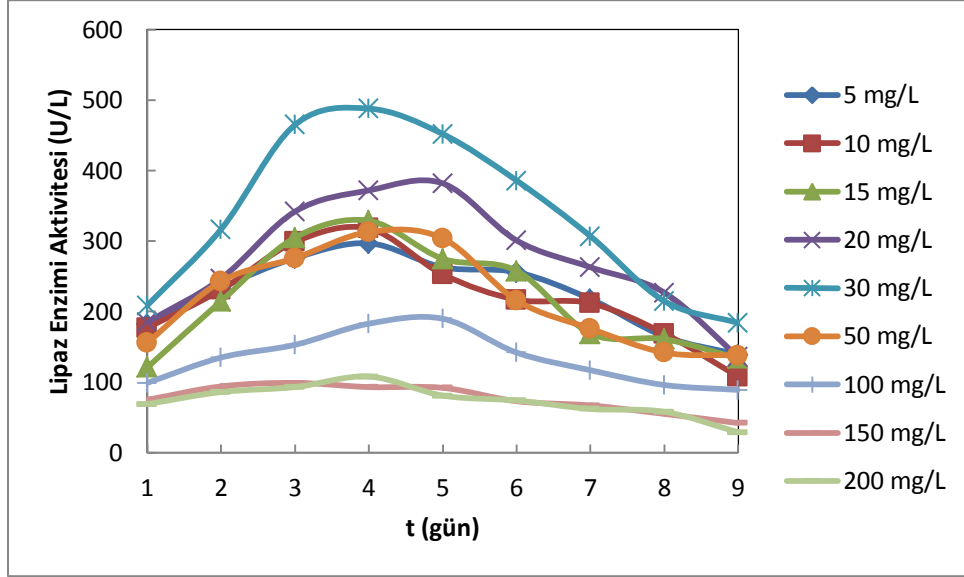
30 mg/L başlangıç metalinin olduğu koşullarda 3, 4 ve 5. günlerde daha yüksek değerler elde edilmiştir. 3. günde lipaz enzimi aktivitesi 465 U/L iken 4. günde elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 488 U/L'ye çıkmış ve 5. günde bu değer 452 U/L'ye gerilemiştir.

5 ile 50 mg/L arasında birbirine yakın görünen enzim aktivitesi değerleri, başlangıç metal konsantrasyonunun 100 mg/L ve daha yüksek olduğu koşullarda oldukça düşük olarak ölçülmüştür.

Çizelge 48 ve Şekil 45 lipaz enzimi aktivitesinin başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren çeşitli ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ölçümleri belirtmektedir.

Çizelge 48 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
5	182	234	276	297	263	256	218	165	139
10	177	231	299	318	253	217	212	169	108
15	121	215	305	329	275	258	169	161	134
20	185	247	342	372	382	301	263	227	136
30	209	317	465	488	452	386	307	215	184
50	156	243	276	313	304	216	176	142	138
100	99	135	153	183	190	142	117	96	89
150	75	94	99	93	92	73	67	55	42
200	69	86	93	108	81	74	62	58	29



Şekil 45 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği

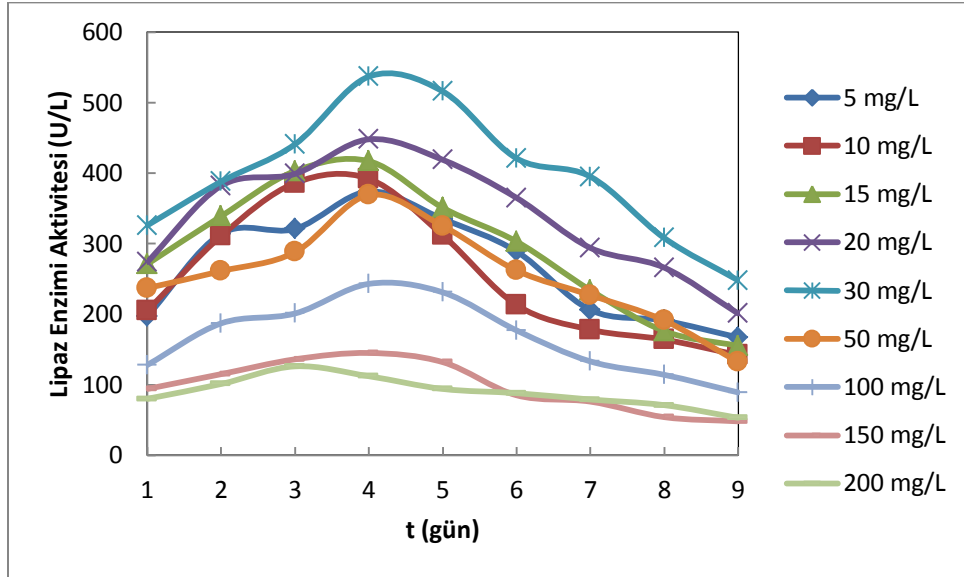
4.6.1.3. pH 5 ve 35 °C

Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de gerçekleştirilen *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi süreç gözleme ve inceleme deneylerinde Çizelge 49'da görüldüğü üzere 3 ile 5. günler arasındaki dönemlerde maksimum ölçümler gerçekleştirilmiştir. Bu dönemlerdeki en yüksek analizler Zn(II) başlangıç konsantrasyonunun 10, 15, 20 ve 30 mg/L olduğu koşullardadır.

Bu noktalarda 3. günde gerçekleştirilen enzim aktivitesi ölçümleri 10, 15, 20 ve 30 mg/L başlangıç Zn(II) konsantrasyonlarına göre sırasıyla 386, 403, 399 ve 441 U/L'dir iken 4. günde ölçülen lipaz enzimi aktiviteleri 10, 15, 20 ve 30 mg/L başlangıç Zn(II) konsantrasyonlarına göre sırasıyla 392, 417, 448 ve 537 U/L'dir. 5. gündeki ölçümler ise gene aynı sıralamayla 312, 351, 419 ve 516 U/L şeklinde olmuştur.

50 mg/L ile birlikte azalma eğilimi gösteren lipaz enzimi aktivitesi değerleri, 100 mg/L ve üzerindeki Zn(II) başlangıç ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullardaki ölçümlerde oldukça büyük düşüşler göstermiştir.

Çizelge 49 ve Şekil 46 incelendiğinde başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında, lipaz enzimi aktivitesi ölçümleri görülebilmektedir.



Şekil 46 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği

Çizelge 49 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

C _{Zn(II), i} (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)									
5	197	314	321	374	335	289	206	191	167
10	205	311	386	392	312	213	178	164	142
15	271	339	403	417	351	303	234	176	155
20	274	382	399	448	419	365	294	266	201
30	326	388	441	537	516	421	395	308	248
50	237	261	288	369	325	262	227	191	132
100	128	187	201	243	231	177	133	114	89
150	94	115	136	145	132	85	76	54	48
200	80	101	126	112	94	88	79	71	53

4.6.1.4. pH 8 ve 35 °C

Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi süreç gözleme ve inceleme deneylerinde, lipaz aktivitesi ölçümlerinde en yüksek değerlere 20 mg/L başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun olduğu koşullarda ulaşılmıştır. 5, 10, 15, 30 ve 50 mg/L'lik başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda elde edilen veriler, 20 mg/L koşullarından daha düşük fakat birbirleriyle yakındır.

20 mg/L başlangıç metalinin olduğu koşullarda 3. günde maksimum değer elde edilmiştir. 3. günde lipaz enzimi aktivitesi 382 U/L iken 4. günde elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 336 U/L'ye, 5. günde bu değer 330 U/L'e ve 6. gün sonunda ise 298 U/L'ye gerilemiştir.

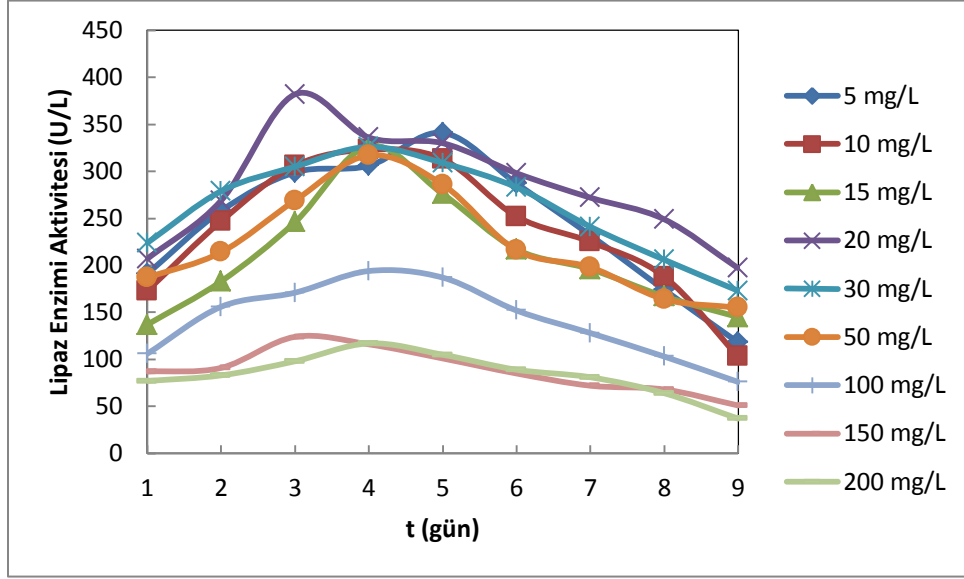
Çizelge 50 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi

C _{Zn(II), i} (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
5	191	258	299	306	341	287	232	174	118
10	173	247	306	323	313	252	225	188	103
15	137	183	246	327	276	217	196	167	145
20	207	269	382	336	330	298	272	249	197
30	224	279	305	326	309	283	241	206	173
50	187	214	269	317	286	216	198	164	155
100	106	156	171	194	187	152	128	103	76
150	87	91	124	116	101	85	72	68	51
200	77	83	98	117	105	89	81	64	37

30 mg/L başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun olduğu koşullarda ise 3, 4 ve 5. günkü enzim aktivitesi değerleri sırasıyla 305, 326, 309 ve 283 U/L olarak ölçülmüştür.

5 ile 50 mg/L arasında birbirine yakın görünen enzim aktivitesi değerleri, başlangıç metal konsantrasyonunun 100 mg/L ve daha yüksek olduğu koşullarda oldukça düşük olarak ölçülmüştür.

Çizelge 50 ve Şekil 47 lipaz enzimi aktivitesinin başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren çeşitli ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen ölçümleri belirtmektedir.



Şekil 47 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin zamanla değişimi grafiği

4.6.2. Mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

Zn(II) iyonu içeren koşullarda gerçekleştirilen analizlerde genellikle 4. günlerdeki enzim aktivitesi ölçümleri en yüksek değerlerde elde edilmiştir. Bunun yanı sıra 3 ve 5. günlerde elde edilen maksimum aktivite ölçümleri de görülebilmektedir. Genel olarak 4. günde görünen en yüksek değer ölçümlerinden ötürü mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olarak 4. gün kabul edilmiştir.

4.6.2.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

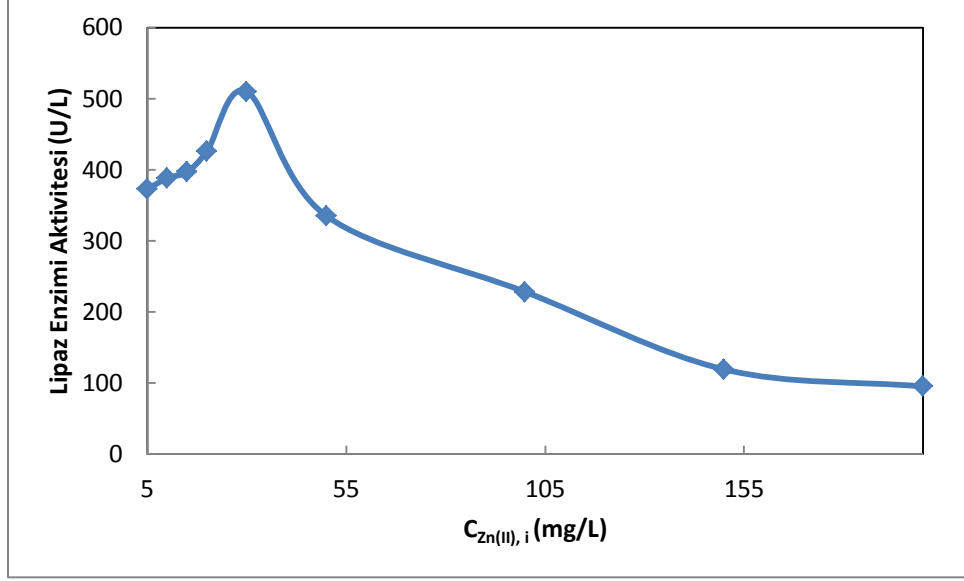
Çizelge 51 ve Şekil 48'den görüleceği üzere yalnız 5 mg/L'lik başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonu ile 30 mg/L Zn(II) başlangıç metal konsantrasyonuna kadar artan bir eğilim varken, bu noktadan itibaren ortamdaki ağır metal artışı, enzim aktivitesi üzerinden negatif bir etki oluşturmaktadır.

Başlangıçtaki Zn(II) metal konsantrasyonunun 30 mg/L olduğu noktada enzim aktivitesi değerleri 510 U/L'dir. Başlangıçtaki Zn(II) metal konsantrasyonunun 5, 10, 15 ve 20 mg/L olduğu koşullarda lipaz enzimi aktivitesi sırasıyla 373, 388, 393 ve 426 U/L olarak ölçülmüştür.

Ağır metal konsantrasyonun 50 mg/L ve daha yüksek olduğu ortam koşullarında ise lipaz enzimi aktivitesinde büyük oranda düşüş gözlemlenmektedir.

Çizelge 51 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. günde başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

C_{Zn(II), i} (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	373	388	397	426	510	335	228	119	95



Şekil 48 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

4.6.2.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

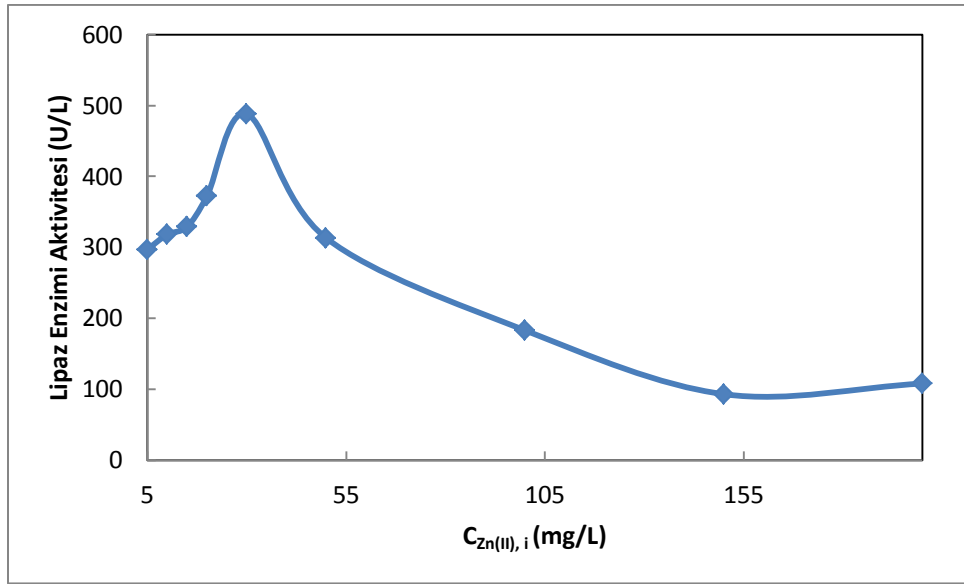
pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) iyon konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimleri incelendiğinde 5, 10, 15 ve 20 mg/L'lik başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarının olduğu koşullarda maksimum enzim aktivitesi hafif bir artış gösterirken, 30 mg/L'lik başlangıç metali içeren ortamdaki değer olan 488 U/L ile en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

Başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun 50 mg/L olduğu koşulda ise bir azalma görülmeye başlanmıştır.

Çizelge 52 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman

olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	297	318	329	372	488	313	183	93	108



Şekil 49 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

Çizelge 52 ve Şekil 49'dan görüleceği üzere 100 mg/L ve üstündeki Zn(II) başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu ortamlardaki maksimum enzim aktivitesi değerleri ise oldukça düşüktür.

4.6.2.3. pH 5 ve 35 °C

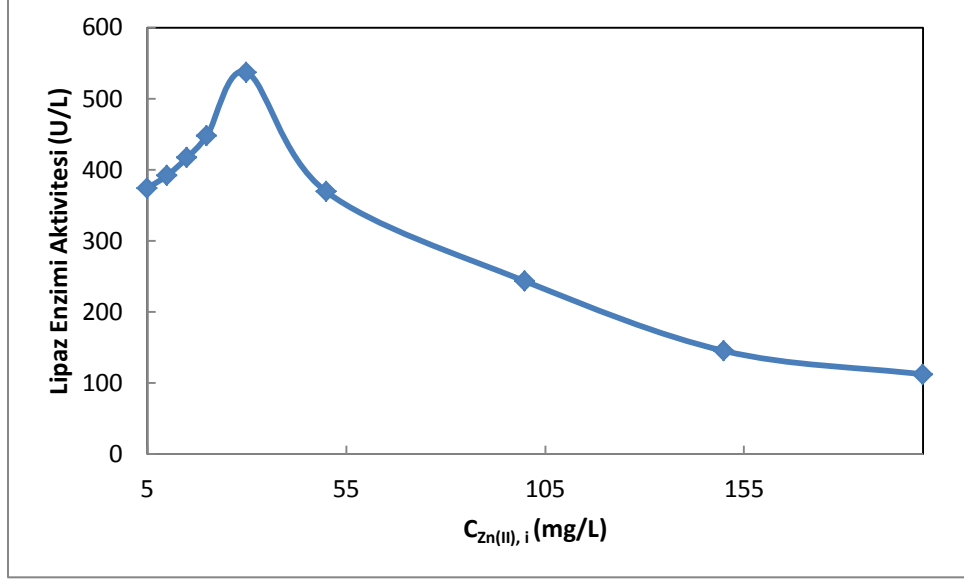
pH 5 ve 35 °C'deki ortam koşullarında *R. delamar* tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olarak değerlendirilen 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi verileri Çizelge 53 ve Şekil 50'de görülmektedir.

Çalışmalarda, 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimleri incelendiğinde 5, 10, 15 ve 20 mg/L'lik başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarının olduğu koşullarda maksimum enzim aktivitesi hafif bir artış gösterirken, 30 mg/L'lik Zn(II) başlangıç metali içeren ortamdaki değer olan 537 U/L ile en yüksek seviyeye ulaşmıştır.

Başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun 50 mg/L olduğu koşulda ise tekrar bir azalma eğilimine girdiği görülmektedir.

Çizelge 53 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	374	392	417	448	537	369	243	145	112



Şekil 50 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

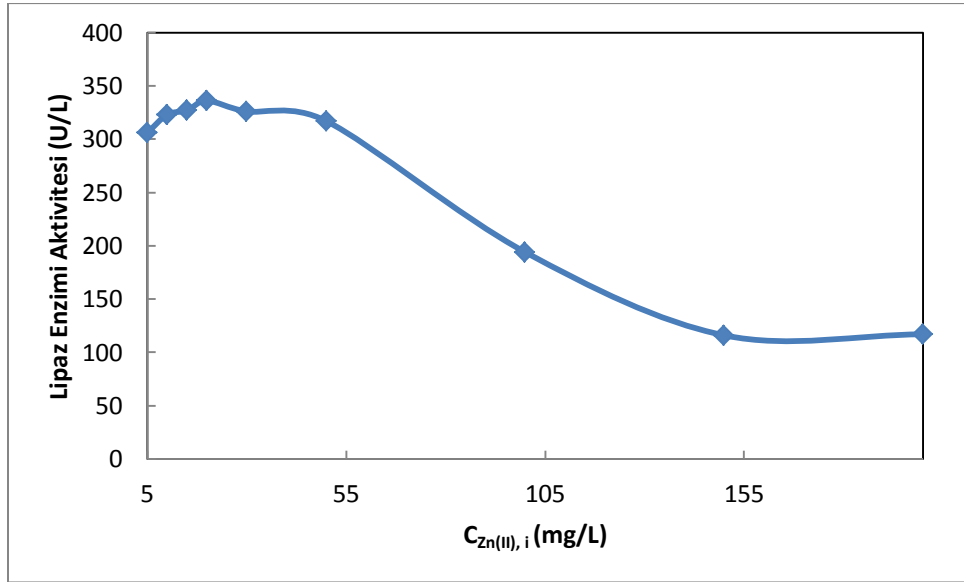
4.6.2.4. pH 8 ve 35 °C

Çizelge 54 ve Şekil 51'den görüleceği üzere 5, 10, 15, 20, 30 ve 50 mg/L Zn(II) başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu ortamlardaki maksimum enzim aktivitesi değerleri birbirlerine çok yakın olup, 306 ile 336 mg/L aralığında ölçülmüştür. Maksimum enzim aktivitesi ise 20 mg/L başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu ortam koşullarda 336 U/L olarak elde edilmiştir.

Diğer deney setlerinde görüldüğü gibi pH 8 ve 35 C'lik ortam koşullarında gerçekleştirilen deneylerde de maksimum enzim aktivitesi değerleri başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun 100 mg/L ve üzerinde olduğu durumlarda oldukça düşük kaydedilmiştir

Çizelge 54 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün EA (U/L)	306	323	327	336	326	317	194	116	117



Şekil 51 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre enzim aktivitesi değişimi grafiği

4.6.3. Zn(II) ağır metal biyobirikimi

4.6.3.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

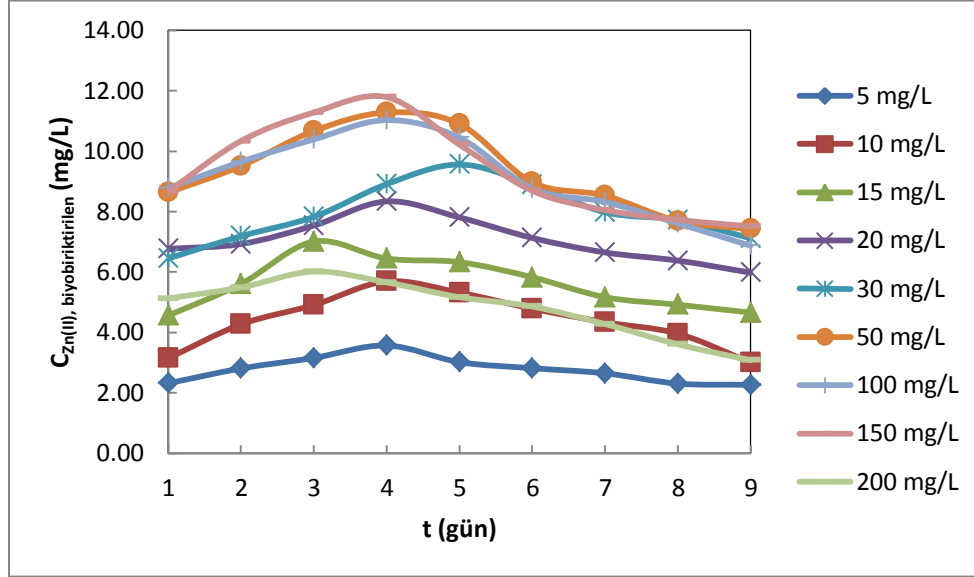
Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 55 ve Şekil 52'de verilmektedir.

Çizelge 55 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	2.32	2.81	3.16	3.57	3.02	2.82	2.65	2.31	2.27
10	3.15	4.27	4.91	5.69	5.32	4.79	4.34	3.96	3.01
15	4.56	5.61	7.01	6.45	6.33	5.83	5.17	4.92	4.66
20	6.77	6.93	7.54	8.34	7.81	7.13	6.65	6.38	5.98
30	6.45	7.19	7.83	8.91	9.56	8.89	7.98	7.72	7.12
50	8.63	9.51	10.67	11.28	10.90	8.97	8.53	7.69	7.42
100	8.78	9.65	10.39	11.03	10.45	8.76	8.32	7.61	6.87
150	8.67	10.34	11.28	11.79	10.22	8.69	8.05	7.73	7.51
200	5.13	5.49	6.02	5.66	5.17	4.86	4.28	3.61	3.08

Analiz verileri incelendiğinde görülmektedir ki, mikroorganizmaların genel olarak biyobiriktirdikleri Zn(II) iyonları, 3 ve 5. günler arasında maksimum seviyede olmaktadır. Bu koşullardaki en yüksek Zn(II) biyobirikimi yaklaşık % 71 tekabül eden şekilde 3.57

mg/L ile 5 mg/L başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu ortamlarda görülürken, Zn(II) başlangıç ağır metal konsantrasyonundaki artış ile mikroorganizmanın biyobiriktirme özelliği azalmaktadır.



Şekil 52 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

4.6.3.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 56 ve Şekil 53'te görülmektedir.

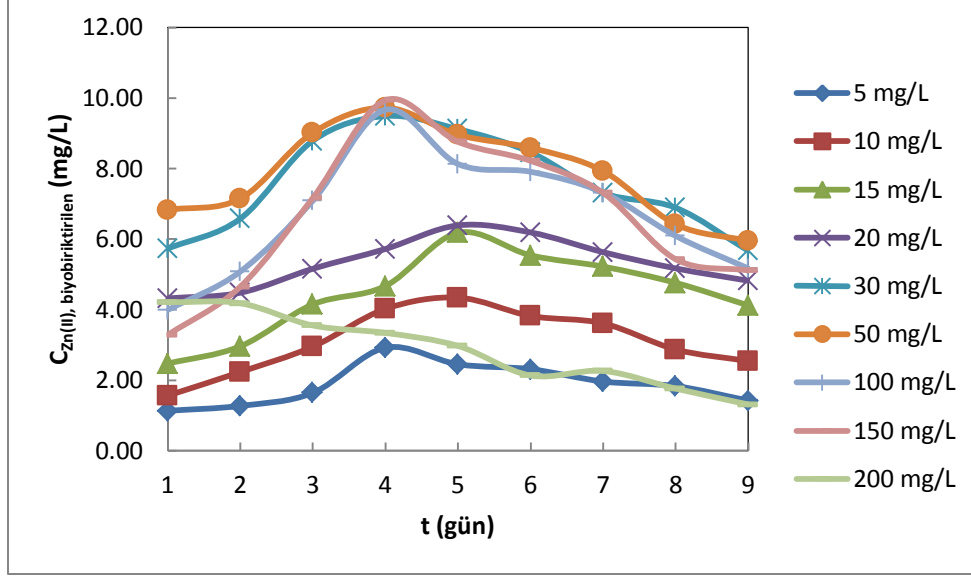
Genel olarak 3 ile 6. günler arasında maksimum değerlerde ölçülen Zn(II) biyobirikimi, başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonunun artışı ile azalma göstermektedir.

Başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonunun 5 mg/L olduğu koşullarda, biyobiriktirilen Zn(II) ağır metali konsantrasyonu 4. gün sonunda 2.92 mg/L olmuştur. Bu değer, yaklaşık %

58'lik bir biyogiderime tekabül ederken, 200 mg/L başlangıçta Zn(II) ağır metali içeren ortamdaki maksimum biyobirikim sadece % 1.5 seviyesindedir.

Çizelge 56 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	1.13	1.27	1.64	2.92	2.45	2.31	1.96	1.83	1.42
10	1.56	2.23	2.95	4.02	4.34	3.82	3.61	2.87	2.54
15	2.47	2.96	4.15	4.67	6.18	5.54	5.22	4.76	4.12
20	4.32	4.48	5.16	5.72	6.39	6.19	5.63	5.17	4.82
30	5.73	6.58	8.79	9.49	9.12	8.46	7.31	6.89	5.67
50	6.83	7.15	9.02	9.73	8.96	8.59	7.93	6.42	5.95
100	3.99	5.08	7.09	9.67	8.13	7.91	7.32	6.09	5.17
150	3.28	4.65	7.17	9.94	8.76	8.22	7.31	5.43	5.11
200	4.21	4.18	3.55	3.34	2.97	2.13	2.26	1.76	1.31



Şekil 53 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

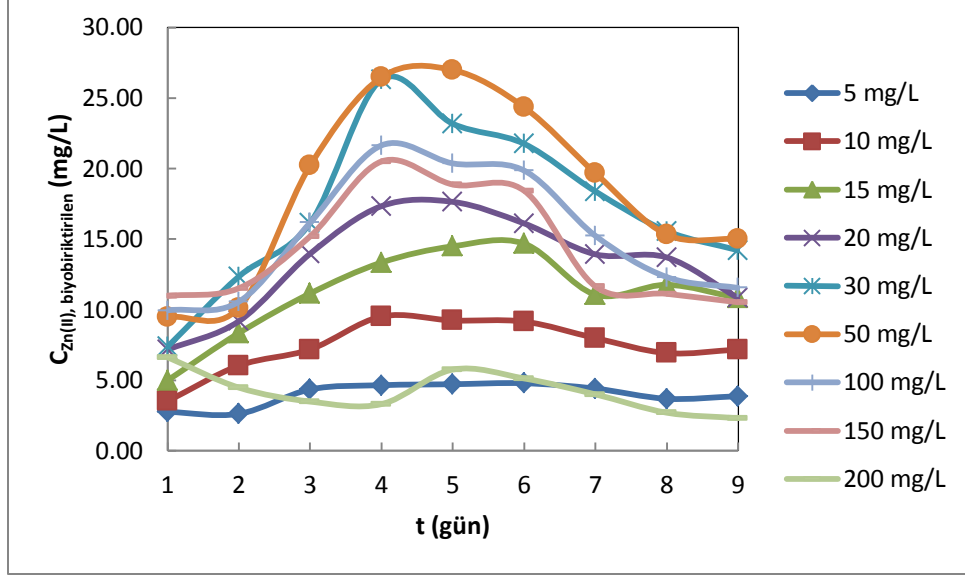
4.6.3.3. pH 5 ve 35 °C

Çizelge 57 ve Şekil 54'ten görüleceği üzere pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi değerleri başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonu arttıkça artış gösteriyor gibi görünse de, yüzde olarak incelendiğinde en yüksek biyobirikim değerlerine 5, 10, 15, 20 ve 30 mg/L başlangıç konsantrasyonunun olduğu 3, 4, 5 ve 6. günlerde ulaşılmıştır. Bu noktalarda ölçülen biyobirikim değerleri yüzde olarak ise yaklaşık % 87 ile % 96 arasında değişen bir Zn(II) giderimine tekabül etmektedir.

Genel olarak 3 ve 6. günler arasında maksimum değerlerde ölçülen Zn(II) biyobirikimi, başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonunun artışı ile azalma göstermektedir. 200 mg/L başlangıçta Zn(II) ağır metali içeren ortamdaki maksimum biyobirikim sadece % 2.9 seviyesindedir.

Çizelge 57 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	2.75	2.61	4.34	4.64	4.71	4.78	4.40	3.68	3.86
10	3.51	6.03	7.18	9.51	9.23	9.15	7.98	6.92	7.17
15	4.98	8.34	11.15	13.34	14.49	14.68	11.06	11.76	10.83
20	7.16	9.18	13.97	17.34	17.64	16.11	13.92	13.70	10.82
30	7.37	12.35	16.14	26.31	23.18	21.76	18.38	15.57	14.21
50	9.48	10.13	20.22	26.48	26.99	24.35	19.67	15.32	15.01
100	9.95	10.56	16.17	21.65	20.37	19.86	15.23	12.31	11.54
150	10.97	11.52	15.20	20.51	18.87	18.43	11.64	11.12	10.52
200	6.62	4.47	3.48	3.30	5.75	5.12	3.99	2.69	2.30



Şekil 54 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

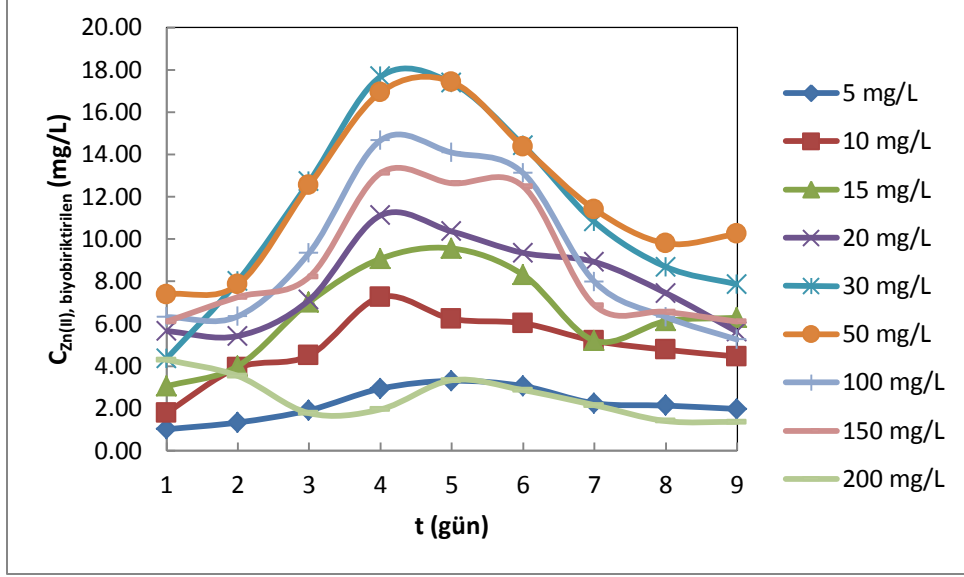
4.6.3.4. pH 8 ve 35 °C

pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi ölçümlerinde maksimum % 66'lık bir biyobirikim değeri görülmektedir. Başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonunun 5 mg/L olduğu koşullarda 5. gün sonunda elde edilen bu değer 3.30 mg/L'dir.

Başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonundaki artış biyobirikim veriminde azalmaya sebep olmaktadır. Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 58 ve Şekil 55'te verilmektedir.

Çizelge 58 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Biyobiriktilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
5	1.01	1.33	1.91	2.93	3.30	3.05	2.24	2.13	1.97
10	1.79	3.92	4.50	7.26	6.23	6.02	5.19	4.77	4.45
15	3.04	4.00	7.02	9.07	9.56	8.31	5.20	6.12	6.28
20	5.65	5.42	7.12	11.12	10.36	9.35	8.92	7.45	5.62
30	4.35	8.02	12.72	17.68	17.38	14.44	10.81	8.69	7.86
50	7.39	7.85	12.54	16.94	17.43	14.36	11.41	9.80	10.24
100	6.31	6.35	9.35	14.67	14.09	13.12	7.99	6.32	5.25
150	6.10	7.26	8.21	13.12	12.64	12.49	6.87	6.56	6.10
200	4.30	3.53	1.77	1.95	3.33	2.86	2.15	1.40	1.36



Şekil 55 Zn(II) iyonu içeren ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi grafiği

4.6.4. Mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

Zn(II) başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda gerçekleştirilen analizlerde genellikle 3 ve 5. günlerdeki biyobirikim ölçümleri en yüksek değerlerde elde edilmiştir.

Değişik başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonları dikkate alındığı takdirde genel olarak 4. günde elde edilen en yüksek değer ölçümlerinden ötürü mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olarak 4. gün kabul edilmiştir.

4.6.4.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonuna karşı aynı koşullardaki maksimum Zn(II) biyobirikim verileri incelendiğinde başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonunun 5

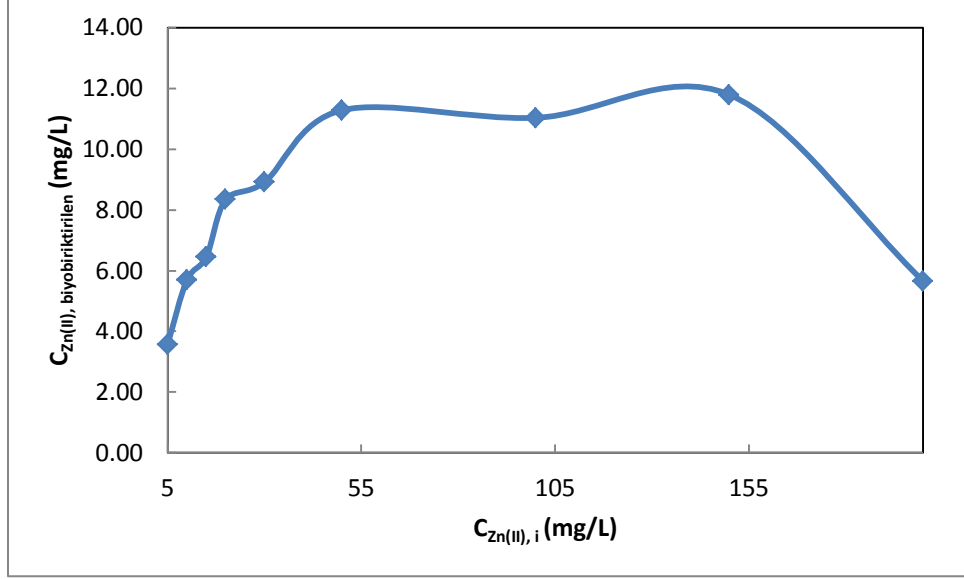
mg/L'den 30 mg/L'ye yükseldiği koşullarda Zn(II) biyobirikiminde azalan bir artış söz konusudur. Fakat başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonunun 50 mg/L olduğu koşullarda ise bir sıçrama görülmektedir. Kısacası 30 mg/L'de 8.91 mg/L olan Zn(II) biyobirikimi, başlangıç konsantrasyonu 50 mg/L'ye yükseldiğinde 11.28 olarak ölçülmüştür.

50 mg/L başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonuna çıkıldığında biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonu ile 100 mg/L ve 150 mg/L başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonu koşullarında yapılan çalışmalarda biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonu çok fazla değişim göstermemektedir. Fakat 200 mg/L başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonunda gerçekleştirilen çalışmalarda ise hızlı bir düşüş gözlemlenmektedir.

pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi Çizelge 59 ve Şekil 56'dan görülebilir.

Çizelge 59 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

C_{Zn(II), i} (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Zn(II) Biyobirikim Verimi (%)	71	57	43	42	30	23	11	8	3



Şekil 56 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

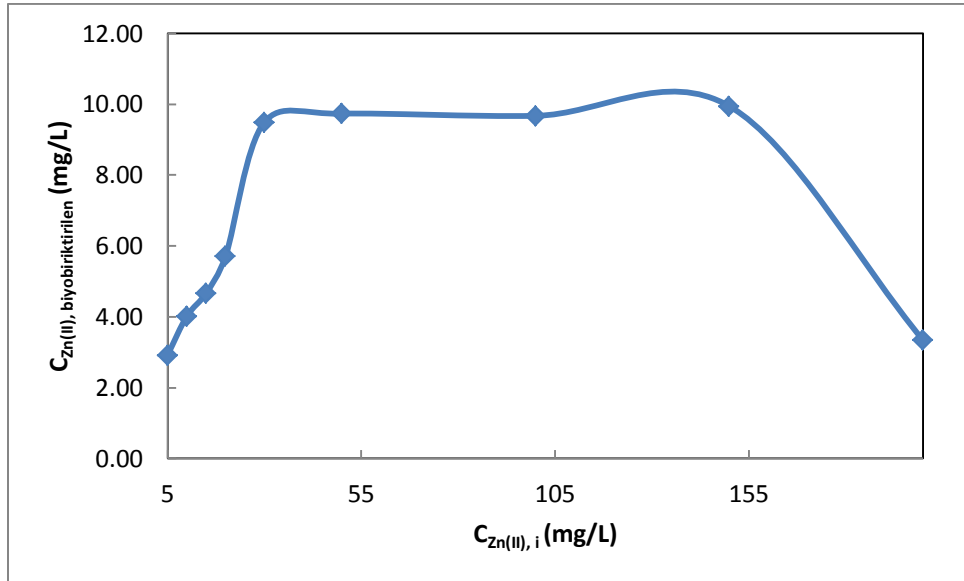
4.6.4.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Çizelge 60 ve Şekil 57’de görüldüğü üzere pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunda 5 mg/L başlangıç konsantrasyonundan 30 mg/L başlangıçta Zn(II) konsantrasyonunun olduğu koşullara kadar hızlı bir biyobirikim artışı gerçekleşmiştir. Başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonunun 30 mg/L ile 150 mg/L koşullarda biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonu yatay bir seyir izlemiş ve 9.49 mg/L ile 9.94 mg/L aralığında ölçülmüştür.

Başlangıç metal konsantrasyonunun 200 mg/L olduğu koşullarda biyobirikim ölçümleri oldukça azalmış ve % 1.67 düzeyinde gerçekleşmiştir.

Çizelge 60 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Zn(II) Biyobirikim Verimi (%)	59	40	31	29	32	19	10	7	2



Şekil 57 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C) mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

4.6.4.3. pH 5 ve 35 °C

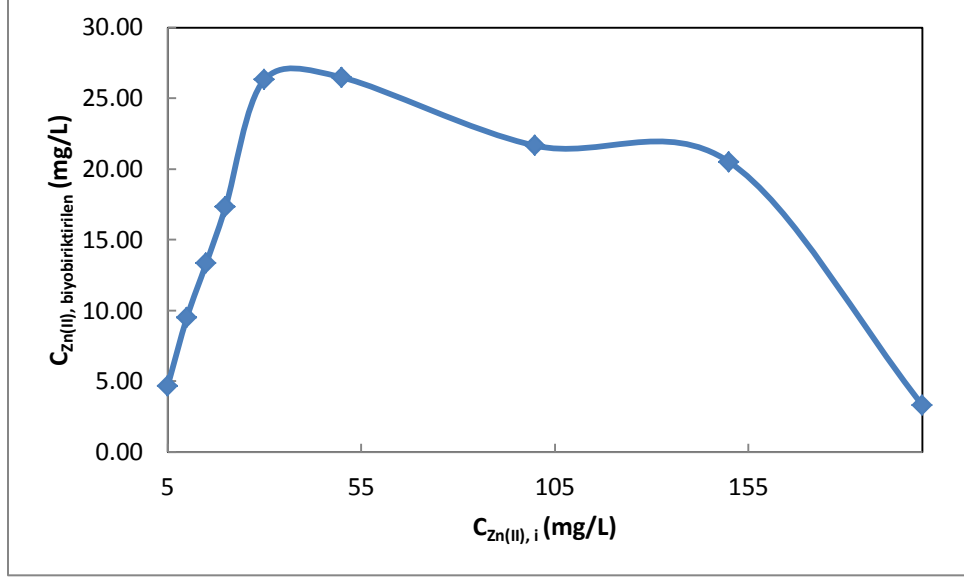
Mikroorganizması tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişiminin en yüksek olduğu değerler pH 5 ve 35 °C'de gerçekleştirilen ölçümlerde elde edilmiştir.

Başlangıç metal konsantrasyonunun biyobirikim değerlerini yansıtan Çizelge 61 ve Şekil 58'de görüldüğü üzere 5 mg/L başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonundan 30 mg/L başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonuna değişen koşullarda, biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunda dikkat çekici bir artış olmuş ve biyobirikim değerleri 4.64 mg/L'den 26.31 mg/L'ye yükselmiştir.

Başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonunun 50 mg/L olduğu koşulda ise ihmal edilebilecek bir artış ile 26.48 mg/L Zn(II) biyobirikimi ölçülmüştür. başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonuna 100 mg/L ve üzerindeki başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarının olduğu koşullardaki biyobirikim değerleri ise düşüş eğilimi göstermiştir.

Çizelge 61 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Zn(II) Biyobirikim Verimi (%)	93	95	89	87	88	53	22	14	2



Şekil 58 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

4.6.4.4. pH 8 ve 35 °C

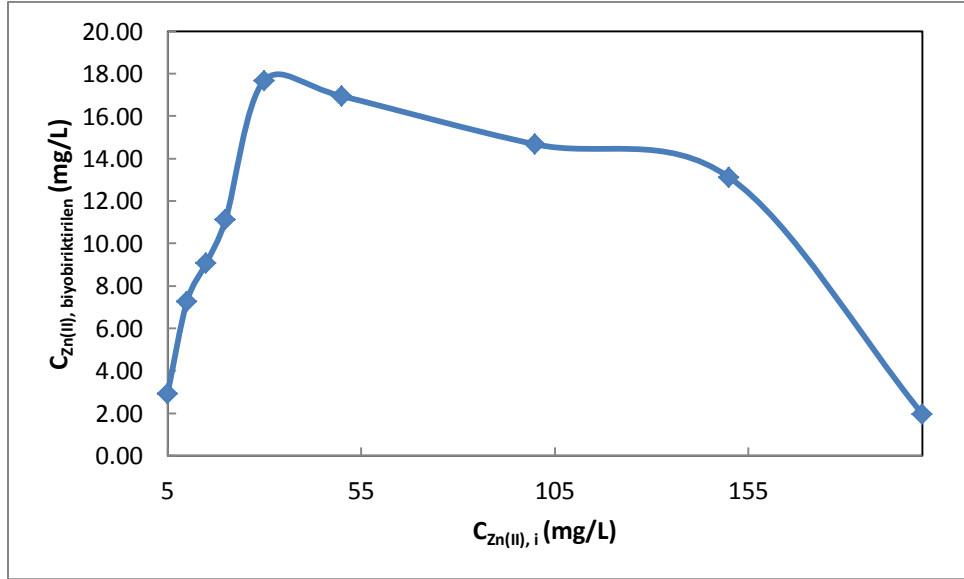
pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimleri Çizelge 62 ve Şekil 59'da verilmiştir.

Bunlara göre, başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonu 5 mg/L iken, Zn(II) biyobirikimi 2.93 mg/L olarak ölçülmüş, başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonunu 30 mg/L iken ise 17.68 mg/L biyobirikim elde edilmiştir.

50 mg/L ve üzerindeki başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlardaki biyobirikim değerinde ise 30 mg/L'deki değerlere göre düşüş görülmektedir ve 16.96 mg/L olarak ölçülmüştür.

Çizelge 62 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	5	10	15	20	30	50	100	150	200
4. Gün Zn(II) Biyobirikim Verimi (%)	59	73	60	56	59	34	15	9	1



Şekil 59 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun maksimum olduğu zaman olan 4. gündeki başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarına göre biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun değişimi

4.6.5. Mikroorganizma Konsantrasyonu

4.6.5.1. pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C)

pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişiminde başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonunun mikroorganizma üremesi üzerinde olumsuz bir etkisi olduğu görülmektedir.

Çizelge 63 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

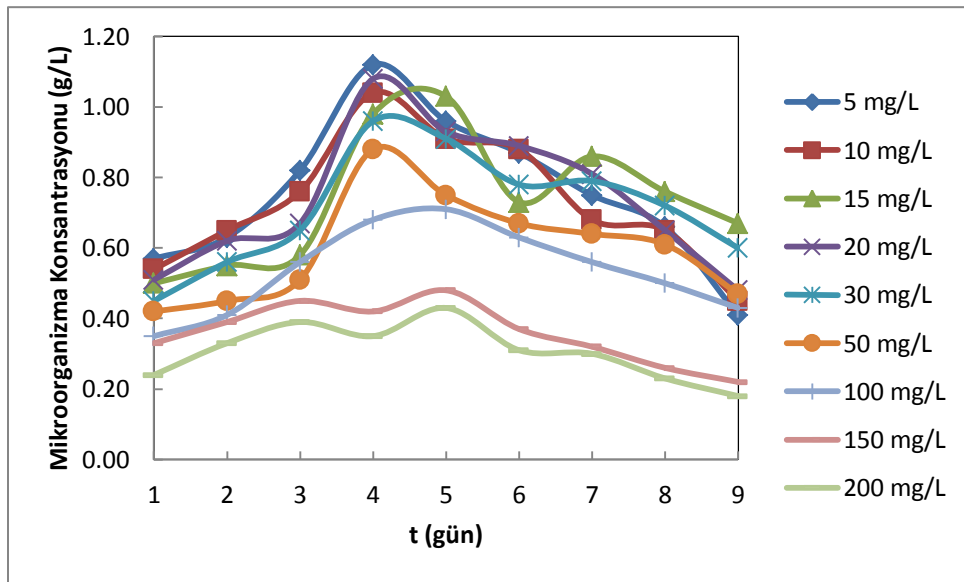
$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
5	0.57	0.63	0.82	1.12	0.96	0.87	0.75	0.66	0.41
10	0.54	0.65	0.76	1.04	0.91	0.88	0.68	0.65	0.45
15	0.50	0.55	0.58	0.98	1.03	0.73	0.86	0.76	0.67
20	0.51	0.62	0.67	1.08	0.93	0.89	0.81	0.65	0.48
30	0.45	0.56	0.65	0.96	0.91	0.78	0.79	0.72	0.60
50	0.42	0.45	0.51	0.88	0.75	0.67	0.64	0.61	0.47
100	0.35	0.41	0.56	0.68	0.71	0.63	0.56	0.50	0.43
150	0.33	0.39	0.45	0.42	0.48	0.37	0.32	0.26	0.22
200	0.24	0.33	0.39	0.35	0.43	0.31	0.30	0.23	0.18

5 mg/L ile 30 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu değişimde mikroorganizma konsantrasyonu değerleri birbirlerine yakın olarak elde edilmiştir. 4. gündeki maksimum seviyede bulunan mikroorganizma konsantrasyonu değerleri ele alındığında bu değişim

1.12 g/L ile 0.96 g/L arasındadır. 5. gündeki mikroorganizma konsantrasyonları incelendiğinde ise bu aralık 0.96 g/L ile 0.91 g/L arasında şekillenmiştir.

150 mg/L ve 200 mg/L başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda ise mikroorganizma üremesi oldukça sınırlıdır.

pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 63 ve Şekil 60'ta görülebilmektedir.



Şekil 60 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6.5.2. pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C)

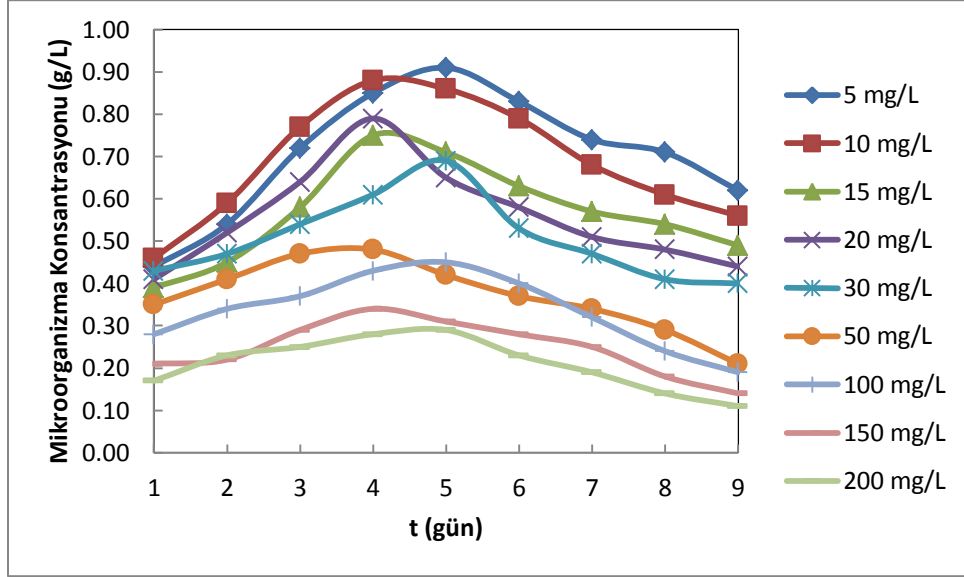
Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen mikroorganizma konsantrasyonu süreç gözleme ve inceleme deneyleri kapsamında pH 8 ve oda sıcaklığında gerçekleştirilen çalışmalarda tüm başlangıç metal konsantrasyonu koşullarında 3, 4, 5 ve 6. günlerde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonu ölçümleri birbirine çok yakın gerçekleşmiştir.

En yüksek mikroorganizma konsantrasyonu başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun 5 mg/L olduğu koşullarda 5. gün sonunda elde edilmiştir. Bu değer ile hemen hemen aynı olan bir diğer nokta ise 10 mg/L başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu 4. gündür. Bu değerler 5 mg/L başlangıç konsantrasyonundaki ortam için 0.91 g/L iken, 10 mg/L başlangıç konsantrasyonundaki ortam için 0.88 g/L'dir.

pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimleri Çizelge 64 ve Şekil 61'den görülebilmektedir.

Çizelge 64 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)									
5	0.44	0.54	0.72	0.85	0.91	0.83	0.74	0.71	0.62
10	0.46	0.59	0.77	0.88	0.86	0.79	0.68	0.61	0.56
15	0.39	0.45	0.58	0.75	0.71	0.63	0.57	0.54	0.49
20	0.41	0.52	0.64	0.79	0.65	0.58	0.51	0.48	0.44
30	0.43	0.47	0.54	0.61	0.69	0.53	0.47	0.41	0.40
50	0.35	0.41	0.47	0.48	0.42	0.37	0.34	0.29	0.21
100	0.28	0.34	0.37	0.43	0.45	0.40	0.32	0.24	0.19
150	0.21	0.22	0.29	0.34	0.31	0.28	0.25	0.18	0.14
200	0.17	0.23	0.25	0.28	0.29	0.23	0.19	0.14	0.11



Şekil 61 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6.5.3. pH 5 ve 35 °C

Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonunu olduğu ortamlarda pH 5 ve 35 °C'deki koşullarda gerçekleştirilen deneylerde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi ölçümleri Çizelge 65 ve Şekil 62'de verilmiştir.

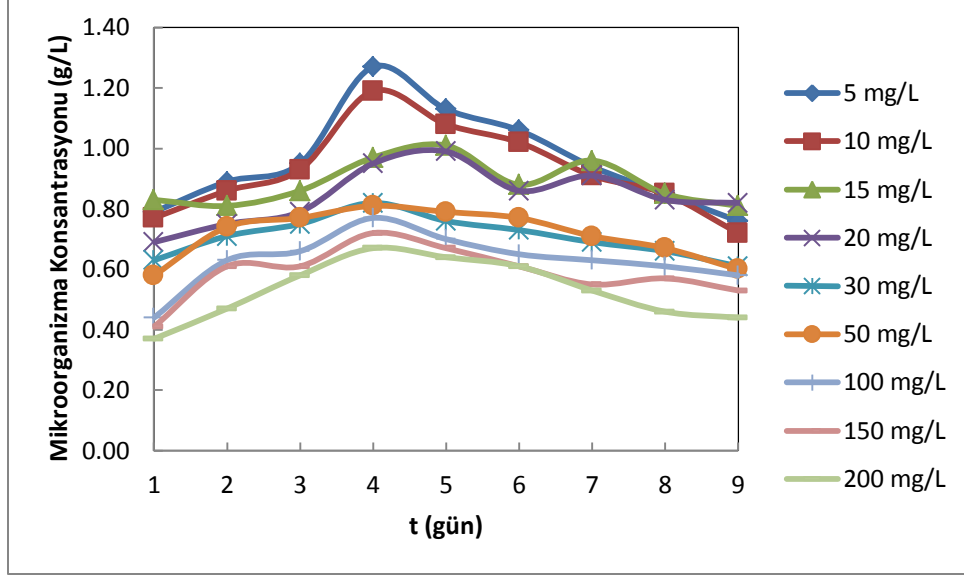
Bu koşullarda elde edilen mikroorganizma konsantrasyonu değerleri Zn(II) başlangıç konsantrasyonu içeren ortamlardaki en yüksek mikroorganizma konsantrasyonu değerleri olmuştur.

Bu değerler içinde de en yüksek ölçümlere ağırlıklı olarak 4. günde ulaşılmıştır. Başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonuna göre elde edilen mikroorganizma konsantrasyonunun en yüksek olduğu koşullar 5 mg/L ve 10 mg/L'lik başlangıç konsantrasyonlarıdır. Bu noktalarda elde edilen mikroorganizma konsantrasyonları

sırasıyla 1.27 g/L ile 1.19 g/L'dir. 5. günde ise aynı parametrelerdeki değerler sırasıyla 1.13 g/L ile 1.08 g/L olarak ölçülmüştür.

Çizelge 65 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
5	0.79	0.89	0.95	1.27	1.13	1.06	0.94	0.85	0.76
10	0.77	0.86	0.93	1.19	1.08	1.02	0.91	0.85	0.72
15	0.83	0.81	0.86	0.97	1.01	0.88	0.96	0.85	0.81
20	0.69	0.75	0.79	0.95	0.99	0.86	0.91	0.83	0.82
30	0.63	0.71	0.75	0.82	0.76	0.73	0.69	0.66	0.61
50	0.58	0.74	0.77	0.81	0.79	0.77	0.71	0.67	0.60
100	0.44	0.63	0.66	0.77	0.70	0.65	0.63	0.61	0.58
150	0.41	0.61	0.61	0.72	0.67	0.61	0.55	0.57	0.53
200	0.37	0.47	0.58	0.67	0.64	0.61	0.53	0.46	0.44



Şekil 62 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 5 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6.5.4. pH 8 ve 35 °C

pH 8 ve 35 °C'de gerçekleştirilen deneylerde görülmektedir ki mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişiminde başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonunun mikroorganizma üremesi üzerinde olumsuz bir etkisi bulunmaktadır.

5 mg/L ile 10 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu içeren ortamlarda mikroorganizma konsantrasyonu değerleri birbirlerine yakın olarak elde edilmiştir. Bununla birlikte 15 mg/L ile 30 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda ölçülen mikroorganizma konsantrasyonu değerleri de birbirlerine çok yakındır.

5 mg/L ile 10 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu içeren ortamlar ve 15 mg/L ile 30 mg/L'lik başlangıçtaki metal konsantrasyonu içeren ortamlarda 4. gündeki maksimum seviyede bulunan mikroorganizma konsantrasyonu değerleri ele alındığında bu değişim 1.04 g/L ile 1.01 g/L ve 0.94 ile 0.85 g/L arasındadır. 5. gündeki mikroorganizma

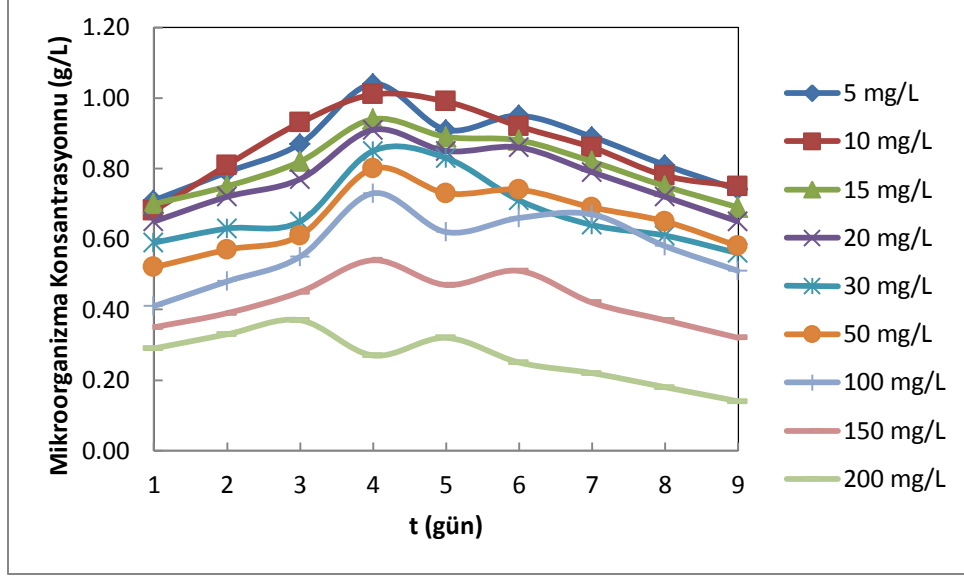
konsantrasyonları incelendiğinde ise bu aralık 0.91 g/L ile 0.99 g/L ve 0.89 ile 0.83 g/L arasında şekillenmiştir.

150 mg/L ve 200 mg/L başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda ise mikroorganizma üremesi oldukça sınırlıdır.

pH 5 ve oda sıcaklığındaki (24 °C) mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 66 ve Şekil 63'te görülebilmektedir.

Çizelge 66 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
5	0.71	0.79	0.87	1.04	0.91	0.95	0.89	0.81	0.74
10	0.68	0.81	0.93	1.01	0.99	0.92	0.86	0.78	0.75
15	0.70	0.75	0.82	0.94	0.89	0.88	0.82	0.75	0.69
20	0.65	0.72	0.77	0.91	0.85	0.86	0.79	0.72	0.65
30	0.59	0.63	0.65	0.85	0.83	0.71	0.64	0.61	0.56
50	0.52	0.57	0.61	0.80	0.73	0.74	0.69	0.65	0.58
100	0.41	0.48	0.55	0.73	0.62	0.66	0.67	0.58	0.51
150	0.35	0.39	0.45	0.54	0.47	0.51	0.42	0.37	0.32
200	0.29	0.33	0.37	0.27	0.32	0.25	0.22	0.18	0.14



Şekil 63 Başlangıçta Zn(II) konsantrasyonu bulunan ortamlarda pH 8 ve 35 °C'de mikroorganizma konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6.6. Üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun ilişkisi

Bu bölümde incelenecek olan değerler başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarının 30 mg/L olduğu koşullardaki ölçümlerden oluşmaktadır. 30 mg/L başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonu değerlerinin seçilmesine lipaz enzimi aktivitesinin en yüksek olduğu ve biyobirikim eğilimlerinin artış gösterdiği koşullar birlikte değerlendirilerek karar verilmiştir.

4.6.6.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

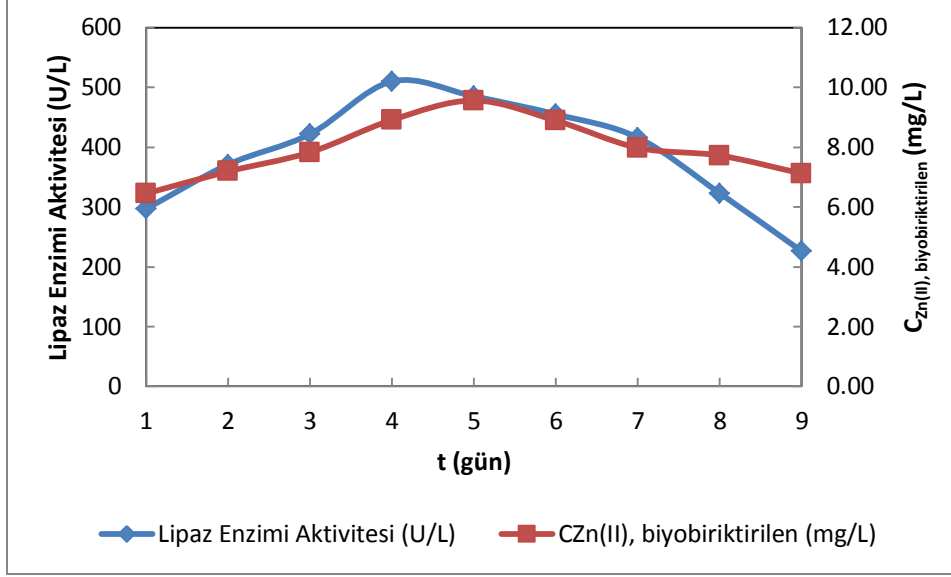
pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda lipaz enzimi aktivitesi ve Zn(II) ağır metal biyobirikimi ölçümleri birlikte değerlendirildiğinde görülen eğilim her iki ölçümün de 1. günden itibaren 4 ve 5. günlere kadar bir artış içerisinde olduklarıdır. Lipaz enzimi aktivitesinin maksimum olduğu 4. günde lipaz enzimi aktivitesi ve Zn(II) biyobirikimi ölçümleri sırasıyla 510 U/L

ve 8.91 mg/L'dir. Bu biyobirikim değeri 30 mg/L başlangıç konsantrasyonunun yaklaşık % 30'unu oluşturmaktadır.

pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 67 ve Şekil 64'te görülmektedir.

Çizelge 67 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	297	371	422	510	485	455	416	323	226
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	6.45	7.19	7.83	8.91	9.56	8.89	7.98	7.72	7.12



Şekil 64 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun zamanla değişimi

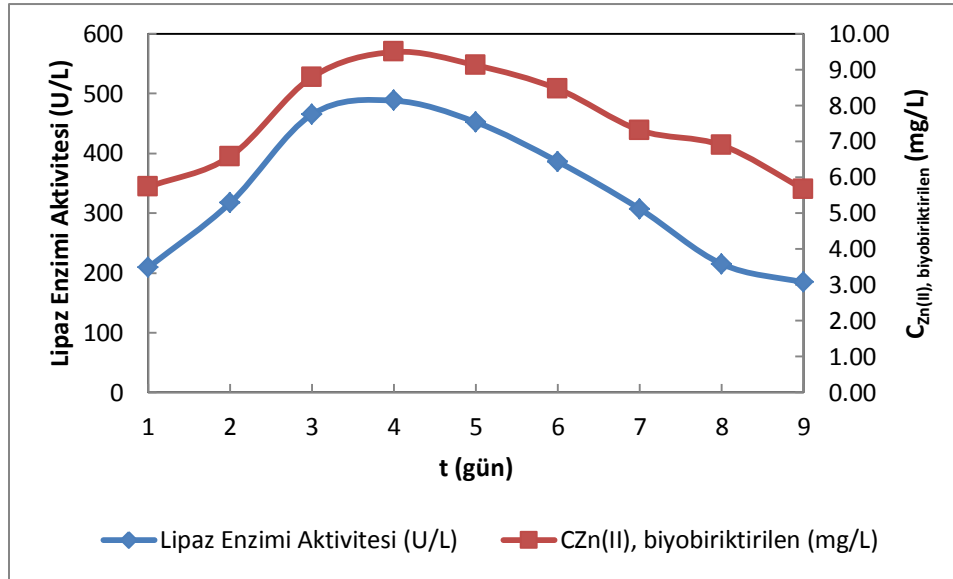
4.6.6.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

Çizelge 68 ve Şekil 65'ten görüldüğü üzere pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonun zamanla değişiminde ilk 4 gün boyunca beraber bir artış eğilimi söz konusudur. Her iki ölçümün de maksimum seviyede olduğu 4. gün sonunda lipaz enzimi aktivitesi 488 U/L olarak ölçülmüşken, biyobiriktirilen Zn(II) ağır metal konsantrasyonu ise yaklaşık % 32'lik bir oranla 9.49 mg/L olarak elde edilmiştir.

Daha ileriki zaman dönemlerinde ise Zn(II) ağır metal biyobirikimi ve mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi azalma eğilimi göstermektedir.

Çizelge 68 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	209	317	465	488	452	386	307	215	184
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	5.73	6.58	8.79	9.49	9.12	8.46	7.31	6.89	5.67



Şekil 65 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6.6.3. pH 5 ve 35 °C

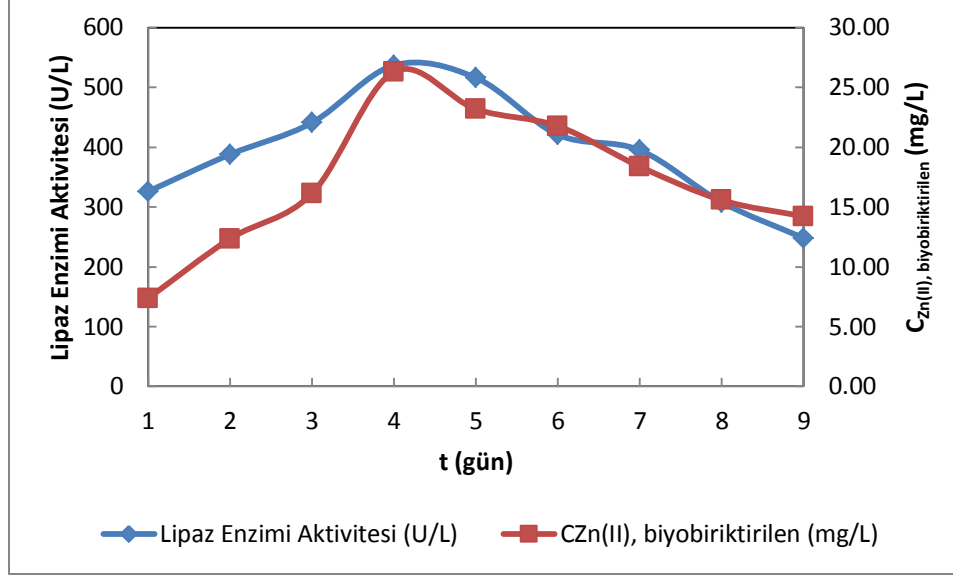
pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonun zamanla değişimi incelendiğinde maksimum enzim aktivitesi ve Zn(II) biyobirikimi değerlerine bu ortam koşullarında ulaşıldığı görülmektedir.

Çizelge 69 ve Şekil 66'da belirtildiği şekliyle 1. günden 4. güne kadar enzim aktivitesi ile birlikte Zn(II) ağır metal konsantrasyonu biyobirikiminde artış bulunmaktadır. 4. gün sonunda lipaz enzimi aktivitesi 537 U/L olurken, biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonu 26.31 mg/L olmuştur. Bu biyobirikim oranı yaklaşık % 88'dir.

5. günden itibaren hem lipaz enzimi aktivitesinde, hem de Cu(II) ağır metal biyobirikiminde bir düşüş eğilimi gözlenmektedir.

Çizelge 69 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	326	388	441	537	516	421	395	308	248
	Biyobiriktilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	7.37	12.35	16.14	26.31	23.18	21.76	18.38	15.57	14.21



Şekil 66 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

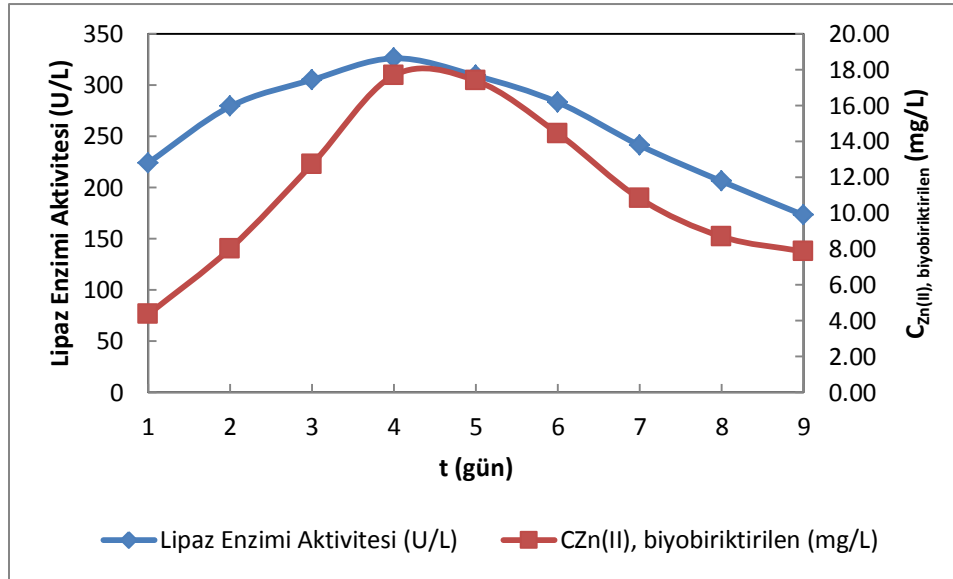
4.6.6.4. pH 8 ve 35 °C

Başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ve pH 8 ve 35 °C koşullarında çalışılmış olan ortamlarda gerçekleştirilen mikroorganizmanın lipaz enzimi aktivitesi çalışmalarında 4 ve 5. günlerde en yüksek değerler ölçülmüştür. Bu ölçümler 4. gün için 326 U/L iken, 5. günde ölçülen enzim aktivitesi 309 U/L olarak elde edilmiştir. 6. günden itibaren ise enzim aktivitesinde azalma görülmektedir. Zn(II) ağır metal biyobirikimi çalışmalarında ise yine 4. günde maksimum değerler elde edilmiş ve 17.68 mg/L olarak ölçülmüştür. Bu ölçüm başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun yaklaşık % 59'unun biyobiriktirildiğini göstermektedir.

pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 70 ve Şekil 67'den görülebilmektedir

Çizelge 70 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Lipaz Enzimi Aktivitesi (U/L)								
30	224	279	305	326	309	283	241	206	173
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	4.35	8.02	12.72	17.68	17.38	14.44	10.81	8.69	7.86



Şekil 67 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6.7. Mikroorganizma konsantrasyonu ile biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun ilişkisi

Çalışmanın bu bölümünde incelenecek olan parametreler başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarının 30 mg/L olduğu koşullardaki ölçümlerden oluşmaktadır. 30 mg/L başlangıç Zn(II) ağır metal konsantrasyonu değerlerinin seçilmesine bir önceki bölümde yer alan enzim aktivitesi ile birlikte biyobiriktirilen Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarındaki seçim referans teşkil etmektedir.

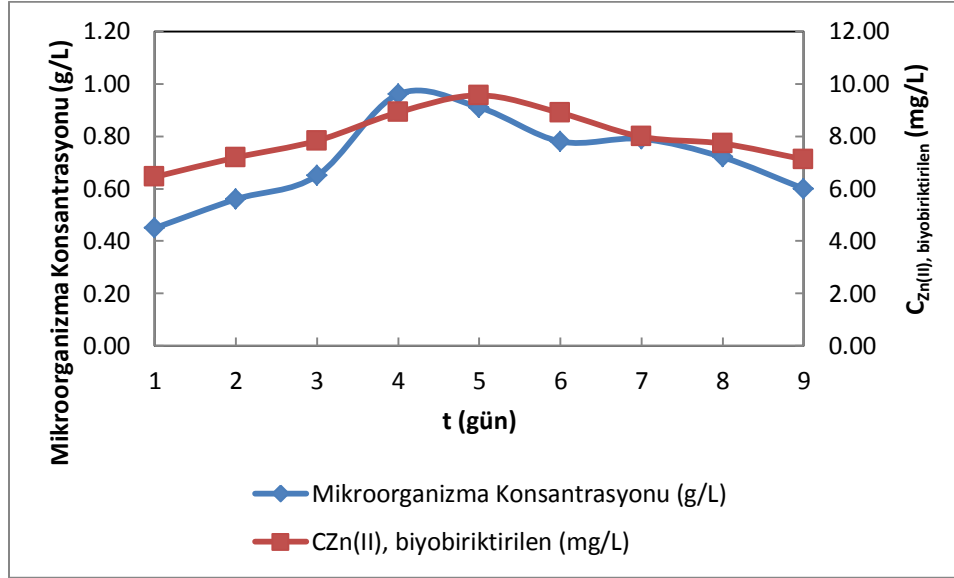
4.6.7.1. pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C)

pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamlarda mikroorganizma ekimi ile birlikte zaman ilerledikçe artan bir mikroorganizma konsantrasyonu görülmektedir. Bununla birlikte artış miktarı mikroorganizma konsantrasyonu kadar olmasa da Zn(II) biyobirimi de 5. gün sonunda maksimum seviyede ölçülmüş ve 9.56 mg/L olarak elde edilmiştir. Aynı noktada mikroorganizma konsantrasyonu ise 0.91 g/L'dir. Mikroorganizma konsantrasyonu 5. günde de aynı şekilde devam edip, daha sonra azalma göstermektedir.

Çizelge 71 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

C _{Zn(II), i} (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.45	0.56	0.65	0.96	0.91	0.78	0.79	0.72	0.60
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	6.45	7.19	7.83	8.91	9.56	8.89	7.98	7.72	7.12

Çizelge 71 ve Şekil 68, pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimini göstermektedir.



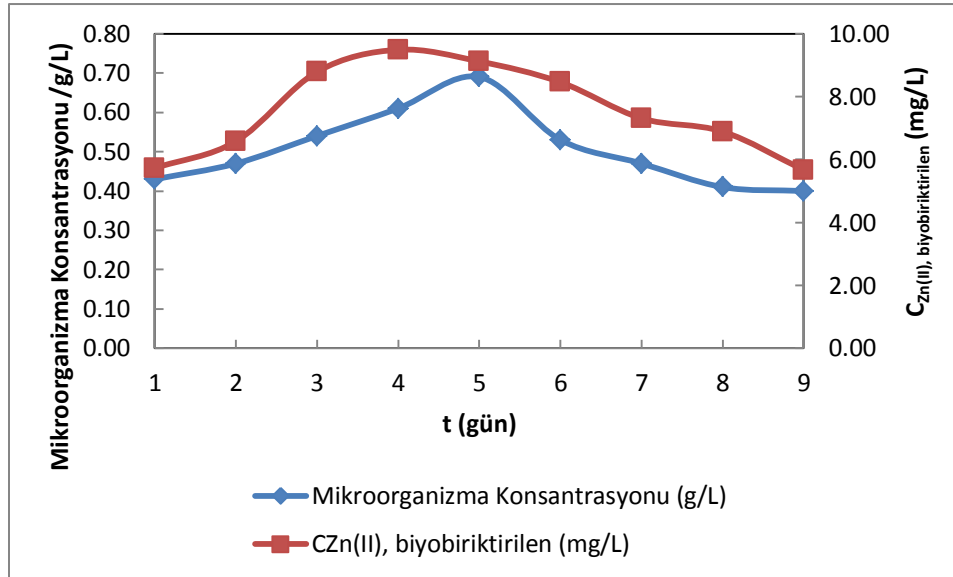
Şekil 68 pH 5 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.6.7.2. pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C)

pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu 5. günde en yüksek seviyeye ulaşmış ve 0.69 g/L olarak ölçülmüşken, 4. günde ise 0.61 g/L olmuştur. Aynı koşullar altında mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu 3 ve 6. günler arasında 8. 79 mg/L'den 9.49 mg/L'ye artmış ve daha sonrasında ise 8.46 mg/L'ye gerilemiştir.

Çizelge 72 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.43	0.47	0.54	0.61	0.69	0.53	0.47	0.41	0.40
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	5.73	6.58	8.79	9.49	9.12	8.46	7.31	6.89	5.67



Şekil 69 pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

pH 8 ve oda sıcaklığında (24 °C), başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen

Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi yansıtan izelge 72 ve Şekil 69'da görüldüğü üzere mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi 4 ve 5. günlerde yüksek seviyelerdedir.

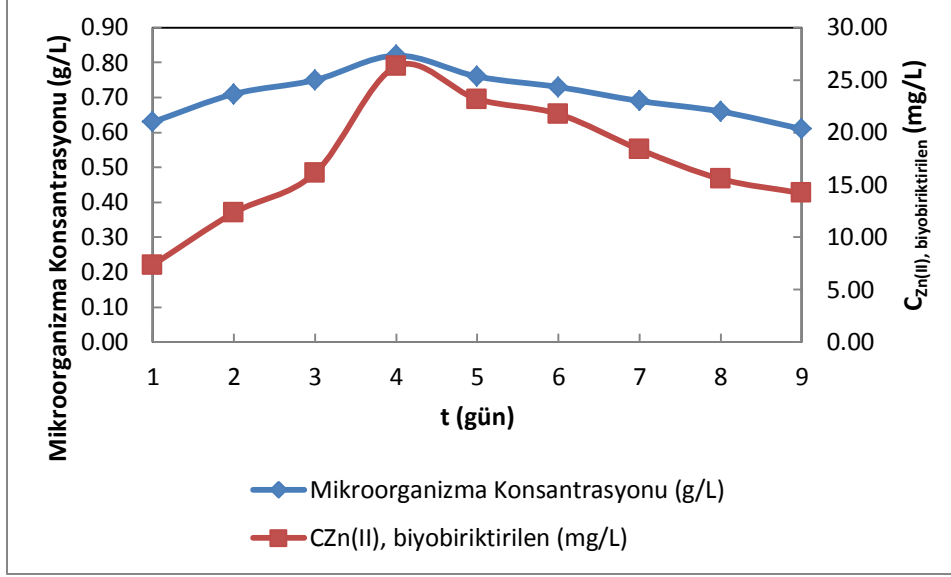
4.6.7.3. pH 5 ve 35 C

pH 5 ve 35 C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimini gösteren izelge 73 ve Şekil 70'den görüleceği üzere mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu 4. gün sonunda maksimum seviyede ölçülmüştür.

Bu noktada elde edilen ölçümler 0.82 g/L mikroorganizma konsantrasyonu ile 26.31 mg/L Zn(II) biyobirikimidir. 4. günden sonra her iki parametrede de düşüş görülmektedir.

Çizelge 73 pH 5 ve 35 C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.63	0.71	0.75	0.82	0.76	0.73	0.69	0.66	0.61
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	7.37	12.35	16.14	26.31	23.18	21.76	18.38	15.57	14.21



Şekil 70 pH 5 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

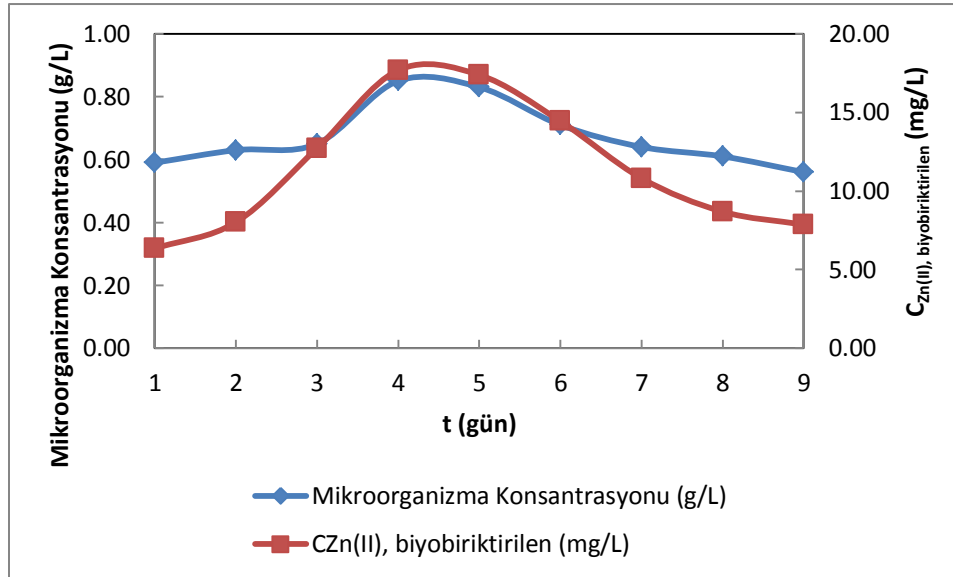
4.6.7.4. pH 8 ve 35 °C

Süreç gözleme ve inceleme deneyleri içerisinde, pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi Çizelge 74 ve Şekil 71'de belirtilmektedir.

Bunlara göre her iki parametrede de 3 ve 6. günler arasında belirgin bir şekilde zamana karşı paralel bir değişim görülmektedir. 1. günde 0.59 g/L ile 6.35 mg/L olarak elde edilen mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu, 4. günde maksimum seviyede ölçülmüş ve 0.85 g/L ile 17.68 olmuştur. Buna karşın deney setinin sonunda ise azalma göstererek 0.56 g/L ile 7.86 mg/L değerlerinde ölçülmüşlerdir.

Çizelge 74 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

$C_{Zn(II), i}$ (mg/L)	Zaman (Gün)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
	Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)								
30	0.59	0.63	0.65	0.85	0.83	0.71	0.64	0.61	0.56
	Biyobiriktirilen Zn(II) Konsantrasyonları (mg/L)								
30	6.35	8.02	12.72	17.68	17.38	14.44	10.81	8.69	7.86



Şekil 71 pH 8 ve 35 °C'de, başlangıç Zn(II) konsantrasyonu 30 mg/L olan ortamda, mikroorganizma konsantrasyonu ile mikroorganizma tarafından biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonunun zamanla değişimi

4.7. Yüzey-Cevap Modellemesi Parametrelerinin Oluşturulması ve Değerlendirilmesi

Lipaz enzimi aktivitesi, ağır metal biyobirikimi ve *Rhizopus delemar* mikroorganizmasının konsantrasyonu için gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları, üç bağımsız değişkenin yüzey-cevap metodolojisi kapsamında oluşturulan merkezi bileşke tasarımı uygulaması ile yürütülmüştür. Bu üç değişken şunlardır:

- pH
- sıcaklık
- başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonu

Daha önceki bölümlerde gerçekleştirilen süreç gözleme ve inceleme çalışmalarında başlangıç pH'si, sıcaklık ve başlangıçtaki ağır metal konsantrasyonlarının mikroorganizmanın lipaz enzimi aktivitesi ve eş zamanlı olarak ağır metal biyobirikimi ile mikroorganizma konsantrasyonuna önemli etkileri olduğu görülmektedir.

Optimizasyon çalışmalarında ise bu parametreler doğrultusunda optimum noktalar belirlenecektir.

Çalışmada kullanılacak olan Design Expert v. 7.0 (Stat Ease Inc. Minneapolis, ABD) bilgisayar yazılımı ile bağımsız değişkenler oluşturulacak ve bu noktalarda analizler gerçekleştirilecektir.

Yüzey-cevap modellemesi değerlendirilirken çeşitli açılardan istatistiki olarak teyit edilmesi gerekmektedir. Modelleme sonucu elde edilen denklem ve bulgular, bu kriterlere uyabildikleri takdirde ve ölçüde güvenilir olabilir ve kabul görebilmektedir.

Bu kriterler:

- F-testi
- R² değeri

- R^2_{Pred} değeri
- R^2_{Adj} değeri
- yeterli hassasiyet değeri
- uyum eksikliği değeri
- P-değeri

Denklemin istatistiki olarak anlamlılığı F-test'i ile gerçekleştirilmektedir.

İstatiski açıdan, olasılık değeri (P) > F'nin 0.05'den küçük olması bir modelin anlamlı olması için yeterlidir.

R^2 değeri deneysel parametreler ve bunların etkileşimlerindeki çeşitlilik miktarının gözlemlenmiş cevaplarla olan ilişkisinin ortaya konduğu bir tayin yöntemi olup, 1'e yakın değerler veriyor olması deneysel ve model verileri arasındaki ilişkinin kuvvetini göstermektedir.

Öngörülen (predicted) R^2 (R^2_{Pred}) değeri, model oluşturulurken hedeflenen değerler ile deneyler sonucu elde edilen değerler arasındaki bağlantıyı yansıtmaktadır.

Ayarlanmış R^2 (R^2_{Adj}) değeri, modeldeki değişken sayısı ve örnek miktarı için R^2 değerlerini düzenler. Eğer modelde çok sayıda değişken varsa ve örnek sayısı çok değilse, ayarlanmış R^2 değerleri, R^2 değerlerinden belirgin ölçüde küçük olabilir.

Yeterli hassasiyet (adequate precision) sinyal-gürültü oranının bir ölçüsü olup, 4 ve yukarıdaki değerler yeterli hassasiyeti göstermektedir.

Uyum eksikliği (lack of fit), modelin regresyona dahil olmayan noktalardaki deneysel veri alanını temsil etmekteki başarısının bir ölçüsüdür. Buna göre uyum eksikliği saf hataya göre anlamsız olmalıdır. Bu durum, model denklemindeki analizi gerçekleştirilen bağımlı değişkenin, parametre olarak ele alınan bağımsız değişkenlerin çeşitli kombinasyonları ile yeterli şekilde ifade edildiğinin bir göstergesidir.

P-değeri, hem her bir katsayının anlamlılığını kontrol eden, hem de her bir parametrenin etkileşim kuvvetini yansıtan bir araçtır. P-değerinin 0.05'ten daha düşük olduğu değerler, katsayılar arasındaki daha anlamlı korrelasyonu ifade etmektedir. Daha küçük P-değerleri, belirttiği katsayı için daha kuvvetli anlam demektir. (Acikel, Acikel et al. 2011)

4.8. Ağır Metal İyonu İçermeyen Ortamlarda Gerçekleştirilen Yüzey-Cevap Modellemesi ile Optimizasyon

Rhizopus delemar'ın lipaz enzimi aktivitesi ve eş zamanlı olarak mikroorganizmanın konsantrasyonu için, 13 ayrı deney noktasından oluşan bir deney seti hazırlanmıştır. Deneyler sonucu elde edilen veriler ikinci derecede bir polinom modeli üzerinden değerlendirilerek optimizasyon gerçekleştirilmiştir.

On üç deney noktasına sahip sistem üç faktöriyel (2^3) tasarımı için formüle edilmiş ve merkez noktadaki altı adet tekrar ve altı yıldız nokta kuadratik model için değerlendirilmiştir.

Her bir parametre beş değişik seviyede kodlanmıştır. Bunlar, $-\alpha$, -1, 0, +1 ve $+\alpha$ 'dır.

Çalışmanın bu bölümünde uygulanan merkezi bileşke tasarımında kullanılan bağımsız değişkenlerin aralık ve seviyeleri Çizelge 75'te verilmiştir.

Deneysel uygulamalardan elde edilen veriler ile regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Lipaz enzimi aktivitesi ve mikroorganizma konsantrasyonu cevaplarının her biri bağımlı değişken olarak ele alınmıştır ve Y_1 ve Y_2 modellerinde belirtilen şekilde hesaplanmışlardır.

Bağımlı değişkenlerin ilişkisi ve deneylerde elde edilen cevapların ikinci derece polinomik denklem ile ifade ediliş şekli şöyledir:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad 4.1$$

Bu denklemde, Y öngörülen cevabı, β_0 ara terimi, β_i lineer etkiyi, β_{ii} etkinin karesini ve β_{ij} karşılıklı etkileşim değerini göstermektedir.

Çizelge 75 Merkezi bileşke tasarımı için seçilen bağımsız değişkenler, pH ve sıcaklığın düzey ve kodları

Değişkenler	Semboller		Kodlanmış Seviyeler				
	Kodlanmamış	Kodlanmış	$-\alpha$	-1	0	1	α
pH	X_1	x_1	5.00	5.44	6.50	7.56	8.00
T (C)	X_2	x_2	25.00	26.76	31.00	35.24	37.00

Merkezi bileşke tasarımı yöntemi ile merkez noktasında altı tekrardan oluşan 13 ayrı deneyi kapsayan bir deney seti oluşturulmuştur. Kodlanmış şekildeki bağımsız değişkenler ile lipaz enzimi aktivitesi ve *R. delemar* mikroorganizmasının konsantrasyonunun gösterildiği tasarım matrisi Çizelge 76'da verilmiştir.

Çizelge 76 Merkezi Bileşke Tasarımı Matriksi, lipaz aktivitesi ve mikroorganizma konsantrasyonunun deneysel ve model değerlerinin karşılaştırılması ve bağıl yüzde hata değerleri

Set	Bağımsız Değişkenler		Enzim Aktivitesi (U/L)			Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)		
	x ₁	x ₂	Deney	Model	% Hata	Deney	Model	% Hata
1	1	1	517	512	1	1.14	1.16	1
2	1	-1	338	346	2	1.07	1.07	0
3	0	0	556	548	1	1.19	1.17	2
4	0	+α	638	645	1	1.27	1.25	2
5	-1	-1	411	421	2	1.13	1.13	0
6	0	0	563	548	3	1.15	1.17	2
7	-1	1	489	485	1	1.21	1.23	2
8	0	0	534	548	3	1.18	1.17	1
9	0	0	556	548	1	1.16	1.17	1
10	+α	0	302	301	0	1.07	1.06	1
11	0	-α	495	483	2	1.11	1.11	0
12	-α	0	339	335	1	1.17	1.16	1
13	0	0	532	548	3	1.18	1.17	1

4.8.1. Lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu

Lipaz enzimi aktivitesi (Y_1) modeli fizikokimyasal değişken olan pH (x_1) ve fiziksel değişken olan sıcaklık (x_2) bağımsız değişkenlerinin bir fonksiyonudur.

$$Y_1 \text{ (U/L)} = + (548.2) - (12.1657x_1) + (57.40407x_2) + (25.25x_1x_2) - (115.038x_1^2) + (7.9625x_2^2)$$

4.2

Bununla birlikte yüzey cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik yönteme ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 77'de verilmektedir.

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda, *R. delamar'*ın lipaz enzimi aktivitesi analizinde, olasılıklar değerleri (P) > F 'nin değeri 0.0001'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Çalışmada lipaz enzimi aktivitesi için R^2 değerinin 0.9903 olması modelin kesin doğruluğuna işaret etmektedir. Yüzde olarak göstermek gerekirse, bu durum model için hazırlanan analiz noktalarındaki bağımsız değişkenlerin enzim aktivitesi analizi modeli için % 99.03 oranında geçerli olduğunu, bunların sadece % 0.97'sinin modelce belirtilemediğinin göstergesidir.

Çalışmanın bu aşamasında lipaz enzimi aktivitesi için öngörülen R^2 (R^2_{Pred}) değeri model için 0.9662 olarak hesaplanmıştır. Bu değer lipaz enzimi aktivitesi için deneysel ve öngörülen değerler arasında iyi bir uyum olduğuna işaret etmektedir.

Çalışmada elde edilen ayarlanmış R^2 (R^2_{Adj}) değeri 0.9834'tür.

Ağır metal iyonları içermeyen ortamlarda, *R. delemar* tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi analizinde yeterli hassasiyet için bulunan 38.217 değeri 4'ten büyük olduğundan, istenen sinyal/gürültü oranını sağlamaktadır.

Yüzey-cevap modellemesi ise elde edilen model denkleminin uyum eksikliği F-değeri 0.71 olup, saf hataya göre anlamsızdır ve istenen şekilde gerçekleşmiştir. Bu durum denklemin pH ve sıcaklığa göre lipaz enzimi aktivitesini yeterli ölçüde öngörebildiğini göstermektedir.

pH ve sıcaklık değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.0357$ ve $P<0.0001$) anlamlı oldukları görülmektedir.

Aynı şekilde kuadratik yönden gerçekleştirilen analize göre pH ve sıcaklık değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P<0.0001$ ve $P=0.1574$), sadece pH değişkenine ikinci dereceden bağlı olduğu görülmektedir.

Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık etkisi incelendiğinde ($P=0.0067$) anlamlı olduğu anlaşılmaktadır.

Bu durum bağımsız değişkenlerin her birinin lipaz enzimi aktivitesini etkilediğini ve bununla birlikte karşılıklı ilişkilerinin de lipaz enzimi aktivitesi için bir etken olduğunu göstermektedir.

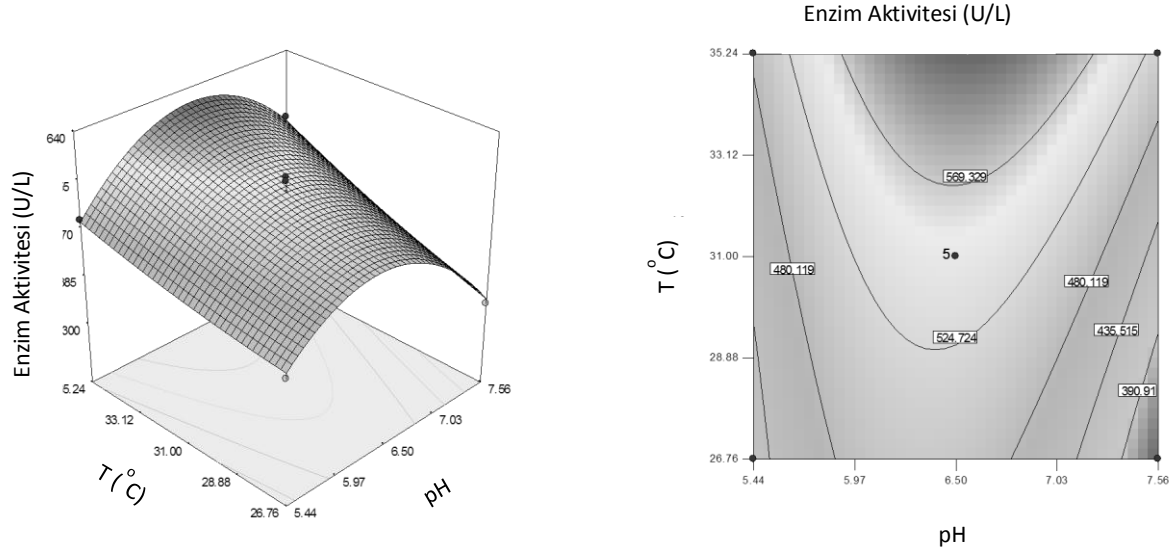
Şekil 72'den görüleceği üzere enzim aktivitesi pH değerindeki artış ile birlikte artmakta ve pH değerinin yaklaşık 6.50 olduğu noktada ise en yüksek seviyesine ulaşmaktadır. Buna karşın 6.50'nin üzerindeki pH seviyelerinde belirgin bir düşüş gözlemlenmektedir. Sıcaklık artışı lipaz enzimi aktivitesi üzerinde pH kadar etkili değildir.

Çizelge 77 pH ve sıcaklığın fonksiyonu olarak lipaz aktivitesinin ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	1.259 x 10 ⁵	5	25177.84	143.11	< 0.0001
x₁	1184.04	1	1184.04	6.73	0.0357
x₂	26361.82	1	26361.82	149.84	< 0.0001
x₁x₂	2550.25	1	2550.25	14.5	0.0067
x₁²	92060.01	1	92060.01	523.25	< 0.0001
x₂²	441.05	1	441.05	2.51	0.1574
Artan	1231.57	7	175.94		
Uyum Eksikliği	426.77	3	142.26	0.71	0.5961
Net Hata	804.8	4	201.2		
Düzeltilmiş Toplam	1.271 x 10 ⁵	12			

$R^2 = 0.9903$ $R^2_{Adj} = 0.9834$ $R^2_{Pred} = 0.9662$ Yeterli Hassasiyet = 38.217

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesinde *R. delenar*'ın lipaz enzimi aktivitesinin optimizasyonu sonucunda, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.56 ve fiziksel değişken olan sıcaklığın 35.24 °C olduğu koşullarda lipaz enzimi aktivitesi 613 U/L olarak bulunmuştur.



Şekil 72 Sıcaklık ve pH'nin karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_1 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği

4.8.2. *R. delemar* konsantrasyonunun optimizasyonu

R. delemar konsantrasyonu (Y_2) modeli fizikokimyasal değişken olan pH (x_1) ve fiziksel değişken olan sıcaklık (x_2) bağımsız değişkenlerinin bir fonksiyonudur.

$$Y_2 \text{ (g/L)} = + (1.172) - (0.03393x_1) + (0.047034x_2) - (0.0025x_1x_2) - (0.03038x_1^2) + (0.004625x_2^2)$$

4.3

Bununla birlikte yüzey cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik yöntemle ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 78'de verilmektedir.

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda *Rhizopus delemar* konsantrasyonunun analizinde, olasılıklar değeri (P) > F'nin değeri 0.0006'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Çalışmada mikroorganizma konsantrasyonu için R² değeri 0.9329 olması modelin kesin doğruluğuna işaret etmektedir. Yüzde olarak göstermek gerekirse bu durum model için hazırlanan analiz noktalarındaki bağımsız değişkenlerin, *R. delemar*'ın konsantrasyon analizi modeli için % 93.29 oranında geçerli olduğunu, deneysel noktaların sadece % 6.71'ünün modelce yeterince temsil edilemediğinin bir göstergesidir.

Çalışmanın bu aşamasında mikroorganizma konsantrasyonu için öngörülen R² (R²_{Pred}) değeri model için 0.6879 olarak hesaplanmıştır. Bu değer hedeflenen düzeyde bir uyuma işaret etmektedir.

Çalışmada elde edilen ayarlanmış R² (R²_{Adj}) değeri 0.8850'dir.

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda *R. delemar* konsantrasyonunun analizinde elde edilen 14.558 değerindeki yeterli hassasiyet 4'ten büyük olduğu için istenen bir sinyal/gürültü oranına işaret etmektedir ki zaten yüzey-cevap modelinin amacı, gürültü ile karşılaştırıldığında büyük olan sinyaller üreten deneysel parametreleri belirlemektir.

Yüzey-cevap modellemesi ile elde edilen model denkleminin uyum eksikliği için F-değeri 1.67 olup, bu değer saf hataya göre anlamsızdır ve istenen şekilde gerçekleşmiştir. Bu durum denklemin pH ve sıcaklığa göre *R. delemar* konsantrasyonunu yeterli ölçüde öngörebildiğini göstermektedir.

Çizelge 78 pH ve sıcaklığın fonksiyonu olarak mikroorganizma konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	0.034	5	6.674×10^{-3}	19.47	0.0006
x₁	9.209×10^{-3}	1	9.209×10^{-3}	26.46	0.0013
x₂	0.018	1	0.018	50.86	0.0002
x₁x₂	2.500×10^{-5}	1	2.500×10^{-5}	0.072	0.7964
x₁²	6.418×10^{-3}	1	6.418×10^{-3}	18.44	0.0036
x₂²	1.488×10^{-4}	1	1.488×10^{-4}	0.43	0.5341
Artan	2.436×10^{-3}	7	3.480×10^{-3}		
Uyum Eksikliği	1.356×10^{-3}	3	4.520×10^{-3}	1.67	0.3085
Net Hata	1.080×10^{-3}	4	2.700×10^{-3}		
Düzeltilmiş Toplam	0.036	12			

$R^2 = 0.9329$	$R^2_{Adj} = 0.8850$	$R^2_{Pred} = 0.6879$	Yeterli Hassasiyet = 14.558
----------------	----------------------	-----------------------	-----------------------------

pH ve sıcaklık değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, P=0.0013 ve P=0.0002) anlamlı oldukları görülmektedir.

Aynı şekilde kuadratik yönden gerçekleştirilen analize göre pH ve sıcaklık değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, P=0.0036 ve P=0.5341), sadece pH

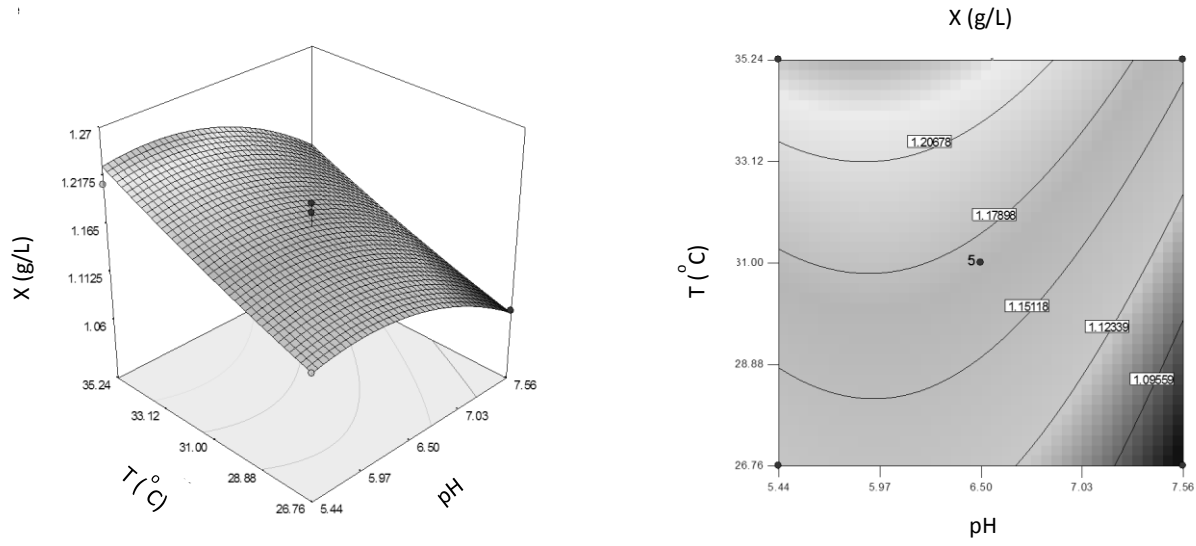
değişkenin ikinci dereceden değişiminin mikroorganizma konsantrasyonunu etkilediği görülmektedir.

Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık etkisi incelendiğinde ($P=0.7964$) anlamlı olmadığı anlaşılmaktadır. Yani, mikroorganizma konsantrasyonu için bulunan optimum pH değerinin, farklı sıcaklıklarda değişmeyeceği görülmektedir. Aynı şekilde bunun tersi de olabilmektedir. Maksimum mikroorganizma konsantrasyonunun elde edildiği sıcaklık değerinin pH'la değişmeyeceği ortaya çıkmaktadır.

Bu durum bağımsız değişkenlerin her birinin bağımsız olarak *Rhizopus delemar* mikroorganizmasının konsantrasyonunu etkilediği ama bunun yanı sıra karşılıklı ilişkilerinin *Rhizopus delemar* mikroorganizmasının konsantrasyonunu için bir etken olmadığını göstermektedir.

Sıcaklıktaki artış ile mikroorganizma konsantrasyonundaki belirgin yükseliş Şekil 73'te görülmektedir. Buna karşın pH değerindeki değişimin mikroorganizma konsantrasyonu üzerine etkisi sıcaklık değişiminde olduğu kadar keskin değildir. pH zayıf asidik değerlerden, nötr değerlere doğru geçiş yapana kadar mikroorganizma konsantrasyonunda çok fazla değişime sebep olmamaktadır. Ortamın bazikliği arttıkça *R. delemar* konsantrasyonunda azalma görülmektedir.

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modeli çalışmasının, *R. delemar* konsantrasyonunun optimizasyonu sonucunda, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.56 ve fiziksel değişken olan sıcaklığın 35.24 °C olduğu koşullarda lipaz enzimi aktivitesi cevabı 1.22 g/L olarak bulunmuştur.



Şekil 73 Sıcaklık ve pH'in karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_2 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği

4.9. Cu(II) İçeren Ortamlarda Gerçekleştirilen Yüzey-Cevap Modellemesi ile Optimizasyon

R. delemar'ın lipaz enzimi aktivitesi ve eş zamanlı Cu(II) iyonu biyobirikimi ile mikroorganizmanın konsantrasyonu için, 20 ayrı deney noktasından oluşan bir deney seti hazırlanmıştır. Deneyler sonucu elde edilen veriler ikinci dereceden bir polinom modeli üzerinden değerlendirilerek optimizasyon gerçekleştirilmiştir.

Yirmi deney noktasına sahip sistem üç faktöriyel (2^3) tasarımı için formüle edilmiş ve merkez noktadaki altı adet tekrar ve altı yıldız nokta kuadratik model için değerlendirilmiştir.

Her bir parametre beş değişik seviyede kodlanmıştır. Bunlar, $-\alpha$, -1 , 0 , $+1$ ve $+\alpha$ 'dır.

Çalışmanın bu bölümünde uygulanan merkezi bileşke tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler olan pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) iyonu derişiminin aralık ve seviyeleri Çizelge 79'da verilmiştir.

Deneysel uygulamalardan elde edilen veriler ile regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Lipaz enzimi aktivitesi, Cu(II) biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonu cevaplarının her biri bağımlı değişken olarak ele alınmıştır ve Y_3 , Y_4 ve Y_5 modellerinde belirtilen şekilde hesaplanmıştır.

Çizelge 79 Merkezi bileşke tasarımı için seçilen bağımsız değişkenler, pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun düzey ve kodları

Değişkenler	Semboller		Kodlanmış Seviyeler				
	Kodlanmamış	Kodlanmış	$-\alpha$	-1	0	1	α
pH	X_1	x_1	4.69	5.20	5.95	6.70	7.21
T (C)	X_2	x_2	21.59	25.00	30.00	35.00	38.41
$c_{Cu,i}$ (mg/L)	X_3	x_3	3.07	15.00	32.50	50.00	61.93

Bağımlı değişkenlerin ilişkisi ve deneylerde elde edilen cevapların ikinci derece polinomik denklem ile ifade ediliş şekli şöyledir:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad 4.4$$

Bu denklemde, Y öngörülen cevabı, β_0 ara terimi, β_i lineer etkiyi, β_{ii} etkinin karesini ve β_{ij} karşılıklı etkileşim değerini göstermektedir.

Merkezi bileşke tasarımı yöntemi ile merkez noktasında altı tekrardan oluşan 20 ayrı deneyden oluşan set oluşturulmuştur. Kodlanmış şekildeki bağımsız değişkenler ile lipaz enzimi aktivitesi, Cu(II) iyonu biyobirikimi ve *R. delemar* konsantrasyonunun gösterildiği tasarım matrisi Çizelge 80'de verilmiştir.

Çizelge 80 Merkezi Bileşke Tasarımı Matriksi, lipaz aktivitesi, Cu(II) biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun deneysel ve model değerlerinin karşılaştırılması ve bağıl yüzde hata değerleri

Set	Bağımsız Değişkenler			Enzim Aktivitesi (U/L)			Biyobirikim (mg/L)			Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)		
	x ₁	x ₂	x ₃	Deney	Model	% Hata	Deney	Model	% Hata	Deney	Model	% Hata
1	0	0	0	490	509	4	21.50	21	1	0.71	0.69	2
2	0	0	0	513	509	1	20.60	21	3	0.68	0.69	2
3	0	+α	0	454	464	2	20.70	21	1	0.83	0.84	1
4	0	0	+α	454	426	6	46.50	45	3	0.54	0.56	3
5	1	1	-1	490	480	2	2.00	2	1	0.72	0.73	1
6	0	0	-α	456	477	5	2.70	3	19	0.75	0.72	4
7	1	-1	1	386	408	6	23.50	25	4	0.48	0.48	0
8	-1	-1	1	331	344	4	29.40	30	2	0.53	0.53	0
9	-α	0	0	329	325	1	26.20	26	0	0.67	0.64	5
10	-1	-1	-1	358	360	1	10.80	11	1	0.63	0.67	7
11	0	0	0	520	509	2	22.30	21	5	0.72	0.69	4
12	+α	0	0	419	416	1	14.10	13	6	0.51	0.53	4
13	0	-α	0	394	377	4	13.60	13	5	0.58	0.56	4
14	0	0	0	523	509	3	22.10	21	4	0.73	0.69	5
15	-1	1	1	375	386	3	43.00	43	1	0.65	0.66	2
16	0	0	0	490	509	4	20.30	21	5	0.68	0.69	2
17	0	0	0	519	509	2	20.40	21	4	0.64	0.69	8
18	-1	1	-1	454	436	4	12.20	12	3	0.79	0.80	1
19	1	-1	-1	426	418	2	6.10	6	3	0.53	0.53	0
20	1	1	1	434	436	0	31.90	33	2	0.71	0.68	4

4.9.1. Lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu

Lipaz enzimi aktivitesi (Y_3) modeli, fizikokimyasal değişken olan pH (x_1), fiziksel değişken olan sıcaklık (x_2) ve ortam bileşeni değişkeni olan başlangıçtaki Cu(II) iyonu derişimi (x_3) değişkenlerinin bir fonksiyonudur.

$$Y_3 \text{ (U/L)} = + (509.3399) + (27.04586x_1) + (25.84106x_2) - (15.0374x_3) - (3.500x_1x_2) + (1.250x_1x_3) - (8.500x_2x_3) - (48.921x_1^2) - (31.2434x_2^2) - (20.2832x_3^2)$$

4.5

Yüzey-cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik yöntemle ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 81'de verilmektedir.

Cu(II) iyonu içeren ortamlarda, *R. delemar* tarafından üretilen lipaz enzimi aktivitesi analizinde, olasılık değeri (P) > F , 0.0001'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Çalışmada lipaz enzimi aktivitesi için R^2 değerinin 0.9454 olması modelin doğruluğuna işaret etmektedir. Yüzde olarak ifade edildiğinde, R^2 değeri, enzim aktivitesi için toplam değişimin % 94.54'ünün bağımsız değişkenlere atfedildiğini, toplam değişimin yalnız % 5.46'sının model tarafından temsil edilemediğini göstermektedir.

Cu(II) iyonu içeren ortamlarda *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi analizinde elde edilen 12.932 değerindeki yeterli hassasiyet 4'ten büyük olduğundan yeterli bir sinyale işaret etmektedir.

Çizelge 81 pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak lipaz aktivitesinin ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	70005.28229	9	7778.364699	19.24162	< 0.0001
x₁	9989.695129	1	9989.695129	24.71187	0.0006
x₂	9119.505163	1	9119.505163	22.55925	0.0008
x₃	3088.134467	1	3088.134467	7.639231	0.0200
x₁x₂	98	1	98	0.242426	0.6331
x₁x₃	12.5	1	12.5	0.030922	0.8639
x₂x₃	578	1	578	1.42982	0.2594
x₁²	34490.08778	1	34490.08778	85.31939	< 0.0001
x₂²	14067.55849	1	14067.55849	34.79943	0.0002
x₃²	5928.934171	1	5928.934171	14.66662	0.0033
Artan	4042.467707	10	404.2467707		
Uyum Eksikliği	2887.634374	5	577.5268747	2.500477	0.1686
Net Hata	1154.833333	5	230.9666667		
Düzeltilmiş Toplam	74047.75	19			

$R^2 = 0.9454$ $R^2_{Adj} = 0.8963$ $R^2_{Pred} = 0.6779$ Yeterli Hassasiyet = 12.932

Uyum eksikliği değerinin 2.50 olması, saf hataya göre bu değer anlamlı olmadığını göstermektedir. Uyum eksikliği için elde edilmiş olan olasılık değeri (0.1686), uyum

eksikliği F-değerinin % 16.86'lık bir ihtimalle gürültüden kaynaklanabileceğini belirtmektedir. Bu durum denklemin pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Cu(II) iyonları konsantrasyonuna göre lipaz enzimi aktivitesini yeterli ölçüde öngörebildiğini göstermektedir.

pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonu değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.0006$, $P=0.0008$ ve $P=0.0200$) anlamlı oldukları görülmektedir.

Aynı şekilde kuadratik yönden gerçekleştirilen analize göre pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonu değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P<0.0001$, 0.0002 ve 0.0033), oldukça anlamlı oldukları görülmektedir.

Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık, pH – başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ile sıcaklık – başlangıç Cu(II) konsantrasyonu etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.6331$, $P=0.8639$ ve $P=0.2594$) anlamlı olmadıkları anlaşılmaktadır.

Bu durum, bağımsız değişkenlerin herbirinin ayrı ayrı lipaz enzimi aktivitesini etkilediğini fakat karşılıklı etkileşimlerinin lipaz enzimi aktivitesini çok fazla etkilemediğini göstermektedir.

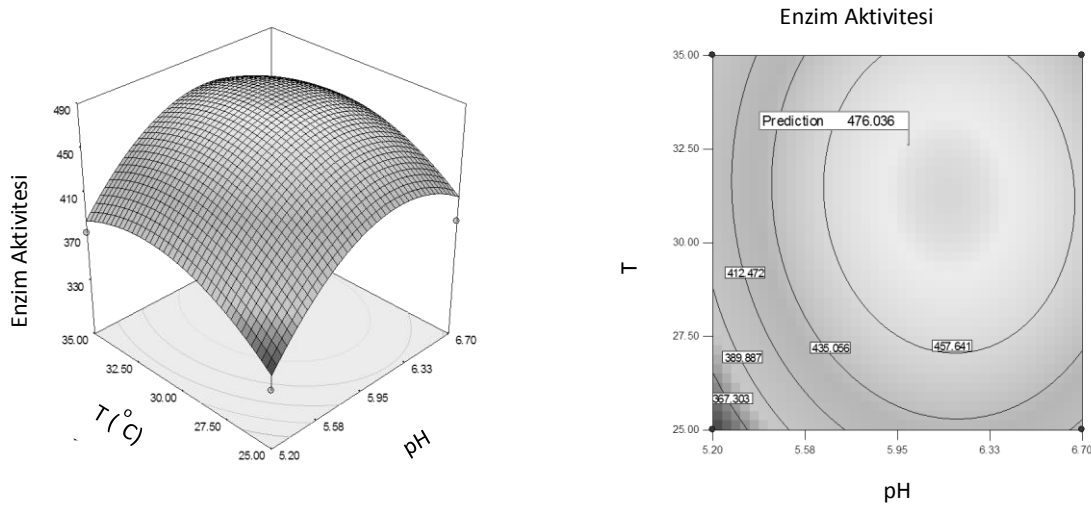
Kontur grafiklerinin dairesel veya eliptik olan şekilleri, değişkenler arasındaki karşılıklı etkileşimlerinin anlamlı olup olmadığına işaret eder. Eğer, bağımsız değişkenler arasındaki karşılıklı etkileşimler anlamlı ise eliptik kontur grafikleri elde edilir.

Şekil 74, Şekil 75 ve Şekil 76'da görüldüğü üzere, dairesel kontur grafiklerinin elde edilmesi, bağımsız değişkenler arasındaki interaktif etkileşimlerin anlamlı olmadığını gösterir. Şekil 74'te sıcaklık ve pH'nin enzim aktivitesi üzerine birlikte etkileri hem üç boyutlu grafikte, hem de kontur grafiği ile gösterilmektedir. pH'nin 6.0 değerine kadar artması ile enzim aktivitesi artmış, daha sonra azalma göstermiştir. Sıcaklığın ise 32.6 °C'ye kadar artması ile de enzim aktivitesi artmış, daha sonra azalmaya başlamıştır.

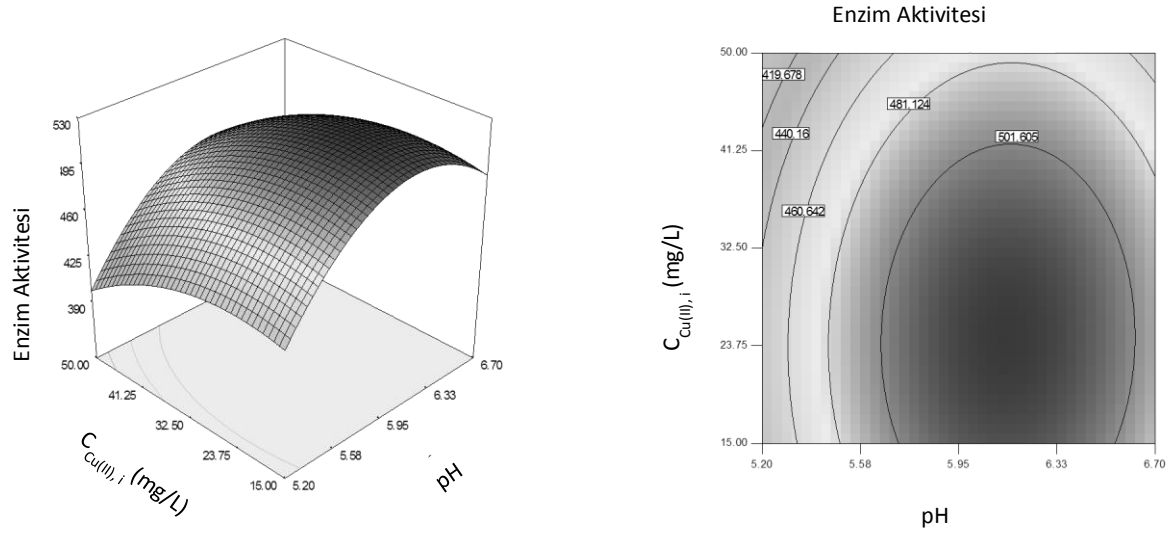
Şekil 75'te başlangıçta Cu(II) iyonu derişimi ve pH'nin enzim aktivitesi üzerine birlikte etkileri değerlendirilmektedir. Buna göre başlangıç Cu(II) iyon derişiminin artırılması ve pH'nin de 6.0'a kadar artması, enzim aktivitesini arttırmaktadır.

Başlangıç Cu(II) iyon derişimi ve sıcaklığın birlikte etkilerinde ise (Şekil 76), enzim aktivitesinin her iki parametrenin değerinin artırılması ile arttığı, sıcaklığın 32.6 °C olduğu noktada ise bir maksimum değere ulaştığı görülmektedir.

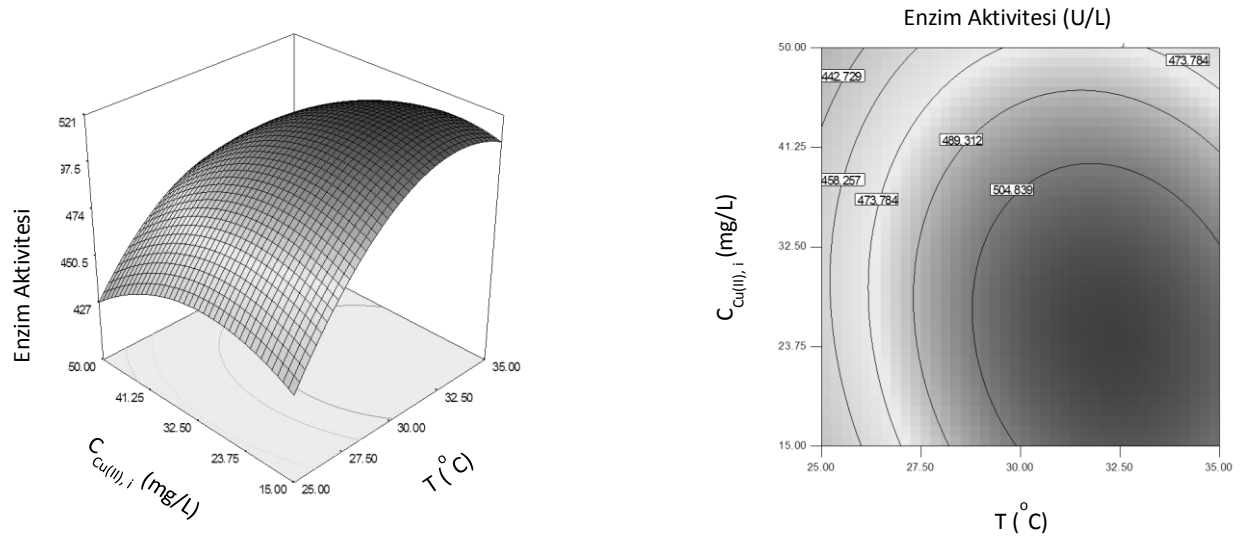
Cu(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modeli çalışmasının *Rhizopus delemar* mikroorganizmasının lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu sonucunda fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.00, fiziksel değişken olan sıcaklığın 32.60 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan Cu(II) başlangıç konsantrasyonunun 50.00 mg/L olduğu koşullarda lipaz enzimi aktivitesi cevabı 476 U/L olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 74 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_3 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 75 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_3 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 76 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_3 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği

4.9.2. Biyobiriktirilen Cu(II) iyonu konsantrasyonu optimizasyonu

Biyobiriktirilen Cu(II) iyonu konsantrasyonu (Y_4), pH (x_1), sıcaklık (x_2) ve başlangıçtaki Cu(II) iyonu derişimi (x_3) bağımsız değişkenlerinin fonksiyonu olarak incelenmiştir.

$$Y_4 \text{ (mg/L)} = + (21.22378) - (3.8259x_1) + (2.287549x_2) + (12.47451x_3) - (1.3375x_1x_2) - (0.2625x_1x_3) + (3.0875x_2x_3) - (0.52664x_1^2) - (1.5873x_2^2) + (1.046671x_3^2)$$

4.6

Yüzey-cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik eşitliğe ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 82'de verilmektedir.

Cu(II) iyonu içeren ortamlarda *R. delemar* tarafından gerçekleştirilen Cu(II) iyonu biyobirikimi analizinde olasılık değeri (P) > F 'nin değeri, 0.0001'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Çalışmada Cu(II) ağır metal biyobirikimi için R^2 değerinin 0.9963 olması modelin kesin doğruluğuna işaret etmektedir. Yüzde olarak göstermek gerekirse bu durum model için hazırlanan analiz noktalarındaki bağımsız değişkenlerin değerlerinin enzim aktivitesindeki değişiminin % 99.63'ünü temsil ettiğini, bu değerlerin sadece % 0.37'sinin modelce temsil edilemediğinin göstergesidir.

Öngörülen R^2 (R^2_{Pred}) değeri için bulunan 0.9817 değeri, ayarlanmış R^2 (R^2_{Adj}) değeri olarak bulunan 0.9930 değeri ile iyi bir uyum içerisindedir.

Yeterli hassasiyet için bulunan 63.116 değeri 4.0'dan büyük olduğundan, uygun bir sinyal değerine işaret etmektedir.

Uyum eksikliği için bulunan 1.39 değeri, saf hataya göre anlamlı değildir. Uyum eksikliği için bulunan P -değeri % 36.38'lik bir ihtimalle gürültüden kaynaklanmaktadır.

Çizelge 82 pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak biyobiriktilen Cu(II) konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	2548.44742	9	283.1608244	302.455	< 0.0001
x₁	199.9018511	1	199.9018511	213.5229	< 0.0001
x₂	71.46471191	1	71.46471191	76.33422	< 0.0001
x₃	2125.188548	1	2125.188548	2269.996	< 0.0001
x₁x₂	14.31125	1	14.31125	15.2864	0.0029
x₁x₃	0.55125	1	0.55125	0.588811	0.4606
x₂x₃	76.26125	1	76.26125	81.45759	< 0.0001
x₁²	3.996992455	1	3.996992455	4.269342	0.0657
x₂²	36.30963816	1	36.30963816	38.78373	< 0.0001
x₃²	15.78785699	1	15.78785699	16.86362	0.0021
Artan	9.362080347	10	0.936208035		
Uyum Eksikliği	5.442080347	5	1.088416069	1.388286	0.3638
Net Hata	3.92	5	0.784		
Düzeltilmiş Toplam	2557.8095	19			

$R^2 = 0.9963$ $R^2_{Adj} = 0.9930$ $R^2_{Pred} = 0.9817$ Yeterli Hassasiyet = 63.116

pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonu değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$ ve $P < 0.0001$) oldukça anlamlı oldukları görülmektedir.

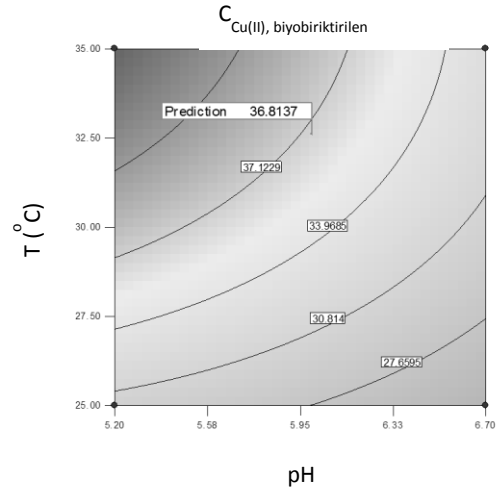
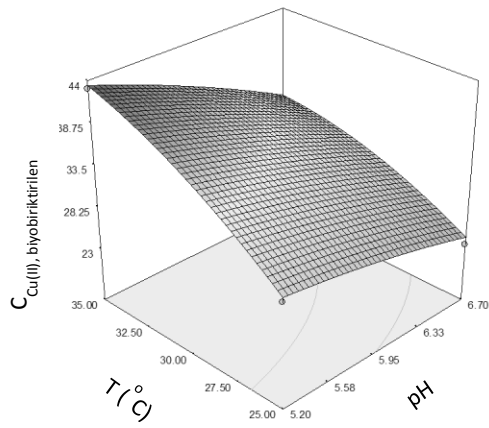
Aynı şekilde kuadratik yönden gerçekleştirilen analize göre pH, sıcaklık ve başlangıçta Cu(II) konsantrasyonu değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P = 0.0657$, $P < 0.0001$ ve $P = 0.0021$), sıcaklık ve başlangıç Cu(II) iyon derişiminin ikinci dereceden değişiminin biyobirikim üzerine etkili olduğu görülmektedir.

Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık, pH - Cu(II) başlangıç metal konsantrasyonu ile sıcaklık - Cu(II) başlangıç metal konsantrasyonu etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P = 0.0029$, $P = 0.4606$ ve $P = < 0.0001$) pH - sıcaklık ile sıcaklık - Cu(II) başlangıç metal konsantrasyonunun karşılıklı etkilerinin anlamlı oldukları görülürken, pH - Cu(II) başlangıç metal konsantrasyonunun karşılıklı etkisinin ise anlamlı olmadığı anlaşılmaktadır.

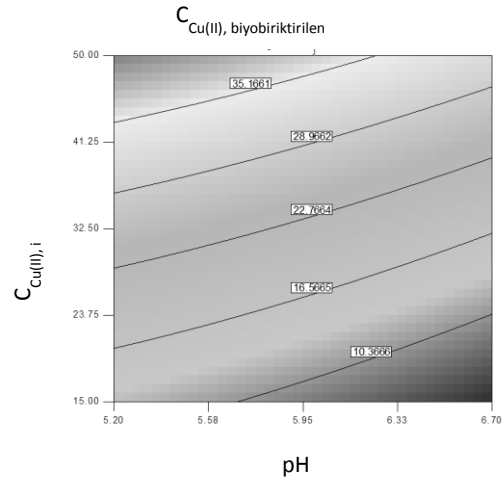
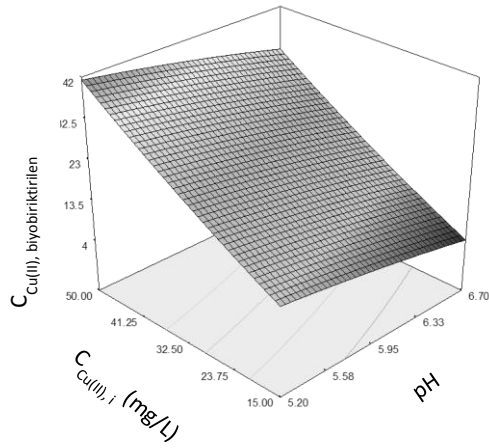
Bu durum, bağımsız değişkenlerin herbirinin ayrı ayrı Cu(II) iyonu biyobirikimini etkilediğini, pH – sıcaklık, sıcaklık – başlangıç Cu(II) iyonu derişiminin karşılıklı etkileşimlerinin de önemli olduğunu göstermektedir.

pH'nin artırılması Cu(II) iyonu biyobirikimini azaltmaktadır. Şekil 77 ve Şekil 78'de bu durum görülebilmektedir. Buna karşın sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonun artışı, Cu(II) iyonu biyobirikimini arttırmaktadır. Özellikle her iki değişkenin de yüksek olduğu noktalardaki biyobirikim değerindeki artış Şekil 79'da görülebilmektedir.

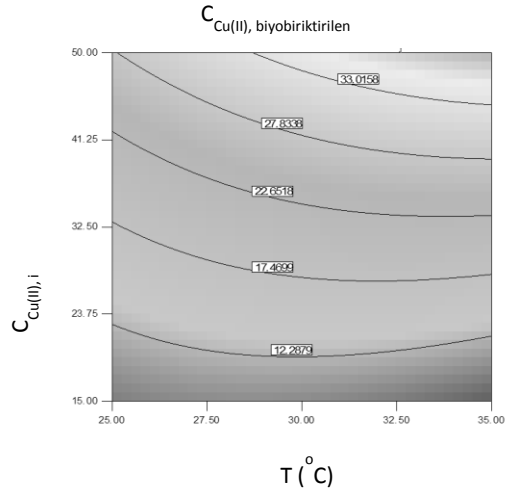
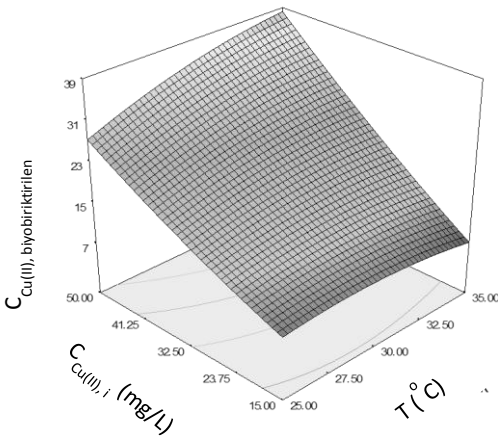
Cu(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modeli çalışmasının, *R. delema*'ın Cu(II) iyonu biyobirikimi optimizasyonu sonucunda, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.00, fiziksel değişken olan sıcaklığın 32.60 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan Cu(II) başlangıç konsantrasyonun 50.00 mg/L olduğu koşullarda lipaz enzimi aktivitesi cevabı 36.81 mg/L olarak gerçekleşmiştir. Bu değer yaklaşık olarak ortamdaki Cu(II) ağır metal iyonlarının % 73'ünü biyobiriktilildiğini ifade etmektedir.



Şekil 77 Sıcaklık ve pH'in karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_4 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 78 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun ve pH'in karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_4 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 79 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_4 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği

4.9.3. *R. delemar* konsantrasyonunun optimizasyonu

R. delemar konsantrasyonunun, pH (x_1), sıcaklık (x_2) ve başlangıç Cu(II) iyonu derişimi (x_3) ile değişimi (Y_5) kuadratik eşitliği ile temsil edilmektedir.

$$Y_5 \text{ (g/L)} = + (0.69378) - (0.03142x_1) + (0.082043x_2) - (0.04783x_3) + (0.0175x_1x_2) + (0.0225x_1x_3) + (0x_2x_3) - (0.03945x_1^2) + (0.001205x_2^2) - (0.02001x_3^2)$$

4.7

Yüzey-cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik eşitliğe ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 83'te verilmektedir.

Cu(II) iyonu içeren ortamlarda *R. delemar* mikroorganizmasının konsantrasyonu analizinde olasılıklar değerleri (P) > F 'nin değeri 0.0001'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Mikroorganizma konsantrasyonu için R^2 değerinin 0.9336 olması modelin doğruluğuna işaret etmektedir. Yüzde olarak göstermek gerekirse, bu durum model için hazırlanan analiz noktalarındaki bağımsız değişkenlerin değerlerinin *R. delemar*'ın konsantrasyonundaki değişimin % 93.36'sını temsil ettiğini, bu değerlerin sadece % 6.64'ünün modelce temsil edilemediğinin göstergesidir.

Cu(II) iyonu içeren ortamlarda *R. delemar* konsantrasyonu analizinde elde edilen 14.472 değerindeki yeterli hassasiyet değeri, uygun bir sinyal/gürültü oranına işaret etmektedir.

Yüzey-cevap modellemesi ile elde edilen model denkleminin uyum eksikliği F -değeri 1.19 olup, saf hataya göre anlamsızdır ve istenen şekilde gerçekleşmiştir. Bu durum denklemin pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) iyonu konsantrasyonuna göre, *R. delemar* konsantrasyonunu yeterli ölçüde öngörebildiğini göstermektedir.

pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) iyonu konsantrasyonu değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.0075$, $P< 0.0001$ ve $P=0.0005$) oldukça anlamlı oldukları görülmektedir.

Aynı şekilde kuadratik yönden gerçekleştirilen analize göre pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) iyonu konsantrasyonu değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.0015$, $P=0.8980$ ve $P=0.0539$), sadece pH'nin ikinci dereceden değişimi anlamlı bulunurken, diğer değişkenlerin anlamlı olmadıkları görülmektedir.

Çizelge 83 pH, sıcaklık ve başlangıç Cu(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak mikroorganizma konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	0.169981634	9	0.018886848	15.61107	< 0.0001
x₁	0.013481547	1	0.013481547	11.14328	0.0075
x₂	0.091924843	1	0.091924843	75.98121	< 0.0001
x₃	0.031239957	1	0.031239957	25.82163	0.0005
x₁x₂	0.00245	1	0.00245	2.025067	0.1852
x₁x₃	0.00405	1	0.00405	3.34756	0.0972
x₂x₃	0	1	0	0	1.0000
x₁²	0.022432364	1	0.022432364	18.54165	0.0015
x₂²	2.09 x 10 ⁻⁵	1	2.09 x ⁻⁵	0.017299	0.8980
x₃²	0.005769194	1	0.005769194	4.768573	0.0539
Artan	1.21 x 10 ⁻²	10	1.21 x 10 ⁻³		
Uyum Eksikliği	0.006565032	5	0.001313006	1.186452	0.4279
Net Hata	0.005533333	5	1.11 x 10 ⁻³		
Düzeltilmiş Toplam	0.18208	19			
$R^2 = 0.9336$ $R^2_{Adj} = 0.8738$ $R^2_{Pred} = 0.6756$ Yeterli Hassasiyet = 14.472					

Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık, pH – başlangıç Cu(II) iyonu konsantrasyonu ile sıcaklık – başlangıç Cu(II) iyonu konsantrasyonu etkileri incelendiğinde (sırasıyla, P=0.1852, P=0.0972 ve P=1.0000) hiçbir karşılıklı etkileşimin anlamlı olmadığı anlaşılmaktadır.

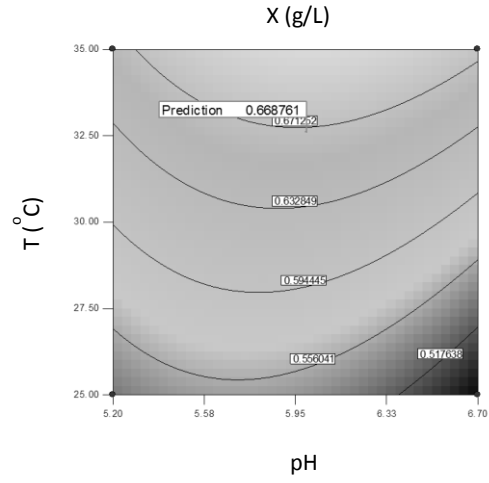
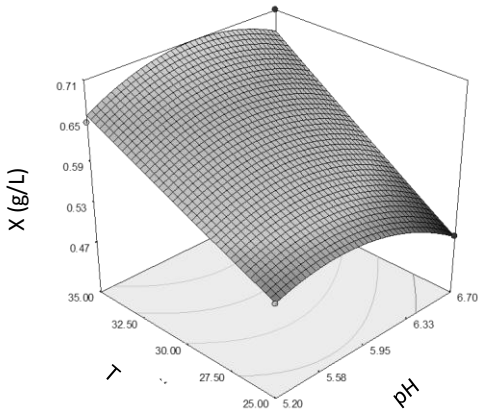
Bu durum, bağımsız değişkenlerin herbirinin ayrı ayrı *R. delemar* konsantrasyonunu etkilediğini göstermektedir.

Başlangıç Cu(II) iyon derişimi arttıkça, mikroorganizma konsantrasyonu azalmaktadır. Özellikle 50.00 mg/L başlangıç metal iyonu konsantrasyonu olduğu koşullarda, mikroorganizma üremesi oldukça azalma göstermektedir. Buna karşın çalışılan aralıkta sıcaklık mikroorganizma konsantrasyonunda farkedilir bir artışa sebep olmaktadır. Özellikle düşük başlangıç Cu(II) iyon derişimi ile yüksek sıcaklığın bir arada olduğu koşullarda mikroorganizma üremesi maksimum seviyededir.

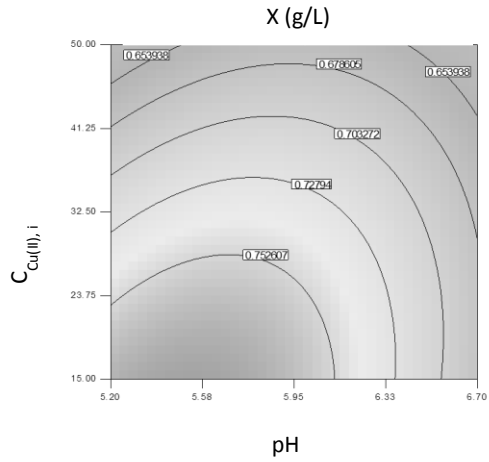
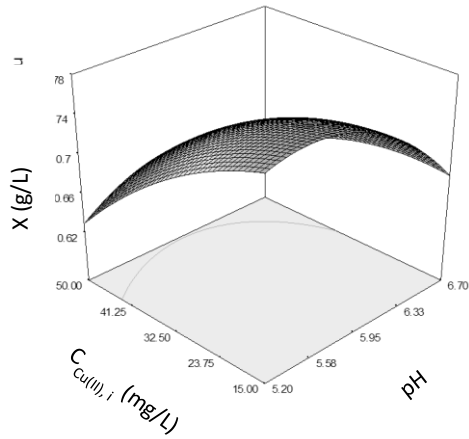
R. delemar konsantrasyonu pH'nin 6.0'a kadar artması ile artmakta, daha yüksek pH değerlerinde ise azalma göstermektedir (Şekil 80, Şekil 81 ve Şekil 82).

Cu(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modeli çalışmasının, *Rhizopus delemar* konsantrasyonunun optimizasyonu sonucunda fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.00, fiziksel değişken olan sıcaklığın 32.60 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan Cu(II) başlangıç konsantrasyonunun 50.00 mg/L olduğu koşullarda mikroorganizma konsantrasyonu 0.67 g/L olarak bulunmuştur.

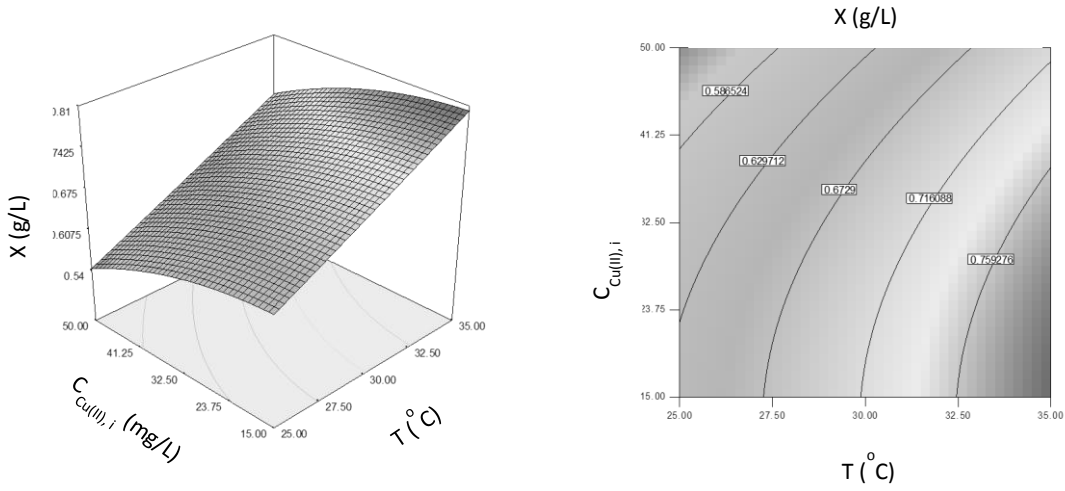
Yüzey-cevap modellemesi yönteminde, mikroorganizma konsantrasyonunun maksimum olduğu koşullar için optimizasyon yapılmamıştır. Maksimum enzim aktivitesi ve Cu(II) iyon biyobirikiminin elde edildiği ortam koşullarındaki mikroorganizma konsantrasyonu belirlenmeye çalışılmıştır.



Şekil 80 Sıcaklık ve pH'in karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_5 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 81 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve pH'in karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_5 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 82 Başlangıç Cu(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_5 modeli ile tanımlanan cevap yüzey grafiği

4.10. Zn(II) İçeren Ortamlarda Gerçekleştirilen Yüzey-Cevap Modellemesi ile Optimizasyon

R. delemar'ın lipaz enzimi aktivitesi ve eş zamanlı Zn(II) iyonu biyobirikimi ile mikroorganizmanın konsantrasyonu için, 20 ayrı deney noktasından oluşan bir deney seti hazırlanmıştır. Deneyler sonucu elde edilen veriler ikinci derecede bir polinom modeli üzerinden değerlendirilerek optimizasyon gerçekleştirilmiştir.

Yirmi deney noktasına sahip sistem üç faktöriyel (2^3) tasarımı için formüle edilmiş ve merkez noktadaki altı adet tekrar ve altı yıldız nokta kuadratik model için değerlendirilmiştir.

Her bir parametre beş değişik seviyede kodlanmıştır. Bunlar, $-\alpha$, -1 , 0 , $+1$ ve $+\alpha$ 'dır.

Çalışmanın bu bölümünde uygulanan merkezi bileşke tasarımında kullanılan bağımsız değişkenler olan pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) iyonu derişiminin aralık ve seviyeleri Çizelge 84'te verilmiştir.

Deneysel uygulamalardan elde edilen veriler ile regresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Lipaz enzimi aktivitesi, Zn(II) metali biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonu cevaplarının her biri bağımlı değişken olarak ele alınmıştır ve Y_6 , Y_7 ve Y_8 modellerinde belirtilen şekilde hesaplanmıştır.

Bağımlı değişkenlerin ilişkisi ve deneylerde elde edilen cevapların ikinci derece polinomik denklem ile ifade ediliş şekli şöyledir:

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j \quad 4.8$$

Bu denklemde, Y öngörülen cevabı, β_0 ara terimi, β_i lineer etkiyi, β_{ii} etkinin karesini ve β_{ij} karşılıklı etkileşim değerini göstermektedir.

Çizelge 84 Merkezi bileşke tasarımı için seçilen bağımsız değişkenler, pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun düzey ve kodları

Değişkenler	Semboller		Kodlanmış Seviyeler				
	Kodlanmamış	Kodlanmış	$-\alpha$	-1	0	1	α
pH	X_1	x_1	5.00	5.61	6.50	7.39	8.00
T (C)	X_2	x_2	24.27	27.00	31.00	35.00	37.73
$c_{zn,i}$ (mg/L)	X_3	x_3	5.06	14.20	27.60	41.00	50.14

Merkezi bileşke tasarımı yöntemi ile merkez noktasında altı tekrardan oluşan 20 ayrı deneyden oluşan set oluşturulmuştur. Kodlanmış şekildeki bağımsız değişkenler ile lipaz enzimi aktivitesi, Zn(II) iyonu biyobirikimi ve *R. delemar* mikroorganizmasının konsantrasyonunun gösterildiği tasarım matrisi Çizelge 85'te verilmiştir.

Çizelge 85 Merkezi Bileşke Tasarımı Matriksi, lipaz aktivitesi, Zn(II) biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun deneysel ve model değerlerinin karşılaştırılması ve bağıl yüzde hata değerleri

Set	Bağımsız Değişkenler			Enzim Aktivitesi (U/L)			Biyobirikim (mg/L)			Mikroorganizma Konsantrasyonu (g/L)		
	x ₁	x ₂	x ₃	Deney	Model	% Hata	Deney	Model	% Hata	Deney	Model	% Hata
1	+α	0	0	502	492	2	17.87	18.41	3	0.54	0.59	9
2	0	0	0	486	507	4	24.22	25.38	5	1.03	1.02	1
3	0	+α	0	513	516	1	22.06	22.26	1	1.21	1.26	4
4	1	-1	-1	357	370	4	5.13	4.73	8	0.91	0.90	1
5	1	-1	1	539	534	1	27.76	27.59	1	0.16	0.14	11
6	0	0	0	523	507	3	25.56	25.38	1	1.04	1.02	2
7	-1	1	-1	403	405	0	15.17	15.08	1	1.45	1.44	0
8	1	1	1	549	574	5	32.73	32.01	2	0.68	0.61	10
9	-1	-1	1	479	495	3	25.97	25.57	2	0.54	0.53	2
10	0	0	+α	613	600	2	31.77	32.34	2	0.06	0.10	71
11	1	1	-1	439	421	4	5.69	5.83	2	1.33	1.31	1
12	-α	0	0	432	446	3	24.71	24.52	1	1.05	1.03	2
13	0	0	0	502	507	1	25.9	25.38	2	1.12	1.02	9
14	0	0	0	498	507	2	26.05	25.38	3	0.97	1.02	5
15	-1	-1	-1	345	317	8	14.97	15.43	3	1.39	1.43	3
16	0	0	-α	304	321	6	1.96	1.77	10	1.47	1.45	1
17	0	-α	0	406	407	0	18.65	18.83	1	0.87	0.85	2
18	0	0	0	524	507	3	25.21	25.38	1	0.94	1.02	8
19	0	0	0	512	507	1	25.39	25.38	0	1.01	1.02	1
20	-1	1	1	589	573	3	28.43	28.57	0	0.61	0.60	2

4.10.1. Lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu

Lipaz enzimi aktivitesi (Y_6) modeli fizikokimyasal değişken olan pH (x_1), fiziksel değişken olan sıcaklık (x_2) ve ortam bileşeni değişkeni olan başlangıçtaki Zn(II) iyonu derişimi (x_3) bağımsız değişkenlerinin bir fonksiyonudur.

$$Y_6 \text{ (U/L)} = + (507.3833) + (13.59943x_1) + (32.21473x_2) + (82.86491x_3) - (9.500x_1x_2) - (3.500x_1x_3) - (2.500x_2x_3) - (13.5564x_1^2) - (16.208x_2^2) - (16.5616x_3^2)$$

4.9

Yüzey-cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik yöntemle ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 86'da verilmektedir.

Zn(II) iyonu içeren ortamlarda, *R. delemar* tarafından gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi analizinde, olasılık değeri (P) > F 'nin değeri, 0.0001'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Çalışmada lipaz enzimi aktivitesi için R^2 değerinin 0.9649 olması deneysel değerler ile model tarafından öngörülen değerler arasında iyi bir uyum olduğuna işaret etmektedir.

Yüzde olarak ifade edildiğinde, R^2 değeri, enzim aktivitesi için, toplam değişimin % 96.49'unun bağımsız değişkenlere atfedildiğini, toplam değişimin yalnız % 3. 51'inin model tarafından temsil edilmediğini göstermektedir.

Model için bulunan ayarlanmış R^2 (R^2_{Adj}) değeri olan 0.9333 değeri, öngörülen R^2 (R^2_{Pred}) değeri için bulunan 0.7643 değeri ile uyumludur.

Çizelge 86 pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak lipaz aktivitesinin ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	1.20 x 10 ⁵	9	13336.92	30.55	< 0.0001
x₁	2525.76	1	2525.76	5.79	0.037
x₂	14172.93	1	14172.93	32.47	0.0002
x₃	93776.06	1	93776.06	214.81	< 0.0001
x₁x₂	722	1	722	1.65	0.2274
x₁x₃	98	1	98	0.22	0.6458
x₂x₃	50	1	50	0.11	0.742
x₁²	2648.43	1	2648.43	6.07	0.0335
x₂²	3785.84	1	3785.84	8.67	0.0147
x₃²	3952.81	1	3952.81	9.05	0.0131
Artan	4365.45	10	436.55		
Uyum Eksikliği	3249.95	5	649.99	2.91	0.1327
Net Hata	1115.5	5	223.1		
Düzeltilmiş Toplam	1.24 x 10 ⁵	19			

$R^2 = 0.9649$ $R^2_{Adj} = 0.9333$ $R^2_{Pred} = 0.7643$ Yeterli Hassasiyet = 19.157

Yeterli hassasiyet için bulunan 19.157 değeri, 4'ten büyük olduğundan, uygun bir sinyale işaret etmektedir.

Uyum eksikliği için bulunmuş olan F-değeri olan 2.91, saf hataya göre anlamlı değildir ve modele uyumun iyi olduğunu göstermektedir. Uyum eksikliği F-değeri yalnız % 13.27'lik bir ihtimalle gürültüden kaynaklanmaktadır. Bu durum denklemin pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Zn(II) iyonu konsantrasyonuna göre lipaz enzimi aktivitesini yeterli ölçüde öngörebildiğini göstermektedir.

pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonu değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.037$, $P=0.0002$ ve $P< 0.0001$) anlamlı oldukları görülmektedir.

Aynı şekilde kuadratik yönden gerçekleştirilen analize göre pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonu değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.0335$, $P=0.0147$ ve $P=0.0131$), anlamlı oldukları görülmektedir.

Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık, pH – başlangıç Zn(II) metal konsantrasyonu ile sıcaklık – başlangıç Zn(II) konsantrasyonu etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P=0.2274$, $P=0.6458$ ve $P=0.742$) anlamlı olmadıkları anlaşılmaktadır.

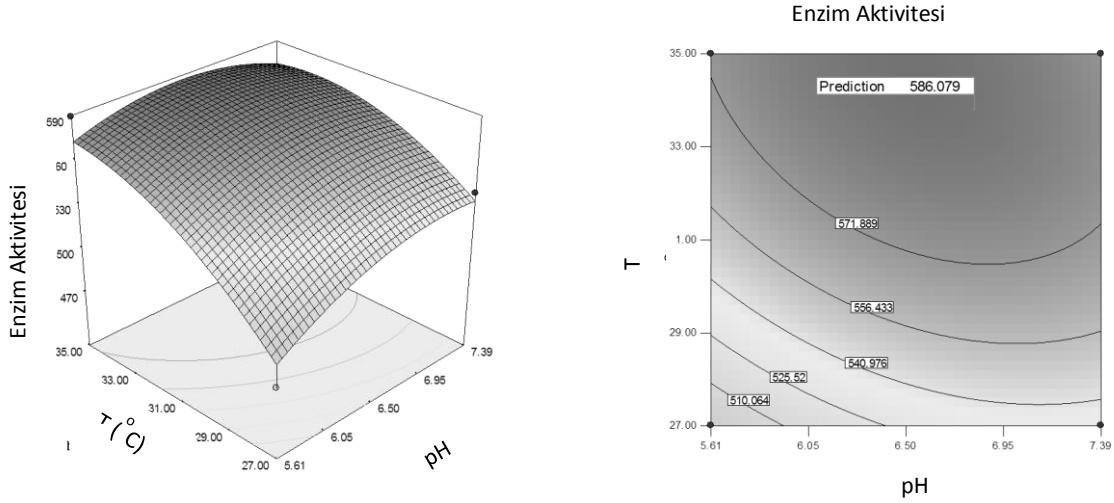
Bu durum bağımsız değişkenlerin herbirinin ayrı ayrı lipaz enzimi aktivitesini etkilediğini, fakat karşılıklı etkileşimlerinin lipaz enzimi aktivitesi için önemli bir etken olmadığını göstermektedir.

Başlangıçtaki Zn(II) ağır metali konsantrasyonundaki artış ile lipaz enzimi aktivitesi tamamıyla doğru orantılıdır. Şekil 84'te görüldüğü üzere yaklaşık 14 mg/L'lik başlangıç konsantrasyonu 41 mg/L'ye yükselirken enzim aktivitesi de 550 U/L'nin üzerine çıkmaktadır. pH değişiminin etkisi başlangıç Zn(II) derişimi kadar enzim aktivitesini etkilememektedir.

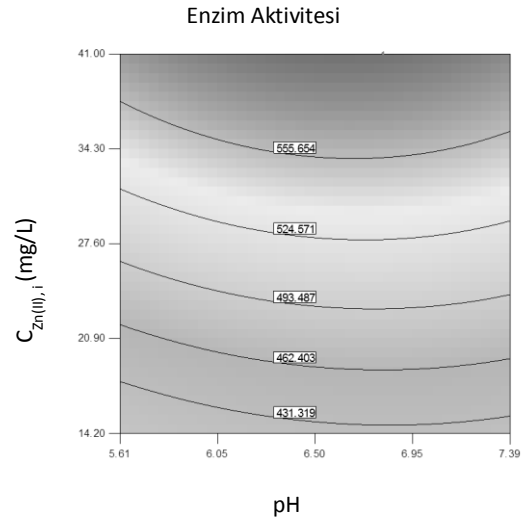
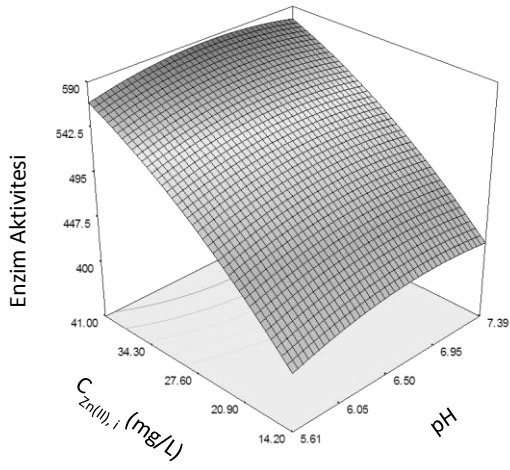
Sıcaklık seviyesinde artış yönündeki değişim, enzim aktivitesinde de artışa sebep olmaktadır. Şekil 83'te görüldüğü şekliyle özellikle düşük sıcaklıklarda enzim faaliyeti

olduğu azalmaktadır. Başlangıç Zn(II) iyon derişimi ile sıcaklığın en yüksek olarak keşitiği noktada, enzim aktivitesi de maksimum seviyeye çıkmaktadır (Şekil 85).

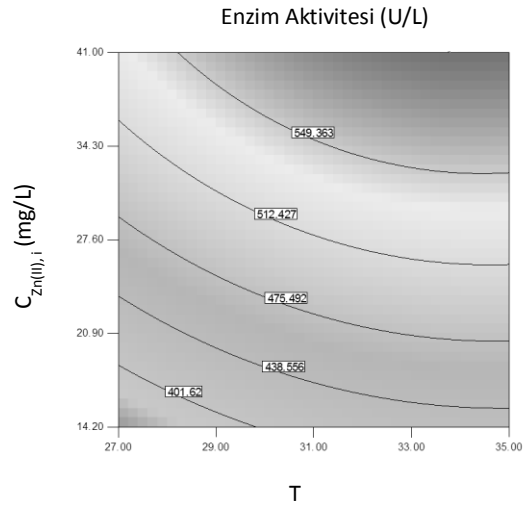
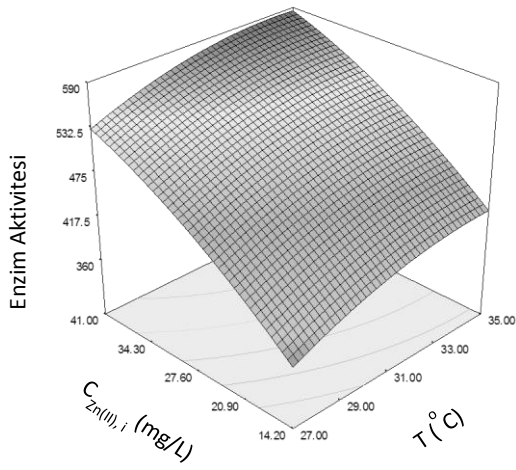
Zn(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesinde *R. delamar*'ın lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu sonucunda, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.81, fiziksel değişken olan sıcaklığın 33.78 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan Zn(II) başlangıç konsantrasyonunun 41.00 mg/L olduğu koşullarda, lipaz enzimi aktivitesi cevabı 586 U/L olarak gerçekleşmiştir.



Şekil 83 Sıcaklık ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_6 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 84 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_6 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 85 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin lipaz aktivitesi üzerindeki etkisini gösteren ve Y_6 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği

4.10.2. Biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu optimizasyonu

Biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu (Y_7) modeli, pH (x_1), sıcaklık (x_2) ve başlangıçtaki Zn(II) iyonu derişimi (x_3) bağımsız değişkenlerinin bir fonksiyonudur.

$$Y_7 \text{ (mg/L)} = + (25.37752) - (1.81107x_1) + (1.019628x_2) + (9.084394x_3) + (0.35875x_1x_2) + (3.17625x_1x_3) + (0.83375x_2x_3) - (1.37831x_1^2) - (1.70888x_2^2) - (2.94278x_3^2)$$

4.10

Yüzey-cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik yonteme ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 87'de verilmektedir.

Zn(II) iyonu içeren ortamlarda *R. delemar* tarafından gerçekleştirilen Zn(II) iyonu biyobirikimi analizinde, olasılık değeri (P) > F 'nin değeri, 0.0001'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Çalışmada Zn(II) biyobirikimi için R^2 değerinin 0.9972 olması, modelin kesin doğruluğuna işaret etmektedir. Yüzde olarak belirtmek gerekirse bu durum önerilen modelin biyobiriktirilen Zn(II) iyonu konsantrasyonunu tanımlamakta % 99.72 oranında başarılı olduğunu, deneysel sonuçların ise sadece % 0.28'inin model tarafından temsil edilemediğini göstermektedir.

Elde edilmiş olan ayarlanmış R^2 (R^2_{Adj})'in 0.9947'lik değeri, öngörülen R^2 (R^2_{Pred}) değeri için bulunmuş olan 0.9873 değeri ile iyi bir uyum içerisindedir. Tüm regresyon katsayılarının değerleri 1.0'a çok yakındır.

Yeterli hassasiyet için bulunmuş olan 68.194 değeri, 4'ten büyük olduğundan uygun bir sinyal/gürültü oranına işaret etmektedir.

Çizelge 87 pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak biyobiriktilen Zn(II) konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	1440.82	9	160.09	398.69	< 0.0001
x₁	44.79	1	44.79	111.56	< 0.0001
x₂	14.2	1	14.2	35.36	0.0001
x₃	1127.05	1	1127.05	2806.81	< 0.0001
x₁x₂	1.03	1	1.03	2.56	0.1404
x₁x₃	80.71	1	80.71	201	< 0.0001
x₂x₃	5.56	1	5.56	13.85	0.004
x₁²	27.38	1	27.38	68.18	< 0.0001
x₂²	42.08	1	42.08	104.81	< 0.0001
x₃²	124.8	1	124.8	310.81	< 0.0001
Artan	4.02	10	0.4		
Uyum Eksikliği	1.89	5	0.38	0.89	0.5499
Net Hata	2.13	5	0.43		
Düzeltilmiş Toplam	1444.84	19			

$R^2 = 0.9972$ $R^2_{Adj} = 0.9947$ $R^2_{Pred} = 0.9873$ Yeterli Hassasiyet = 68.194

Uyum eksikliği F-değerinin 0.89 olarak bulunmuş olması, saf hataya göre anlamlı olmadığını göstermektedir. Uyum eksikliği F-değeri %54.99'luk bir ihtimalle

gürültüden kaynaklanıyor olabilmektedir. Bu durum denklemin pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Zn(II) iyonları konsantrasyonuna göre Zn(II) iyonu biyobirikimi yeterli ölçüde öngörebildiğini göstermektedir.

pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonu değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P < 0.0001$, $P = 0.0001$ ve $P < 0.0001$) oldukça anlamlı oldukları görülmektedir.

Aynı şekilde kuadratik yünden gerçekleştirilen analize göre pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonu değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$ ve $P < 0.0001$), oldukça anlamlı oldukları görülmektedir.

Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık, pH - Zn(II) iyonu ile sıcaklık - Zn(II) iyonu etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P = 0.1404$, $P < 0.0001$ ve $P = 0.004$) pH - Zn(II) başlangıç metal konsantrasyonu ile sıcaklık - Zn(II) başlangıç metal konsantrasyonunun karşılıklı etkilerinin anlamlı oldukları görülürken, pH - sıcaklık karşılıklı etkisinin ise anlamlı olmadığı anlaşılmaktadır.

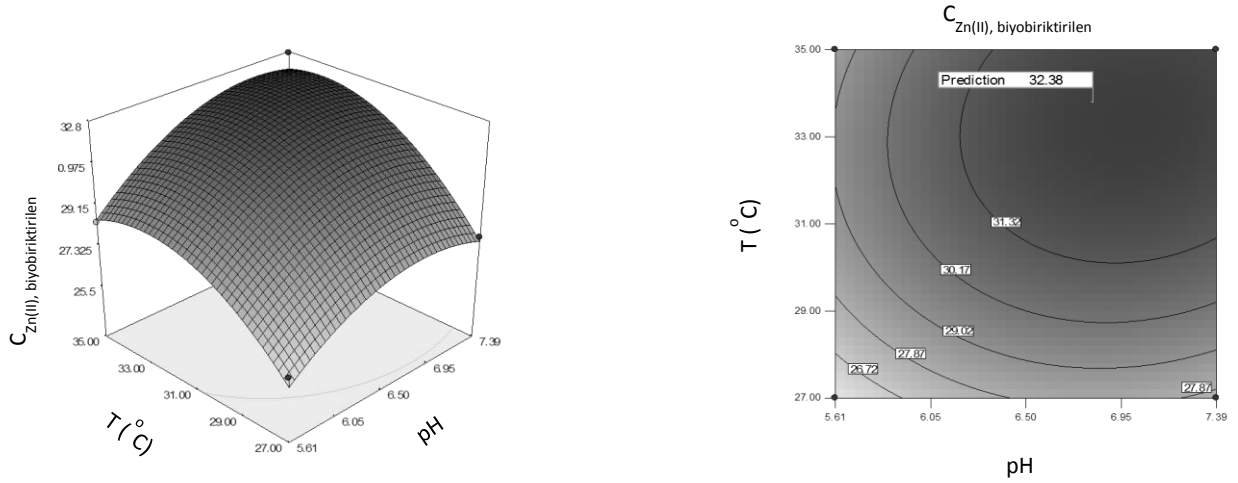
Bu şu anlama gelmektedir. Maksimum Zn(II) biyobirikiminin elde edildiği optimum pH değeri çalışılan sıcaklık aralığında bir değişim göstermez. Bunun tersi de doğrudur. Maksimum Zn(II) biyobirikiminin elde edildiği, optimum sıcaklık değeri pH ile değişmez. Öte yandan maksimum Zn(II) biyobirikiminin elde edildiği, başlangıç Zn(II) iyonu konsantrasyonu pH'ye bağlı olarak değişecektir. Başka bir deyişle, en yüksek Zn(II) biyobirikiminin elde edildiği pH değerinde, daha yüksek Zn(II) konsantrasyonları ile çalışmak mümkün olabilecektir. Benzeri bir yorum sıcaklık için de yapılabilir. Optimum sıcaklık değerinde daha yüksek Zn(II) konsantrasyonları, biyobirikim verimliliğini artırır.

Biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu modellemesinde pH - sıcaklık karşılıklı etkisinin olmadığı Şekil 86'dan da anlaşılmaktadır. Kontur grafiğindeki dairesel eğriler pH ve sıcaklığın Zn(II) biyobirikimine ayrı ayrı etki ettiğini göstermektedir. Şekil 86a incelendiğinde, sıcaklığın ve pH'nin en düşük ve en yüksek olduğu noktalarda

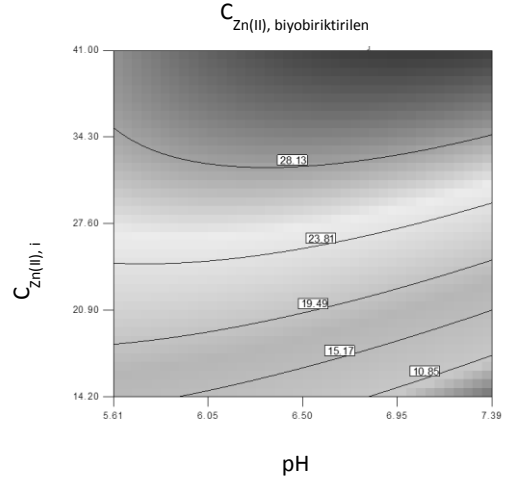
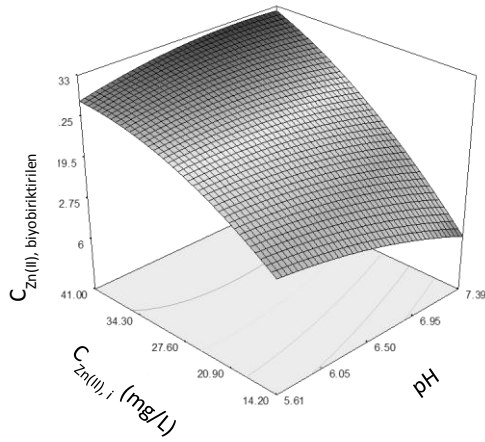
biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu azalırken, pH ve sıcaklığın optimum noktalarına yaklaştıkça Zn(II) biyobirikiminin arttığı görülmektedir.

Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu arttıkça, mikroorganizmanın Zn(II) biyobirikimi de artmaktadır, fakat 41 mg/L'lik başlangıç metal konsantrasyonu değeri aşıldığında biyobirikim değerlerindeki azalma başlamaktadır. (Şekil 87 ve Şekil 88)

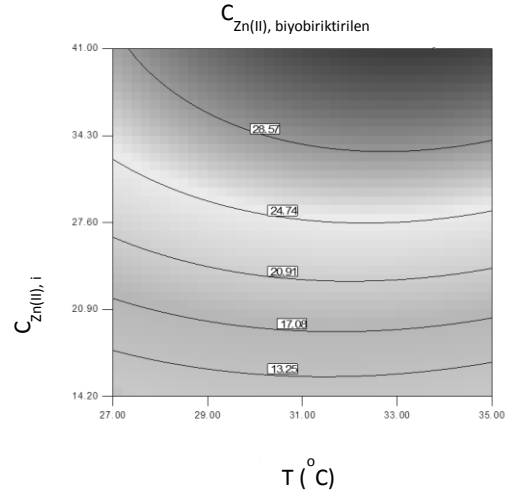
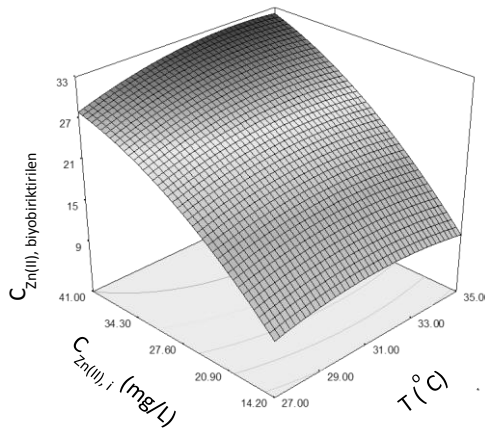
Zn(II) iyonu konsantrasyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesinde *R. delemar*'ın Zn(II) iyonu biyobirikimi optimizasyonu sonucunda fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.81, fiziksel değişken olan sıcaklığın 33.78 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan Zn(II) başlangıç konsantrasyonununun 41.00 mg/L olduğu koşullarda, Zn(II) biyobirikimi 32.38 mg/L olarak saptanmıştır. Bu değer yaklaşık olarak ortamdaki Zn(II) iyonlarının % 79'unun biyobiriktirildiğini ifade etmektedir.



Şekil 86 Sıcaklık ve pH'in karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y₇ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 87 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y₇ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 88 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y₇ modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği

4.10.3. *R. delemar* konsantrasyonunun optimizasyonu

R. delemar mikroorganizması konsantrasyonu (Y_8) modeli, pH (x_1), sıcaklık (x_2) ve başlangıç Zn(II) iyonu derişimi (x_3) bağımsız değişkenlerinin bir fonksiyonudur.

$$Y_8 \text{ (g/L)} = + (1.017485) - (0.12944x_1) + (0.120219x_2) - (0.3999x_3) + (0.10125x_1x_2) + (0.03625x_1x_3) + (0.01375x_2x_3) - (0.07341x_1^2) + (0.013207x_2^2) - (0.008402x_3^2)$$

4.11

Yüzey-cevap modeli olarak seçilmiş olan kuadratik yönteme ait değişkenler analizi (ANOVA) Çizelge 88'de verilmektedir.

Zn(II) iyonu içeren ortamlarda *R. delemar* konsantrasyonu analizinde, olasılıklar değeri (P) > F , 0.0001'den küçüktür ve bu durum modelin oldukça anlamlı olduğunu belirtmektedir.

Çalışmada mikroorganizma konsantrasyonu için R^2 değerinin 0.9881 olması modelin doğruluğuna işaret etmektedir. Yüzde olarak göstermek gerekirse bu durum önerilen modelin mikroorganizma konsantrasyonunu öngörmeye % 98.81 oranında başarılı olduğunu, deneysel sonuçların sadece % 1.19'unun model tarafından temsil edilmediğini göstermektedir.

Model için bulunan ayarlanmış R^2 (R^2_{Adj})'nin 0.9774 olan değeri, öngörülen R^2 (R^2_{Pred})'nin 0.905 olan değeri ile iyi bir uyum içerisindedir. Tüm öngörülen R^2 değerleri 1'e yakın olarak bulunmuştur.

Yeterli hassasiyet için bulunmuş olan 32.344 değeri, 4'ten büyük olduğunda, uygun bir sinyal/gürültü oranına işaret etmektedir.

Çizelge 88 pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonunun fonksiyonu olarak mikroorganizma konsantrasyonunun ikinci dereceden polinom modeli için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler Toplamı	DF	Ortalama Kare	F-Değeri	Olasılık (P) > F
Model	2.88	9	0.32	92.47	< 0.0001
x₁	0.23	1	0.23	66.15	< 0.0001
x₂	0.2	1	0.2	57.06	< 0.0001
x₃	2.18	1	2.18	631.42	< 0.0001
x₁x₂	0.082	1	0.082	23.71	0.0007
x₁x₃	0.011	1	0.011	3.04	0.1119
x₂x₃	1.513 x 10 ⁻³	1	1.513 x 10 ⁻³	0.44	0.5234
x₁²	0.078	1	0.078	22.46	0.0008
x₂²	2.514 x 10 ⁻³	1	2.514 x 10 ⁻³	0.73	0.4139
x₃²	0.1	1	0.1	29.41	0.0003
Artan	0.035	10	3.46 x 10 ⁻³		
Uyum Eksikliği	0.015	5	3.02 x 10 ⁻³	0.78	0.6066
Net Hata	0.019	5	3.90 x 10 ⁻³		
Düzeltilmiş Toplam	2.91	19			

R² = 0.9881 R²_{Adj} = 0.9774 R²_{Pred} = 0.9505 Yeterli Hassasiyet = 32.344

Uyum eksikliği F-değerinin 0.78 olarak bulunmuş olması, saf hataya göre anlamlı olmadığını göstermektedir. Uyum eksikliği F-değeri % 60.66'lık bir ihtimalle gürültüden kaynaklanıyor olabilmektedir. Bu durum denklemin pH, sıcaklık ve başlangıçtaki Zn(II) iyonları konsantrasyonuna göre *R. delemar* konsantrasyonunu yeterli ölçüde öngörebildiğini göstermektedir.

pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) iyonu konsantrasyonu değişkenlerinin lineer etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P < 0.0001$, $P < 0.0001$ ve $P < 0.0001$) oldukça anlamlı oldukları görülmektedir.

Aynı şekilde kuadratik yönden gerçekleştirilen analize göre pH, sıcaklık ve başlangıç Zn(II) konsantrasyonu değişkenlerinin etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P = 0.0008$, $P = 0.4139$ ve $P = 0.0003$), sadece sıcaklığın ikinci dereceden değişiminin *R. delemar* konsantrasyonu üzerinde anlamlı bir etkisi olmadığı anlaşılmaktadır.

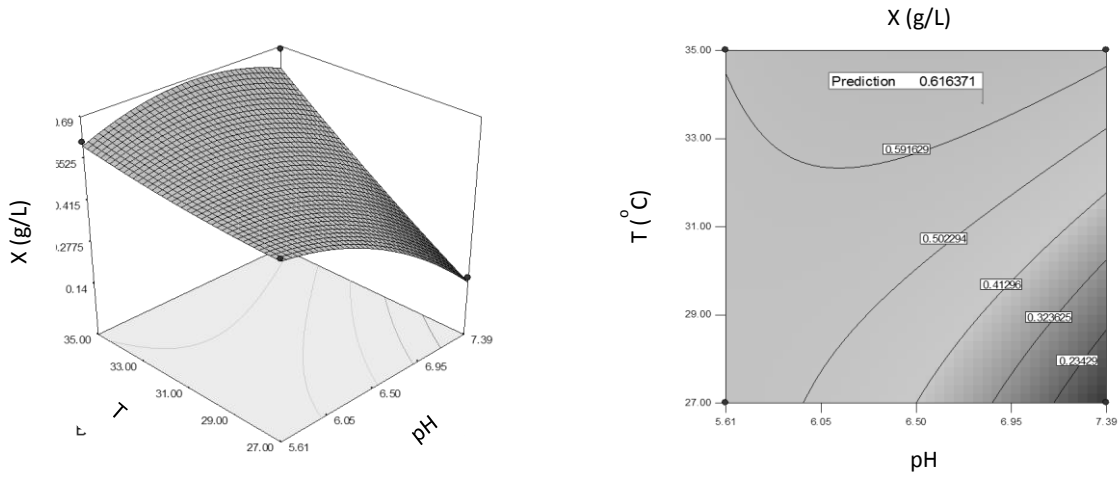
Değişkenlerin birbirleriyle olan karşılıklı etkileşimlerinde yani pH - sıcaklık, pH – başlangıç Zn(II) iyonu konsantrasyonu ile sıcaklık – başlangıç Zn(II) iyonu konsantrasyonu etkileri incelendiğinde (sırasıyla, $P = 0.0007$, $P = 0.1119$ ve $P = 0.5234$) sadece pH – sıcaklık faktörlerinin karşılıklı etkisinin anlamlı olduğu, pH – başlangıç Zn(II) metal konsantrasyonu ile sıcaklık – başlangıç Zn(II) metal konsantrasyonu etkilerinin anlamsız olduğu görülmektedir.

Bu durum, bağımsız değişkenlerin herbirinin ayrı ayrı *R. delemar*'ın konsantrasyonunu etkilediğini, karşılıklı etkileşimlerinin ise sadece pH – sıcaklık parametreleri durumunda anlamlı olduğunu göstermektedir.

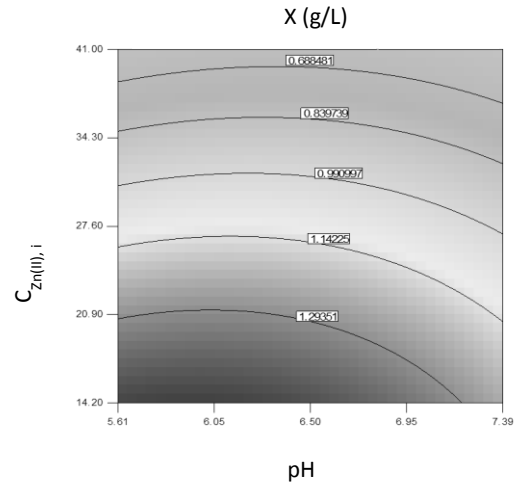
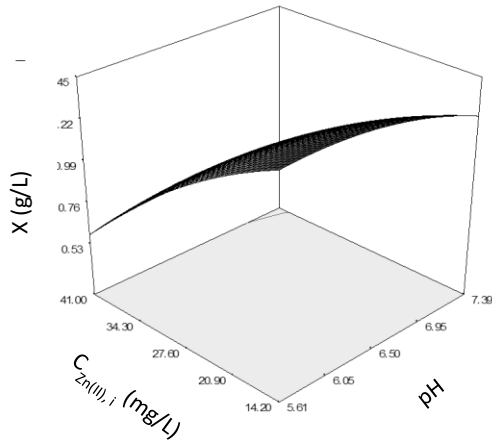
Başlangıç Zn(II) konsantrasyonundaki artış, *R. delemar*'ın üremesi üzerinde genellikle azaltma yönünde bir etki oluşturmaktadır. Şekil 90'dan da görüleceği üzere pH değerinin asidik koşullardan bazik koşullara yaklaşmasının, mikroorganizma konsantrasyonundaki azaltıcı etkisi, Zn(II) ağır metalinin başlangıç konsantrasyonundaki artışın mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisinden azdır. Şekil 91'de de hem başlangıç Zn(II) iyon konsantrasyonunun, hem de

sıcaklığın belirli bir değere kadar artırılmasının mikroorganizma konsantrasyonunu arttırdığı görülmemektedir. (Şekil 89 ve Şekil 91)

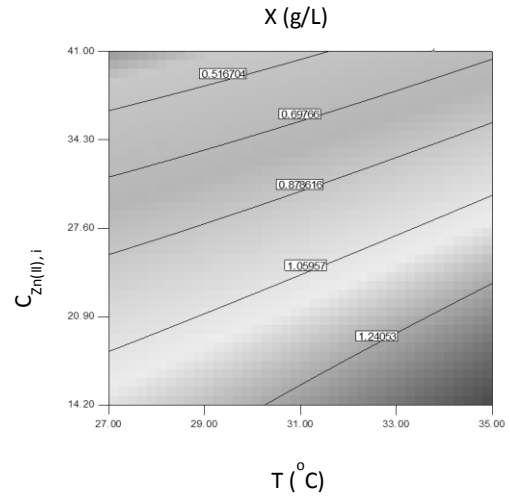
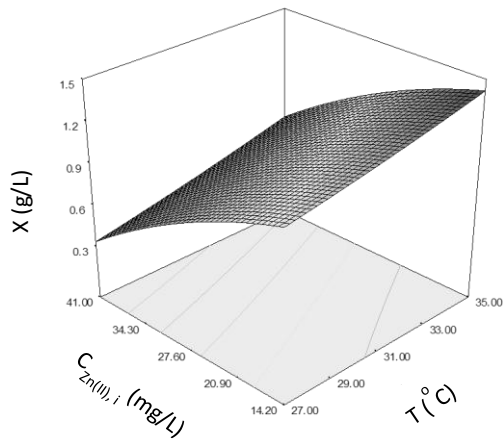
Zn(II) iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesinde *R. delmar*'ın konsantrasyonunun optimizasyonu sonucunda, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.81, fiziksel değişken olan sıcaklığın 33.78 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan Zn(II) başlangıç konsantrasyonunun 41.00 mg/L olduğu koşullarda mikroorganizma konsantrasyonu 0.62 g/L olarak bulunmuştur.



Şekil 89 Sıcaklık ve pH'nin karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_8 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 90 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve pH'ın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_8 modeli ile tanımlanan yüzey cevap grafiği



Şekil 91 Başlangıç Zn(II) konsantrasyonu ve sıcaklığın karşılıklı etkileşimlerinin mikroorganizma konsantrasyonu üzerindeki etkisini gösteren ve Y_8 modeli ile tanımlanan cevap yüzey grafiği

4.11. Optimum Değerlerin Sınama alışmaları

Yüzey-cevap modellemesi çalışmasında ele alınan bağımsız değişkenlere göre elde edilen bağımlı değişkenler istatistiki kriterler açısından oldukça kabul edilebilirlerdir.

Buna karşın elde edilen deneysel modellerin, fiili çalışmalarla da sınanması ve doğruluğunun test edilmesi gerekmektedir. Bu yüzden, bu cevapların teyit edilmesi için her bir modeldeki değişkenin cevap olarak oluşturulmuş olan optimum koşullarda deneyleri gerçekleştirilmiştir.

4.11.1. Ağır metal içermeyen ortamlar

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesi ile oluşturulan merkezi bileşke tasarımı yöntemine göre elde edilen modelde pH için 5.40 ile 7.50 ve sıcaklık içinse 27 °C ile 35 °C sınır değerlerinin oluşturduğu besin ortamlarında *R. delamarı*'ın lipaz enzimi aktivitesi ve mikroorganizma konsantrasyonunun optimizasyonu çalışılmıştır.

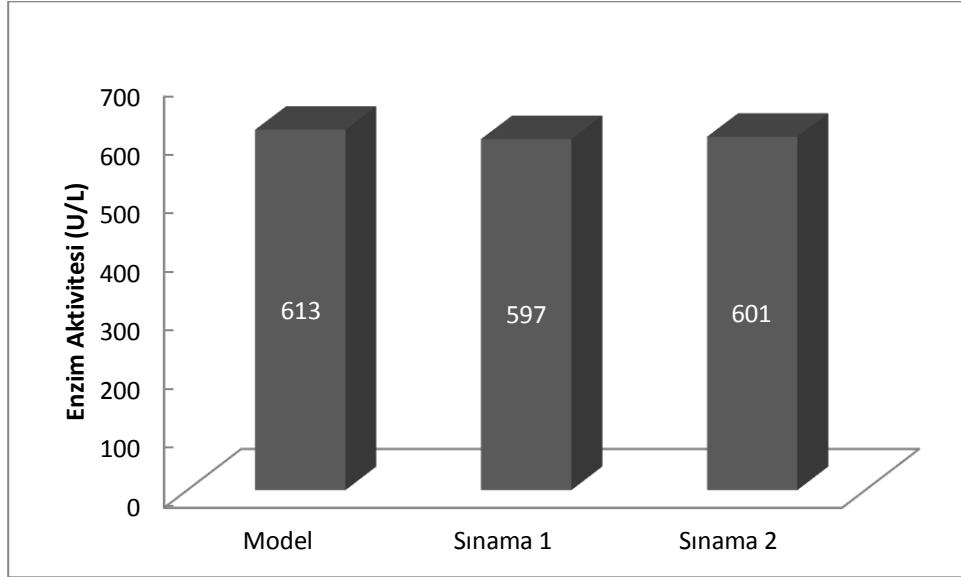
Buna göre oluşturulmuş olan Y_1 ve Y_2 modelleriyle, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.56 ve fiziksel değişken olan sıcaklığın 35.24 °C olduğu koşullarda, elde edilen lipaz enzimi aktivitesi cevabı 613 UL/ ve *R. delamar* konsantrasyonu ise 1.22 g/L olarak bulunmuştur.

Elde edilmiş olan optimum noktaları sınama amacıyla en iki ayrı deneysel çalışma gerçekleştirilmesi hedeflenmiş ve bu deneyler neticesinde Y_1 ve Y_2 modellerinin verdiği cevaplar kontrol edilmiştir.

şekil 92'den görüldüğü üzere Y_1 modelince elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 613 U/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri ise Sınama 1 ve Sınama 2 şeklinde gösterilmiştir.

Sinama 1 ve Sinama 2 deneylerinde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri sırasıyla 597 U/L ve 601 U/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 97.3 ve % 98.0'ını oluşturmaktadır.

Modelin ortalama olarak % 97.7, yani sadece % 2.3 fark ile çalışıyor olması ise bu modelin kabul edilebilir olduğunu ve modelce oluşturulan optimum değerlerin gerçeği yansıttığını göstermektedir.

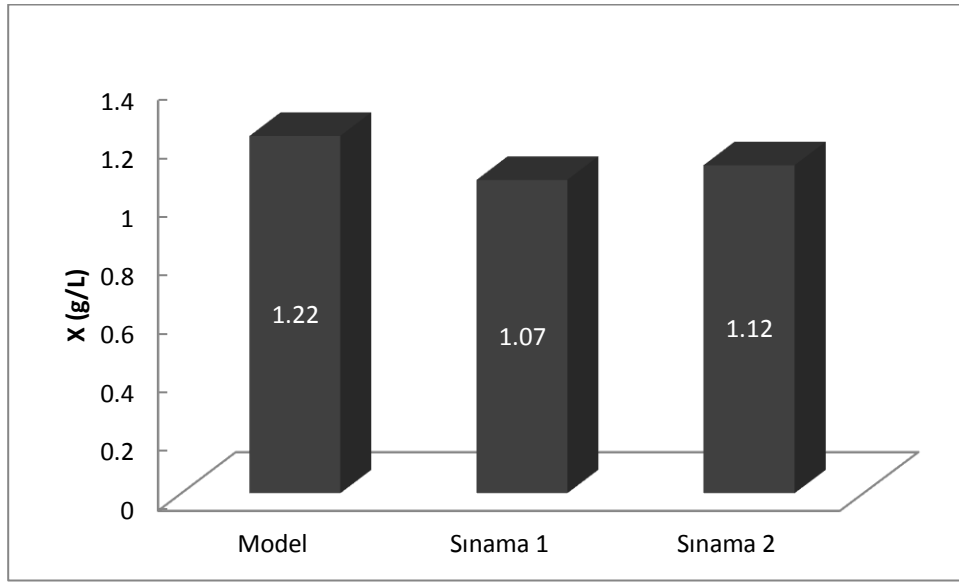


Şekil 92 Başlangıçta ağır metal içermeyen ortamların enzim aktivitesi optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sinama-kontrolleri

Başlangıçta Cu(II) ağır metali içermeyen besin ortamında elde edilen bir diğer model ise Y_2 modelidir. Şekil 93'ten görüldüğü üzere Y_2 modelince elde edilen *R. delemar* mikroorganizmasının konsantrasyonu 1.22 g/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonları ise Sinama 1 ve Sinama 2 şeklinde gösterilmiştir.

Sinama 1 ve Sinama 2 deneylerinde elde edilen mikroorganizma konsantrasyonları sırasıyla 1.07 g/L ve 1.12 g/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 87.7 ve % 91.8'ine denk gelmektedir.

Modelin ortalama olarak % 89.8 ile çalışıyor olması ise bu modelin kabul edilebilir olduğunu göstermektedir çünkü model sadece % 10.2 fark ile çalışmaktadır. Bu durum modelce oluşturulan optimum değerlerin gerçeği yüksek oranda yansıttığını ifade etmektedir.



Şekil 93 Başlangıçta ağır metal içermeyen ortamların mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sinama-kontrolleri

4.11.2. Cu(II) iyonu içeren ortamlar

Cu(II) iyon konsantrasyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesi ile oluşturulan merkezi bileşke tasarımı yöntemine göre elde edilen modelde pH için 5.20 ile 6.70, sıcaklık için 25 °C ile 35 °C ve başlangıçtaki Cu(II) konsantrasyonu içinse 15.00 mg/L ile 50.00 mg/L sınır değerlerinin oluşturduğu besin

ortamlarında *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi, Cu(II) ağır metal biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun optimizasyonu çalışılmıştır.

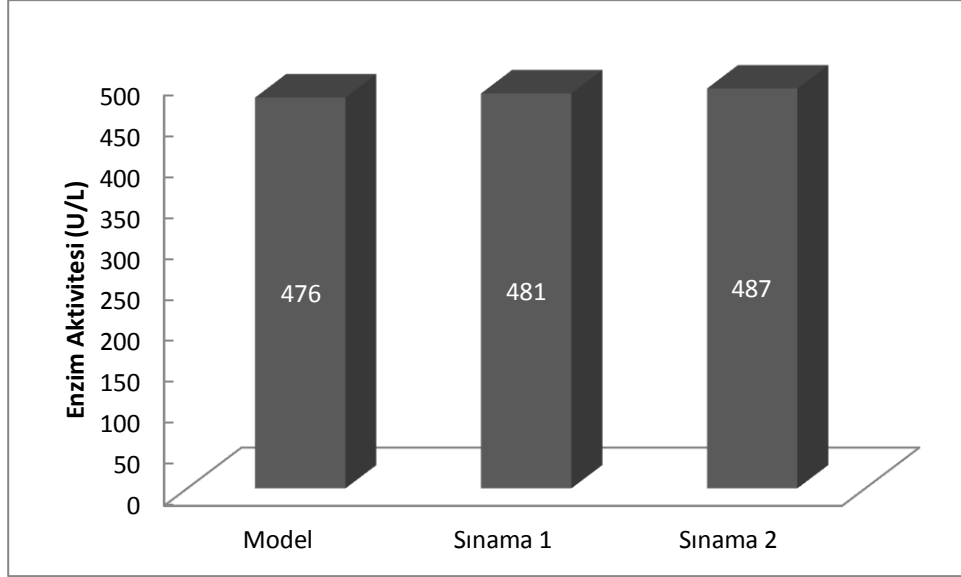
Buna göre oluşturulmuş olan Y_3 , Y_4 ve Y_5 modelleriyle, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.00, fiziksel değişken olan sıcaklığın 32.60 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan başlangıçtaki Cu(II) ağır metal konsantrasyonunun 50.00 mg/L olduğu koşullarda, elde edilen lipaz enzimi aktivitesi cevabı 476 UL/, Cu(II) biyobirikimi 36.81 mg/L ve *R. delemar* konsantrasyonu ise 0.67 g/L olarak bulunmuştur.

Elde edilmiş olan optimum noktaları sınama amacıyla en iki ayrı deneysel çalışma gerçekleştirilmesi hedeflenmiş ve bu deneyler neticesinde Y_3 , Y_4 ve Y_5 modellerinin verdiği cevaplar kontrol edilmiştir.

Şekil 94'ten görüldüğü üzere Y_3 modelince elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 476 U/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri ise Sınama 1 ve Sınama 2 şeklinde gösterilmiştir.

Sınama 1 ve Sınama 2 deneylerinde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri sırasıyla 481 U/L ve 487 U/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 101.1 ve % 102.3'üçünü oluşturmaktadır.

Modelin ortalama olarak % 101.7 yani başka bir gösterimle sadece % 1.7 fark ile çalışıyor olması ise bu modelin kabul edilebilir olduğunu ve modelce oluşturulan optimum değerlerin gerçeği yansıttığını göstermektedir.

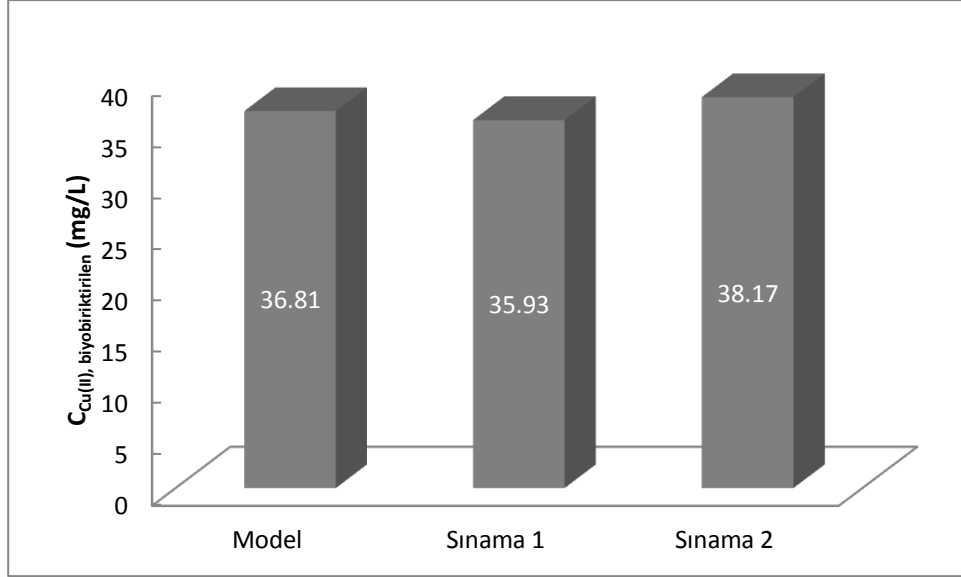


Şekil 94 Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların enzim aktivitesi optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri

Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda oluşturulmuş olan bir diğer model ise Y₄ modelidir. Şekil 95'ten görüldüğü üzere Y₄ modelince elde edilen Cu(II) biyobirikimi 36.81 mg/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri ise Sınama 1 ve Sınama 2 şeklinde gösterilmiştir.

Sınama 1 ve Sınama 2 deneylerinde elde edilen Cu(II) biyobirikimi ise sırasıyla 35.93 mg/L ve 38.17 mg/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 97.6 ve % 103.7'sini oluşturmaktadır.

Modelin ortalama olarak % 100.7 yani başka bir gösterimle sadece % 0.7 fark ile çalışıyor olması ise bu modelin son derece kabul edilebilir olduğunu ve modelce oluşturulan optimum değerlerin tamamıyla gerçeği yansıttığını göstermektedir.

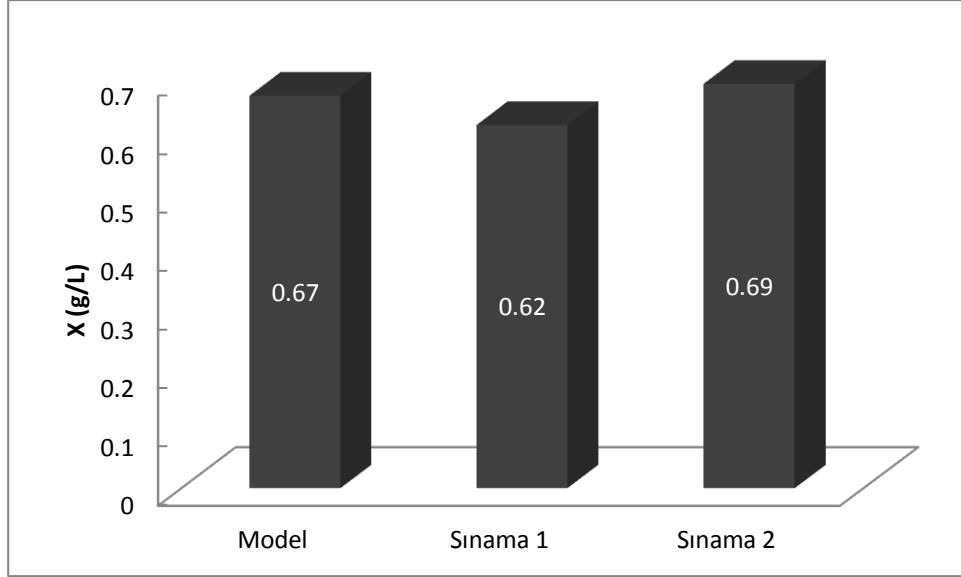


Şekil 95 Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların Cu(II) biyobirikim optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri

Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda oluşturulmuş olan bir diğer model ise Y₅ modelidir. Şekil 96'dan görüldüğü üzere Y₅ modelince elde edilen *Rhizopus delemar* konsantrasyonu 0.67 g/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri ise Sınama 1 ve Sınama 2 şeklinde gösterilmiştir.

Sınama 1 ve Sınama 2 deneylerinde elde edilen *Rhizopus delemar* konsantrasyonları ise sırasıyla 0.62 g/L ve 0.69 g/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 92.5 ve % 103.0'sini oluşturmaktadır.

Modelin ortalama olarak % 97.8 yani başka bir gösterimle sadece % 2.2 fark ile çalışıyor olması ise bu modelin son derece kabul edilebilir olduğunu ve modelce oluşturulan optimum değerlerin gerçeği yansıttığını göstermektedir.



Şekil 96 Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sinama-kontrolleri

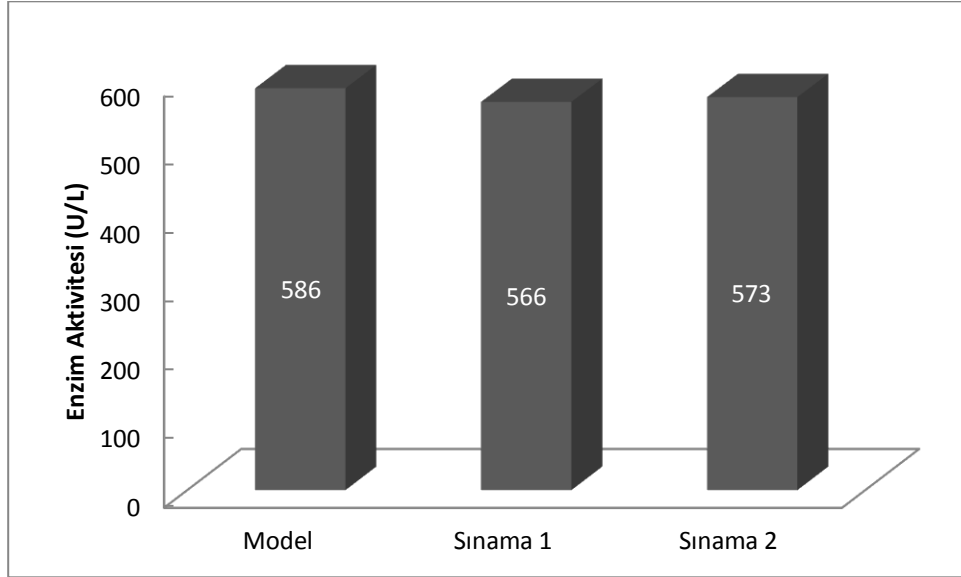
4.11.3. Zn(II) iyonu içeren ortamlar

Zn(II) ağır metal iyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesi ile oluşturulan merkezi bileşke tasarımı yöntemine göre elde edilen modelde pH için 5.61 ile 7.39, sıcaklık için 27 °C ile 35 °C ve başlangıçtaki Zn(II) konsantrasyonu içinse 14.20 mg/L ile 41.00 mg/L sınır değerlerinin oluşturduğu besin ortamlarında *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi, Zn(II) ağır metal biyobirikimi ve mikroorganizma konsantrasyonunun optimizasyonu çalışılmıştır.

Buna göre oluşturulmuş olan Y₆, Y₇ ve Y₈ modelleriyle, fizikokimyasal değişken olan pH'nin 6.81, fiziksel değişken olan sıcaklığın 33.78 °C ve ortam bileşeni değişkeni olan başlangıçtaki Zn(II) ağır metal konsantrasyonunun 41.00 mg/L olduğu koşullarda, elde edilen lipaz enzimi aktivitesi cevabı 586 UL/, Zn(II) biyobirikimi 32.38 mg/L ve *R. delemar* konsantrasyonu ise 0.62 g/L olarak bulunmuştur.

Elde edilmiş olan optimum noktaları sınama amacıyla en iki ayrı deneysel çalışma gerçekleştirilmesi hedeflenmiş ve bu deneyler neticesinde Y_3 , Y_4 ve Y_5 modellerinin verdiği cevaplar kontrol edilmiştir.

Şekil 97'den görüldüğü üzere Y_3 modelince elde edilen lipaz enzimi aktivitesi 586 U/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri ise Sınama 1 ve Sınama 2 şeklinde gösterilmiştir.



Şekil 97 Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların enzim aktivitesi optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri

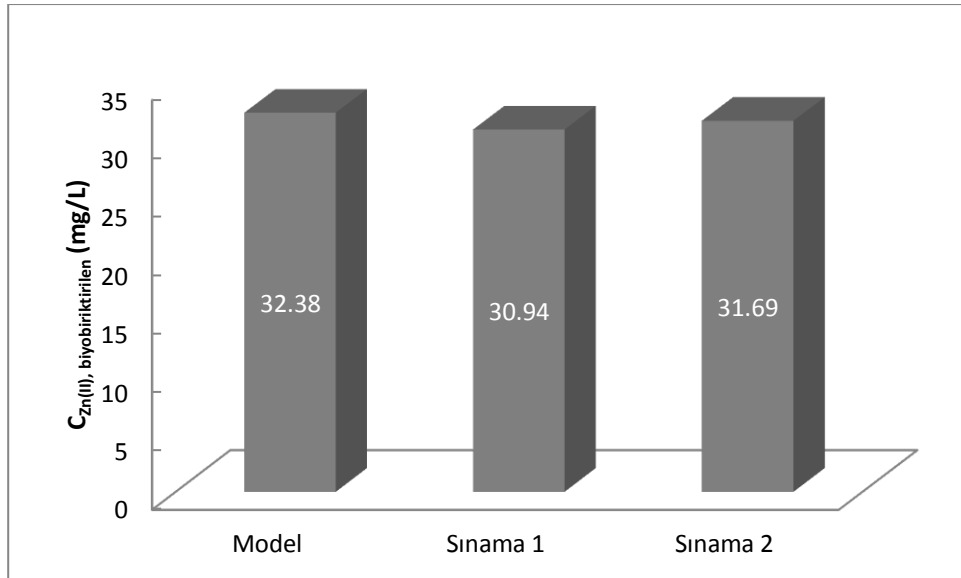
Sınama 1 ve Sınama 2 deneylerinde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri sırasıyla 566 U/L ve 573 U/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 96.6 ve % 97.8'ini oluşturmaktadır.

Modelin ortalama olarak % 97.2 yani başka bir gösterimle sadece % 2.8 fark ile çalışıyor olması ise bu modelin kabul edilebilir olduğunu ve modelce oluşturulan optimum değerlerin gerçeği yansıttığını göstermektedir.

Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda oluşturulmuş olan bir diğer model ise Y₇ modelidir. Şekil 98'den görüldüğü üzere Y₇ modelince elde edilen Zn(II) biyobirikimi 32.38 mg/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri ise Sınama 1 ve Sınama 2 şeklinde gösterilmiştir.

Sınama 1 ve Sınama 2 deneylerinde elde edilen Cu(II) biyobirikimi ise sırasıyla 30.94 mg/L ve 31.69 mg/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 95.6 ve % 97.9'sini oluşturmaktadır.

Modelin ortalama olarak % 96.8 yani başka bir gösterimle sadece % 3.2 fark ile çalışıyor olması ise bu modelin kabul edilebilir olduğunu ve modelce oluşturulan optimum değerlerin gerçeği yansıttığını göstermektedir.



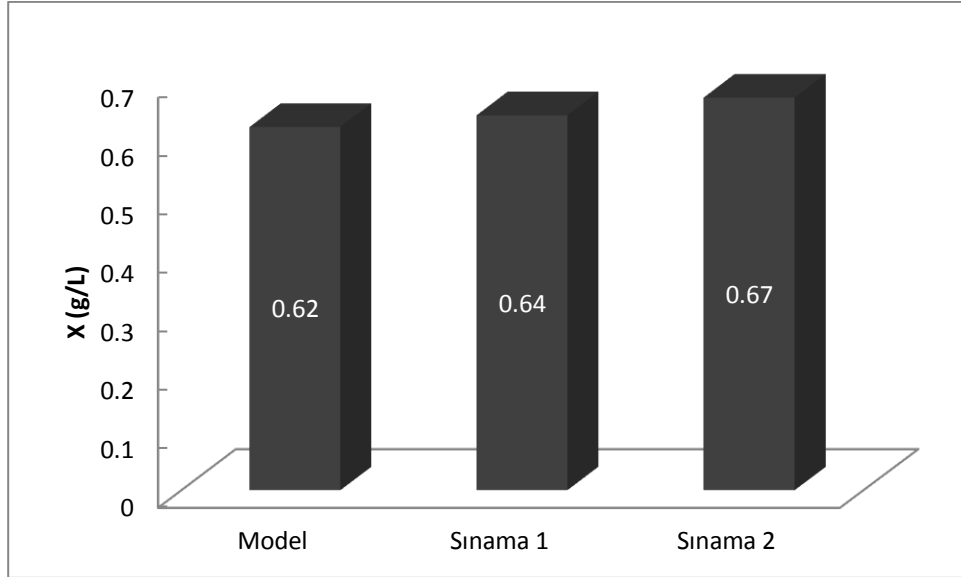
Şekil 98 Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların Zn(II) biyobirikim optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri

Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda oluşturulmuş olan bir diğer model ise Y₈ modelidir. Şekil 99'dan görüldüğü üzere Y₈ modelince elde edilen

Rhizopus delemar konsantrasyonu 0.62 g/L'dir. Buna karşın aynı koşulların test edildiği deneylerde elde edilen lipaz enzimi aktiviteleri ise Sınama 1 ve Sınama 2 şeklinde gösterilmiştir.

Sınama 1 ve Sınama 2 deneylerinde elde edilen *Rhizopus delemar* konsantrasyonları ise sırasıyla 0.64 g/L ve 0.67 g/L'dir. Elde edilen bu değerler, modelce oluşturulmuş cevabın sırasıyla % 103.2 ve % 108.1'ini oluşturmaktadır.

Modelin ortalama olarak % 105.7 yani başka bir gösterimle sadece % 5.7 fark ile çalışıyor olması ise bu modelin son derece kabul edilebilir olduğunu ve modelce oluşturulan optimum değerlerin gerçeği yansıttığını göstermektedir.



Şekil 99 Başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortamların mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu sonucu elde edilen model verileri ile bu optimizasyon noktalarındaki değerlerin deneysel uygulamaları ile gerçekleştirilen sınama-kontrolleri

5. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

“R. Delemar ile Ağır Metal Biyobirikiminin ve Ağır Metal İyonlarının Enzimatik Faaliyetler Üzerine İnteraktif Etkileşimlerinin İncelenmesi” konusunda gerçekleştirilen bu çalışmada iki temel şablon doğrultusunda üzerinde uygulamalar gerçekleştirilmiştir.

Bunlar;

- süreç gözleme ve inceleme deneyleri ve
- optimizasyon çalışmaları'dır.

Süreç gözleme ve inceleme çalışmalarında ilk olarak başlangıçta ağır metal iyon konsantrasyonu içermeyen ortamlardaki analizler gerçekleştirilmiştir.

Başlangıçta ağır metal konsantrasyonu içermeyen besin ortamlarında gerçekleşen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde *Rhizopus delemar* mikroorganizmasının lipaz enzimi aktivitesi incelediğinde en yüksek verime pH 5 ve 35 °C olan ortamda 3 ile 5. günlerin aralığında ulaşılmıştır. Bu aralıkta elde edilen en yüksek değer 656 U/L'dir. pH 5 - 24 C ve pH 8 - 24 ve pH 8 - 35 C'de elde edilen maksimum enzim aktivitesi değerleri ise sırasıyla 589 U/L, 566 U/L ve 495 U/L olarak gerçekleşmiştir.

Aynı koşullardaki süreç gözlem ve inceleme deneylerinde *Rhizopus delemar* küf mantarının konsantrasyonu ölçümlerinde en yüksek mikroorganizma konsantrasyonuna 4 ve 5. günlerde ulaşılmıştır. Sıcaklığın 35 C, pH değerinin ise 5 olduğu koşuldaki mikroorganizma üremesini daha fazla olduğu görülmüştür.

En yüksek mikroorganizma konsantrasyonuna pH 5 ve 35 °C olan ortamda 4. gün sonunda ulaşılmıştır. Bu noktalarda elde edilen mikroorganizma konsantrasyonları 1.16 g/L'dir. pH 5 - 24 C ve pH 8 - 24 ve pH 8 - 35 C'de elde edilen maksimum mikroorganizma konsantrasyonu değerleri ise sırasıyla 1.09 g/L, 0.95 g/L ve 1.05 g/L olarak gerçekleşmiştir.

Ağır metal iyonları içeren ortamlardaki çalışmaların en başında besin ortamlarına eklenerek *R. delemar*'ın ağır metal biyobirikimi ve lipaz enzimi aktivitesi mekanizmalarında incelenmek üzere Cd(II), Cu(II) ve Zn(II) ağır metal iyonları belirlenmiştir.

İlk olarak bu ağır metaller 5 mg/mL ile 200 mg/mL arasında değişen dokuz değişik başlangıç konsantrasyonlarında besin ortamlarına eklenerek süreç gözleme ve inceleme deney sistemlerinde çalışmalar gerçekleştirilmiştir.

Cd(II) başlangıç ağır metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda gerçekleştirilen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde hedeflenen sonuçlara ulaşılamamıştır. Bu koşullarda gerçekleştirilen Cd(II) biyobirikimi çalışmalarında Cd(II) ağır metali biyobirikimi sürekli olarak bir salınım sergilemiş ve mikroorganizmanın bilinen davranışları görülememiştir. Bu duruma Cd(II) ağır metalinin canlı yaşamı üzerindeki son derece yüksek toksisitesi neden olmuştur.

Başlangıçta Cd(II) ağır metal iyonunun olduğu ortamlarda gerçekleştirilen biyobirikim çalışmalarında elde edilen bu durum nedeniyle çalışmada planlanan diğer aşamalar olan lipaz enzimi aktivitesi ve *Rhizopus delemar* konsantrasyonu deneyleri yapılamamıştır.

Başlangıçta Cd(II) ağır metal iyonlarının bulunduğu besin ortamlarındaki çalışmalarda en yüksek biyobirikim değerine pH 5 ve oda sıcaklığında ve başlangıçta 10 mg/mL Cd(II) olan ortamlarda 5. gün sonunda ulaşılmıştır. Bu değer başlangıçtaki Cd(II)'nin yaklaşık % 23'ne karşılık gelen 2.32 mg/L'dir.

Süreç gözleme ve inceleme deneylerinde çalışılan ikinci ağır metal iyonu Cu(II)'dir. Bu metal ile hem lipaz enzimi aktivitesi, hem biyobirikim, hem de mikroorganizma konsantrasyonu deneyleri gerçekleştirilmiştir.

Başlangıçta Cu(II) ağır metalinin olduğu besin ortamlarında gerçekleşen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde mikroorganizmanın lipaz enzimi aktivitesi

incelediğinde en yüksek verime pH 5 ve 35 °C olan ortamlarda ulaşılmıştır. Bu ortamları pH 8 ve 35 °C olan ortamlardaki değerler izlemiştir. Bu durum enzim aktivitesinin sıcaklık artışı ile artarken, ortamın asiditesinin düşmesiyle azaldığını göstermektedir.

pH 5 ve 35 °C'deki ortamlarda en yüksek lipaz enzimi aktivitesi başlangıçtaki Cu(II) ağır metal iyon konsantrasyonunun 30 mg/L olduğu koşullarda 5. günde 466 U/L olarak elde edilmiştir.

Cu(II) ağır metal iyonlarının bulunduğu ortamlarda gerçekleştirilen Cu(II) biyobirikimi çalışmalarında ise en yüksek oranlı biyobirikim değerleri düşük başlangıç metal konsantrasyonun olduğu koşullarda gerçekleşmiştir. Bu değerler, başlangıç metal konsantrasyonunun 5 mg/L olduğu koşullarda % 95'e varan ölçülerde olmuştur.

pH 5 ve 35 °C koşullarında gerçekleştirilen deneylerde elde edilen Cu(II) biyobirikimi değerleri daha yüksek olarak ölçülmüştür. Başlangıçtaki ağır metal iyonun arttığı koşullarda, pH 5 ve 35 °C'deki ölçümlerle, pH 5 ve oda sıcaklığındaki aynı başlangıç metal konsantrasyonundaki ölçümler arasında neredeyse % 110'a varan farklılıklar görülmüştür.

Başlangıçta Cu(II) içeren besin ortamlarındaki süreç gözlem ve inceleme deneylerinde *R. delemar* küf mantarının konsantrasyonu ölçümleri de gerçekleştirilmiştir. Buna göre en yüksek mikroorganizma konsantrasyonuna 4 ve 5. günlerde ulaşılmıştır. Sıcaklığın yüksek, pH değerinin ise 5 olduğu koşullardaki mikroorganizma üremesini daha fazla olduğu görülmüştür. En yüksek mikroorganizma konsantrasyonuna pH 5 ve 35 °C olan ortamda 4. gün sonunda, başlangıç metal derişimi 5 mg/L ve 10 mg/L olan koşullarda ulaşılmıştır. Bu noktalarda elde edilen mikroorganizma konsantrasyonları sırasıyla 1.05 g/L ile 1.04 g/L'dir.

Süreç gözleme ve inceleme deneylerinde incelenen üçüncü ağır metal ise Zn(II)'dir.

Başlangıçta Zn(II) ağır metalinin olduğu besin ortamlarında gerçekleşen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde *R. delemar* mikroorganizmasının lipaz enzimi aktivitesi incelendiğinde en yüksek verime pH 5 ve 35 °C olan ortamlarda 3 ile 5. günlerin aralığında ulaşılmıştır. Bu ortamları pH 5 ve 24 °C olan ortamlardaki değerler izlemiştir. Bu durum Zn(II) içeren ortamlarda enzim aktivitesinin sıcaklık artışı ile artarken, ortamın asiditesinin düşmesiyle azaldığını göstermektedir.

pH 5 ve 35 C'deki ortamlarda en yüksek lipaz enzimi aktivitesi başlangıçtaki Cu(II) ağır metal iyon konsantrasyonunun 30 mg/L olduğu koşullarda 5. günde 537 U/L olarak elde edilmiştir.

Başlangıçta Zn(II) ağır metal iyonlarının bulunduğu ortamlarda gerçekleştirilen Zn(II) biyobirikimi çalışmaları ise en yüksek oranlı biyobirikim değerleri düşük başlangıç metal konsantrasyonunun olduğu koşullarda 3 ile 5. günler arasında gerçekleşmiştir. Bu değerler, başlangıç metal konsantrasyonunun 5 mg/L olduğu koşullarda % 96'ya varan ölçülerde olmuştur.

Başlangıçta Zn(II) içeren besin ortamlarındaki süreç gözlem ve inceleme deneylerinde *R. delemar* küf mantarının konsantrasyonu ölçümlerinde en yüksek mikroorganizma konsantrasyonuna 4 ve 5. günlerde ulaşılmıştır. Sıcaklığın yüksek, pH değerinin ise 5 olduğu koşullardaki mikroorganizma üremesini daha fazla olduğu görülmüştür. En yüksek mikroorganizma konsantrasyonuna pH 5 ve 35 °C olan ortamda 4. gün sonunda, başlangıç metal derişimi 5 mg/L ve 10 mg/L olan koşullarda ulaşılmıştır. Bu noktalarda elde edilen mikroorganizma konsantrasyonları sırasıyla 1.27 g/L ile 1.19 g/L'dir.

Süreç gözleme ve inceleme çalışmaları genel olarak ele alındığında, başlangıçta gerek Cu(II), gerekse de Zn(II) ağır metal konsantrasyonlarının bulunduğu koşullarda gerçekleştirilen deneylerde elde edilen lipaz enzim aktivitesi başlangıç ağır metal derişiminin 5 mg/L olduğu ortamlardan 30 mg/L ile 50 mg/L olduğu ortamlara doğru

arttığı koşullara göre bir yükseliş göstermiş, daha fazla ağır metal konsantrasyonlarına çıkıldıkça hızla azalmıştır.

Bununla birlikte her iki ağır metal iyonu için biyobirikim deneylerinden görüldüğü üzere, başlangıç metal konsantrasyonunun 5 mg/L'den 30 mg/L ile bazı durumlarda 50 mg/L olduğu koşullara kadar biyobirikim değerlerinde bir artış görülmüş, daha yüksek başlangıç konsantrasyonlarında ise mikroorganizmanın biyobirikim yeteneği ağır metallerin ortam içerisindeki yüksek konsantrasyonunun sebep olduğu toksit etkilerden ötürü inhibe olmuştur.

Başlangıçta metal konsantrasyonu içeren ortamlarda gerçekleşen süreç gözleme ve inceleme deneylerinde *R. delemar* mikroorganizmasının üremesinin düşük pH ve yüksek sıcaklıkta daha verimli olduğu sonucu ortaya çıkmıştır. Ayrıca başlangıçtaki ağır metal derişimindeki artış, mikroorganizma konsantrasyonu üzerinde olumsuz bir etkiye sahiptir. Başlangıç derişimi arttıkça mikroorganizma konsantrasyonu değerleri azalmaktadır. Zaten, biyobirikim analizleriyle birlikte ele alındığında görülecektir ki, düşük ağır metal konsantrasyonlarının olduğu ortamlarda, biyobirikim yüzdeleri daha yüksektir.

Çalışmalarda iş planı doğrultusunda gerçekleştirilen ikinci ana uygulama ise optimizasyon deneyleridir.

İstatistiki bir bilgisayar programı olan Design Expert programı kullanılarak yüzey-cevap metodolojilerinden merkezi bileşke tasarımına uygun deney setlerinin oluşturulduğu çalışmaların bu bölümünde, başlangıçta ağır metal konsantrasyonu bulunmayan, başlangıçta Cu(II) ağır metal iyonu konsantrasyonu ve başlangıçta Zn(II) ağır metal iyonu konsantrasyonu bulunan ortamlarda analizler gerçekleştirilmiştir.

Merkezi bileşke tasarımına göre fizikokimyasal değişken olan pH, fiziksel değişken olan sıcaklık ve ortam bileşeni değişkeni olan başlangıçtaki ağır metal derişimi

bağımsız değişkenlerinin fonksiyonları olarak lipaz enzimi aktivitesi, ağır metal biyobirikimi ve *R. delemar* konsantrasyonu fonksiyonları oluşturulmuştur.

Bu fonksiyonların her biri istatistiki açıdan incelenmiştir. Bu incelemelerde elde edilen verilerin F-testi, R^2 değeri, R^2_{Pred} değeri, R^2_{Adj} değeri, yeterli hassasiyet değeri, uyum eksikliği değeri ve P-değeri kriterlerine uygun olup olmadığı kontrol edilmiş ve parametrelerin eksiksiz olarak yerine getirildiği belirlenmiştir. Bu, yüzey-cevap modellemesi ile tasarlanan fonksiyonların istatistiki olarak güvenilir olduğunun göstergesidir.

Bu tasarımlara göre başlangıçta ağır metal konsantrasyonu içermeyen ortamlarda merkez noktalar ve çevresinde 13'er, başlangıçta ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlarda yapılacak analizler için hazırlanan deney setlerinde ise merkez ve çevresindeki noktalarda 20'şer değişik deney gerçekleştirilmiştir.

Başlangıçta ağır metal içermeyen ortam koşullarında yapılan optimizasyon sonucunda *R. delemar*'ın lipaz enzimi aktivitesi pH'nin 6.56 ve ortam sıcaklığının 35.24 °C olduğu koşullarda 613 U/L olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu optimum noktada hesaplanan bir diğer fonksiyon olan mikroorganizma konsantrasyonu ise 1.22 g/L şeklinde olmuştur.

Başlangıçta Cu(II) ağır metal iyon konsantrasyonu içeren ortamlarda gerçekleştirilen analizler sonucu optimum nokta olarak pH'nin 6.00, sıcaklığın 32.60 °C ve Cu(II) başlangıç konsantrasyonunun 50.00 mg/L olduğu ortam koşullarında lipaz enzimi aktivitesi 476 U/L, biyobiriktirilen Cu(II) ağır metal konsantrasyonu 36.81 mg/L ve *R. delemar* konsantrasyonu ise 0.67 g/L olarak hesaplanmıştır.

Diğer bir yüzey-cevap modellemesi de başlangıçta Zn(II) ağır metal iyonları içeren ortamlarda gerçekleştirilmiştir. Bu koşullarda uygulanan optimizasyon tasarımı sonucu optimum şartlar için pH'nin 6.81, sıcaklığın 33.78 °C ve Zn(II) başlangıç metal derişiminin ise 41 mg/L olduğu nokta belirlenmiştir. Bu noktada elde edilen lipaz enzimi aktivitesi, biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu ve mikroorganizma

konsantrasyonu fonksiyonlarının değerleri ise sırasıyla 586 U/L, 32.38 mg/L ve 0.62 g/L olarak gerçekleşmiştir.

Tüm çalışmaların en sonunda ise yüzey-cevap modellemesi ile elde edilen optimum noktaların sına ma çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Başlangıçta ağır metal konsantrasyonu içermeyen ortamlarda, yüzey-cevap modellemesi ile belirlenen optimum koşullarda gerçekleştirilen lipaz enzimi aktivitesi ile mikroorganizmanın konsantrasyonu ölçümlerinde sırasıyla % 2.3 ve % 10.2 farkla modelin son derece iyi çalıştığı grlmştir.

Başlangıçta Cu(II) ağır metal konsantrasyonu içeren ortam koşulları için oluşturulan yüzey-cevap modellemesindeki lipaz enzimi aktivitesi fonksiyonu % 1.7 farkla çalışırken, biyobiriktirilen Cu(II) konsantrasyonu modeli neredeyse birebir çalışmakta ve ölçülen fark sadece % 0.7'dir. Bu koşullarda yapılan son sına ma alışması *R. delemar*'ın konsantrasyonu fonksiyonu içindir. Bu modelin sına masında elde edilen fark ise sadece % 2.2 olarak gerçekleşmiştir.

Sına ma çalışmalarında son olarak başlangıçta Zn(II) ağır metal konsantrasyonuna sahip ortamlardaki yüzey-cevap modellemeleriyle oluşturulan mikroorganizmanın lipaz enzimi aktivitesi ve Zn(II) biyobirikimi ile *R. delemar*'ın konsantrasyon fonksiyonları test edilmiştir. Buna göre lipaz enzimi aktivitesi fonksiyonu sadece % 2.8 fark ile çalışırken, biyobiriktirilen Zn(II) konsantrasyonu fonksiyonu %3.2 ve *R. delemar* konsantrasyonu fonksiyonu ise % 5.7 fark ile çalışmaktadır.

Görüldüğü üzere, yüzey-cevap modellemesindeki merkezi bileşke tasarımı uygulaması, *Rhizopus delemar*'ın Cu(II) ve Zn(II) ağır metallerini biyobiriktirme ve lipaz enzimi üretme ve mikroorganizmanın üreme koşullarını çok yüksek seviyede bir kesinlikte optimize edebilmiştir.

Bu çalışmada elde edilen veriler doğrultusunda gerçekleştirilecek diğer uygulamalarla daha farklı ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlardaki *Rhizopus delemar*

mikroorganizmasının lipaz enzimi aktivitesi ve ağır metal biyobiriktirme özellikleri incelenmeli ve içinde bu mikroorganizmanın kullanılabileceği atıksu arıtımı sistemleri üzerinde çalışmalar yürütülmesi, mevcut sistemlerdeki şiddetli sorun oluşturan iki temel parametrenin giderilmesi konusunda çözüm olabilecektir.

6. KAYNAKLAR

- Abe, A., Y. Oda, et al. (2007). "Rhizopus delemar is the proper name for Rhizopus oryzae fumaric-malic acid producers." Mycologia **99**(5): 714.
- Acikel, U. (2003). Melas katılan ve ağır metal kirliliği içeren atıksularda çeşitli türdeki maya hücrelerinin büyüme kinetiğinin ve hücrelerdeki metal biyobirikiminin incelenmesi. Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı. Ankara, Hacettepe Üniversitesi. **Doktora**: 202.
- Acikel, Y. S., U. Acikel, et al. (2011). "The effects of the composition of growth medium and fermentation conditions on the production of lipase by R. delemar." Turk. J. Biol **35**: 35-44.
- Adler-Nissen, J. (1986). Enzymic hydrolysis of food proteins, Elsevier Applied Science Publishers.
- Ahalya, N., T. Ramachandra, et al. (2003). "Biosorption of heavy metals." Res. J. Chem. Environ **7**(4): 71-79.
- Aiba, S., A. Humphrey, et al. (1973). "Biochemical Engineering, Academic Press, New York." Fermentation Processes **299**.
- Akar, T. and S. Tunali (2006). "Biosorption characteristics of Aspergillus flavus biomass for removal of Pb (II) and Cu (II) ions from an aqueous solution." Bioresource Technology **97**(15): 1780-1787.
- Aksu, Z. and G. Dönmez (2000). "Combined effects of sucrose and copper (II) ions on the growth and copper (II) bioaccumulation properties of Candida sp." Journal of Chemical Technology & Biotechnology **75**(9): 847-853.
- Aksu, Z. and T. Kutsal (1990). "A comparative study for biosorption characteristics of heavy metal ions with C. vulgaris." Environmental technology **11**(10): 979-987.
- Alp, T. (2007). Ağır Metal Kirliliği İçeren Atıksularda Çeşitli Türdeki Maya ve Kuf Mantarı Hücrelerinin Büyüme Kinetiğinin ve Hücrelerdeki Metal Biyobirikimi ile Biyosorpsiyonunun Karsılaştırılması İncelenmesi. Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı. Sivas, Cumhuriyet Üniversitesi. **Yüksek Lisans**.
- Alptekin, E. (2008). Atık Ağartma Toprağı Yagının Enzimatik Hidrolizi. Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, İstanbul Teknik Üniversitesi. **Yüksek Lisans**.

- Anfinsen, C. (1973). "Principles that govern the folding of polypeptide chains." Science **181**: 223-230.
- Apiratikul, R. and P. Pavasant (2008). "Batch and column studies of biosorption of heavy metals by *Caulerpa lentillifera*." Bioresource Technology **99**(8): 2766-2777.
- Asano, Y. (2002). "Overview of screening for new microbial catalysts and their uses in organic synthesis--selection and optimization of biocatalysts." Journal of biotechnology **94**(1): 65-72.
- Atkinson, B. and M. A. V. Tuna (1991). Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook, Macmillan Publishers Ltd, USA, 1271s.
- Avcibasi, G. Y. (1991). Domuz Cigeri ve Bezelye Tohumundan Diamin Enziminin Izolasyonu ve Saflastirilmesi ve Ozelliklerinin Incelenmesi. Kimya Muhendisligi Bolumu. Istanbul, Istanbul Teknik Universitesi. **Doktora**.
- Bahadir, T. (2005). Endustriyel Atiksulardan Biyosorpsiyonla Kursun Gideriminin Incelenmesi. Cevre Muhendisligi Anabilim Dalı. Samsun, On Dokuz Mayıs Universitesi. **Yukse Lisans**.
- Bailey, J. E. and D. F. Ollis (1986). Biochemical engineering fundamentals, McGraw-Hill Science, Engineering & Mathematics.
- Basnakova, G. and L. E. Macaskie (1997). "Microbially enhanced chemisorption of nickel into biologically synthesized hydrogen uranyl phosphate: A novel system for the removal and recovery of metals from aqueous solutions." Biotechnology and Bioengineering **54**(4): 319-328.
- Becker, E. (1983). "Limitations of heavy metal removal from waste water by means of algae." Water Research **17**(4): 459-466.
- Bellot, J. and J. Condoret (1993). "Selection of competitive adsorption model for modelling displacement chromatography." Journal of Chromatography A **657**(2): 305-326.
- Beveridge, T. and R. Murray (1976). "Uptake and retention of metals by cell walls of *Bacillus subtilis*." Journal of Bacteriology **127**(3): 1502.
- Beveridge, T. J. (1989). "Role of cellular design in bacterial metal accumulation and mineralization." Annual Reviews in Microbiology **43**(1): 147-171.

- Björkling, F., S. E. Godtfredsen, et al. (1991). "The future impact of industrial lipases." TRENDS in Biotechnology **9**(1): 360-363.
- Bonnet, C., S. Andreescu, et al. (2003). "Adsorption: an easy and efficient immobilisation of acetylcholinesterase on screen-printed electrodes." Analytica chimica acta **481**(2): 209-211.
- Boota, R., H. N. Bhatti, et al. (2009). "Removal of Cu (II) and Zn (II) Using Lignocellulosic Fiber Derived from Citrus reticulata (Kinnow) Waste Biomass." Separation science and technology **44**(16): 4000-4022.
- Buyukgungor, H. (2003). Atiksu Aritma Yontemleri. Samsun.
- Caliceti, M., E. Argese, et al. (2002). "Heavy metal contamination in the seaweeds of the Venice lagoon." Chemosphere **47**(4): 443-454.
- Calik, A. (1998). Atiksulardaki Demir (III) - Siyanur Kompleks Iyonlarının R. arrhizus ve C. vulgaris ile biyosorpsiyonunun aktif karbon adsorpsiyonuyla karsilastirilmali olarak incelenmesi. Kimya Muhendisligi Bolumu. Ankara, Hacettepe Universitesi. **Yuksek Lisans**.
- Cavalier-Smith, T. (2004). "Only six kingdoms of life." Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences **271**(1545): 1251.
- Cercioglu, N. (1995). Enzim Izolasyonu ve Katalitik Etkisinin Incelenmesi. Kimya Muhendisligi Bolumu. Istanbul, Istanbul Teknik Universitesi. **Yuksek Lisans**.
- Cherry, H., M. T. Hossain, et al. (2004). "Extracellular glucoamylase from the isolate Aspergillus fumigatus." Pak. J. Biol. Sci **7**(11): 1988-1992.
- Christian, J. (1963). "Water activity and the growth of microorganisms." Recent Advances in Food Science **3**: 248-255.
- Cooperman, B. S., N. Y. Chiu, et al. (1973). "Yeast inorganic pyrophosphatase. I. New methods of purification, assay, and crystallization." Biochemistry **12**(9): 1665-1669.
- Coruslu, E. and B. Pekin (1983). "Starch Hydrolysates with Very Low Degrees of Polydispersity." Starch Stärke **35**(3): 98-100.
- Crist, R. H., K. Oberholser, et al. (1988). "Interactions of metals and protons with algae." Environmental science & technology **22**(7): 755-760.

- Cubukcu, H. E. (1998). Krom(VI), Bakir(II), Demir(II) iyonlarının tek ve çok bileşenli metal sistemlerinde *R. arrhizus*'la biyosorpsiyonunun sürekli karıştırılmaları kaplarda incelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. Ankara, Hacettepe Üniversitesi. **Yüksek Lisans**: 95.
- Das, P., S. Samantaray, et al. (1997). "Studies on cadmium toxicity in plants: a review." Environmental Pollution **98**(1): 29-36.
- DeLong, E. F. and N. R. Pace (2001). "Environmental diversity of bacteria and archaea." Systematic Biology **50**(4): 470.
- Dunn, G. M. and A. T. Bull (1983). "Bioaccumulation of copper by a defined community of activated sludge bacteria." Applied microbiology and biotechnology **17**(1): 30-34.
- Dursun, A., G. Uslu, et al. (2003). "Bioaccumulation of copper (II), lead (II) and chromium (VI) by growing *Aspergillus niger*." Process Biochemistry **38**(12): 1647-1651.
- Erdogan, F. (2002). Aycicek Asidik Yağının Enzimatik Hidroliz Reaksiyonunun İncelenmesi. Fen Bilimleri Enstitüsü. İstanbul, İstanbul Teknik Üniversitesi. **Yüksek Lisans**.
- Fersht, A. (1998). Structure and mechanism in protein science: A guide to enzyme catalysis and protein folding, WH Freeman.
- Fogarty, W. M. and C. T. Kelly (1983). Microbial enzymes and biotechnology, Applied Science Publishers London.
- Gacesa, P., J. Hubble, et al. (1992). Enzymtechnologie: Mit 19 Tabellen, Springer.
- Gadd, G. M. (1990). "Heavy metal accumulation by bacteria and other microorganisms." Cellular and Molecular Life Sciences **46**(8): 834-840.
- Gadd, G. M. (2001). Metal transformations.
- Gandhi, N. N. (1997). "Applications of lipase." Journal of the American Oil Chemists' Society **74**(6): 621-634.
- Garnham, G. W., G. A. Codd, et al. (1992). "Kinetics of uptake and intracellular location of cobalt, manganese and zinc in the estuarine green alga *Chlorella salina*." Applied microbiology and biotechnology **37**(2): 270-276.

- Goodyear, K. and S. McNeill (1999). "Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: a review." Science of the total environment **229**(1): 1-19.
- Green, D. W. (2008). Perry's chemical engineers' handbook, McGraw-Hill New York.
- Haritonidis, S. and P. Malea (1999). "Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from Thermaikos Gulf, Greece." Environmental Pollution **104**(3): 365-372.
- Harris, P. O. and G. J. Ramelow (1990). "Binding of metal ions by particulate biomass derived from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda*." Environmental science & technology **24**(2): 220-228.
- Hasan, F., A. A. Shah, et al. (2006). "Industrial applications of microbial lipases." Enzyme and microbial technology **39**(2): 235-251.
- Hasan, S., M. Talat, et al. (2007). "Sorption of cadmium and zinc from aqueous solutions by water hyacinth (*Eichhornia crassipes*)." Bioresource Technology **98**(4): 918-928.
- Hassler, J. W. (1974). Purification with activated carbon: industrial, commercial, environmental, Chemical Pub. Co.
- Hayward, D. O. and B. M. W. Trapnell (1964). Chemisorption, Butterworths.
- Hildebrandt, U., M. Regvar, et al. (2007). "Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance." Phytochemistry **68**(1): 139-146.
- Hiroya, K., Y. T. Saito, et al. (1968). "Ecology and Biological production of Lake Nakaumi and Adjacent Regions." Spec. Publ. Mar. Biol. Lab. Series II: 45-73.
- Johnson, R. W. and E. Fritz (1989). Fatty acids in industry: processes, properties, derivatives, applications, Marcel Dekker Inc.
- Kaewsarn, P. (2002). "Biosorption of copper (II) from aqueous solutions by pre-treated biomass of marine algae *Padina* sp." Chemosphere **47**(10): 1081-1085.
- Kapoor, A. and T. Viraraghavan (1997). "Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*." Bioresource Technology **61**(3): 221-227.

- Karthikeyan, S., R. Balasubramanian, et al. (2007). "Evaluation of the marine algae *Ulva fasciata* and *Sargassum* sp. for the biosorption of Cu (II) from aqueous solutions." Bioresource Technology **98**(2): 452-455.
- Ke, C. and W. X. Wang (2001). "Bioaccumulation of Cd, Se, and Zn in an estuarine oyster (*Crassostrea rivularis*) and a coastal oyster (*Saccostrea glomerata*)." Aquatic toxicology **56**(1): 33-51.
- Khummongkol, D., G. Canterford, et al. (1982). "Accumulation of heavy metals in unicellular algae." Biotechnology and Bioengineering **24**(12): 2643-2660.
- Kirk, P., P. Cannon, et al. (2001). "Dictionary of the Fungi. 9 th." Ed. Wallingford UK. CAB International.
- Kleinow, K. M., M. J. Melancon, et al. (1987). "Biotransformation and induction: implications for toxicity, bioaccumulation and monitoring of environmental xenobiotics in fish." Environmental Health Perspectives **71**: 105.
- Koblitz, M. G. B. and G. M. Pastore (2006). "Purification and biochemical characterization of an extracellular lipase produced by a new strain of *Rhizopus* sp." Ciência e Agrotecnologia **30**(3): 494-502.
- Kujan, P., J. Votruba, et al. (1995). "Substrate dependent bioaccumulation of cadmium by growing yeast *Candida utilis*." Folia microbiologica **40**(3): 288-292.
- Kuyucak, N. and B. Volesky (1988). "Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions." Biotechnology letters **10**(2): 137-142.
- Lewin, R. A. (1968). Biochemistry and physiology of algae: taxonomic and phylogenetic considerations.
- Macaskie, L., A. Dean, et al. (1989). "Biological Waste Treatment." Alan A and Liss R New York: 159-201.
- Mattuschka, B. and G. Straube (1993). "Biosorption of metals by a waste biomass." Journal of Chemical Technology & Biotechnology **58**(1): 57-63.
- Mejáre, M. and L. Bulow (2001). "Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals." TRENDS in Biotechnology **19**(2): 67-73.

- Metcalf and Eddy (1991). Wastewater Engineering: Treatment, Disposal, and Reuse, McGraw-Hill.
- Nahas, E. (1988). "Control of lipase production by *Rhizopus oligosporus* under various growth conditions." Microbiology **134**(1): 227.
- Nakajima, A. and T. Sakaguchi (1986). "Selective accumulation of heavy metals by microorganisms." Applied microbiology and biotechnology **24**(1): 59-64.
- Oguz, M. (1986). "Fizikokimyasal Aritim." TMMOB Kimya Mühendisliği Odası Ankara.
- Omar, I. C., U. S. Malaysia, et al. (1997). "Biotechnology Of Lypolytic Enzymes For The Oleochemical Industries: A Research Perspective." Journal of Bioscience.
- Orhan, A. (2002). *Rhizopus arrhizus'tan Kati Hal Fermentasyonu ile Lipaz Üretimi. Kimya Muhendisligi Bolumu*. Elazig, Firat Universitesi. **Yuksek Lisans**.
- Pattison, E. S. (1968). Fatty acids and their industrial applications, Hodder Arnold.
- Piri, E. (2003). *Aycicek asidik yaginin enzimatik esterlesmesi*. Fen Bilimleri Enstitusu. Istanbul, Istanbul Teknik Universitesi. **Yuksek Lisans**.
- Polikarpov, G. G. (1966). Radioecology of aquatic organisms: the accumulation and biological effect of radioactive substances, Reinhold Book Division.
- Preetha, B. and T. Viruthagiri (2007). "Bioaccumulation of chromium (VI), copper (II) and nickel (II) ions by growing *Rhizopus arrhizus*." Biochemical engineering journal **34**(2): 131-135.
- Rich, G. and K. Cherry (1987). Hazardous waste treatment technologies, Pudvan Publishers, New York.
- Roger, A. J. and A. G. B. Simpson (2009). "Evolution: revisiting the root of the eukaryote tree." Current Biology **19**(4): R165-R167.
- Rose, A. H. (1980). Microbial enzymes and bioconversions, Academic Press Ltd.
- Sag , Y. (2006). *Lipase production by R. delemar*. Ankara, TUBITAK.
- Sag, Y. and Y. Aktay (2001). "Application of equilibrium and mass transfer models to dynamic removal of Cr (VI) ions by Chitin in packed column reactor." Process Biochemistry **36**(12): 1187-1197.

- Sag, Y. and T. Kutsal (1995). "Biosorption of heavy metals by Zoogloea ramigera: use of adsorption isotherms and a comparison of biosorption characteristics." The Chemical Engineering Journal and The Biochemical Engineering Journal **60**(1-3): 181-188.
- Sag, Y. and T. Kutsal (1996). "The selective biosorption of chromium (VI) and copper (II) ions from binary metal mixtures by R. arrhizus." Process Biochemistry **31**(6): 561-572.
- Sag , Y. and T. Kutsal (1998). "An Overview of the Studies about Heavy Metal Adsorption Process by Microorganisms on the Lab. Scale in Turkey." Mineral Processing and Extractive Metallurgy Review **19**(1): 331-340.
- Sag, Y., D. Özer, et al. (1995). "A comparative study of the biosorption of lead (II) ions to Z. ramigera and R. arrhizus." Process Biochemistry **30**(2): 169-174.
- Sahin, H. (2004). Rhamnolipid biyosurfaktantlarla topraktaki ve sulu ortamdaki agir metal iyon kirliliginin giderilmesi. Kimya Muhendisligi Anabilim Dalı. Ankara, Hacettepe Universitesi. **Yuksek Lisans**: 134.
- Saltabas, O. (1998). Agir metallerin cansiz biyokutle ile uzaklastirilmasina etki eden faktorler. Fen Bilimleri Enstitusu. Istanbul, Yildiz Teknik Universitesi. **Doktora**: 137.
- Satterfield, C. N. (1980). Heterogeneous catalysis in practice, McGraw-Hill.
- Saxena, R., P. Ghosh, et al. (1999). "Microbial lipases: potential biocatalysts for the future industry." Current Science **77**(1): 101-115.
- Schulz, H., T. Brinkhoff, et al. (1999). "Dense populations of a giant sulfur bacterium in Namibian shelf sediments." Science **284**(5413): 493.
- Shimada, Y. (2001). "Application ff Lipase Reactions to Separation and Purification of Useful Materials." Inform **12**: 1168-1174.
- Shuler, M. L. and F. Kargi (2002). Bioprocess engineering, Prentice Hall New York.
- Shumate, S. and S. G. II (1985). "Accumulation of metals by microbial cells." Comprehensive biotechnology **4**: 235-253.

- Shumate, S., G. Strandberg, et al. (1980). Separation of heavy metals from aqueous solutions using biosorbents: development of contacting devices for uranium removal, Oak Ridge National Lab., TN.
- Singh, S., S. Verma, et al. (1989). "Copper uptake by free and immobilized cyanobacterium." FEMS microbiology letters **60**(2): 193-196.
- Sirianuntapiboon, S. and T. Hongsrisuwan (2007). "Removal of Zn²⁺ and Cu²⁺ by a sequencing batch reactor (SBR) system." Bioresource Technology **98**(4): 808-818.
- Suzuki, M. (1990). Adsorption engineering, Elsevier Science Ltd.
- Ting, Y., F. Lawson, et al. (1989). "Uptake of cadmium and zinc by the alga *Chlorella vulgaris*: Part 1. Individual ion species." Biotechnology and Bioengineering **34**(7): 990-999.
- Tobin, J., C. White, et al. (1994). "Metal accumulation by fungi: applications in environmental biotechnology." Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology **13**(2): 126-130.
- Treybal, R. E. (1981). "Mass transfer operations." New York **2**.
- Tsekova, K. and D. Galabova (2003). "Phosphatase production and activity in copper (II) accumulating *Rhizopus delemar*." Enzyme and microbial technology **33**(7): 926-931.
- Tsekova, K. and G. Petrov (2002). "Removal of heavy metals from aqueous solution using *Rhizopus delemar* mycelia in free and polyurethane-bound form." Zeitschrift fur Naturforschung C-Journal of Biosciences **57**(7-8): 629-633.
- Tsezos, M. and B. Volesky (1981). "Biosorption of uranium and thorium." Biotechnology and Bioengineering **23**(3): 583-604.
- Unalan, S. (2006). Agir metal stresi altındaki misir bitkisinde antioksidant enzim savunma sisteminin davranışı ve misirin agir metal kirliliginin giderilmesinde kullanılabilirliğinin araştırılması. Kimya Muhendisligi Anabilim Dalı. Ankara, Hacettepe Universitesi. **Yuksek Lisans**: 107.
- Veglio, F. and F. Beolchini (1997). "Removal of metals by biosorption: a review." Hydrometallurgy **44**(3): 301-316.

- Volesky, B. and Z. Holan (1995). "Biosorption of heavy metals." Biotechnology Progress **11**(3): 235-250.
- Vorderwulbecke, T., K. Kieslich, et al. (1992). "Comparison of lipases by different assays." Enzyme and microbial technology **14**(8): 631-639.
- Walker, G. M. (1998). Yeast physiology and biotechnology, Wiley.
- Wang, J., Y. Han, et al. (2000). "Progress in metal biosorption by microorganisms." Microbiology **27**(6): 449-452.
- Weber, J. (1972). "Pringle and M. Osborn." Methods Enzymol **26**: 3–27.
- Wehrheim, B. and M. Wetterm (1994). "Biosorption of cadmium, copper and lead by isolated mother cell walls and whole cells of *Chlorella fusca*." Applied microbiology and biotechnology **41**(6): 725-728.
- Whittaker, R. H. (1969). "New concepts of kingdoms of organisms." Science (Washington).
- Wilde, E. W. and J. R. Benemann (1993). "Bioremoval of heavy metals by the use of microalgae." Biotechnology Advances **11**(4): 781-812.
- Wilson, K. and J. Walker (2010). Principles and techniques of biochemistry and molecular biology, Cambridge Univ Pr.
- Yamane, T. (1987). "Enzyme technology for the lipids industry: an engineering overview." Journal of the American Oil Chemists' Society **64**(12): 1657-1662.
- Zhou, J. L. and R. J. Kiff (1991). "The uptake of copper from aqueous solution by immobilized fungal biomass." Journal of Chemical Technology & Biotechnology **52**(3): 317-330.

7. EKLER

7.1. Besin Ortamlarının Hazırlanmasında Kullanılan Kimyasalların Marka ve Menşeleri

Çizelge 89 Besin ortamlarının hazırlanmasında kullanılan kimyasalların marka ve menşeleri

Kimyasal	Molekül Formülü	Marka	Menşei
Sakkaroz	$C_{12}H_{22}O_{11}$	Merck	Almanya
Magnezyum Sülfat - Heptahidrat	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	Merck	Almanya
Potasyum Dihidrojen Fosfat	KH_2PO_4	Merck	Almanya
Dipotasyum Hidrojen Fosfat	K_2HPO_4	Merck	Almanya
Tween 80	$C_{64}H_{124}O_{26}$	Merck	Almanya
Maya Özütü	-	Merck	Almanya
Ayçiçek Yağı	-	Komili	Türkiye

7.2. Ağır Metal İyonu İçeren Ortamlardaki Ağır Metal İyonlarının Elde Edildiği Kimyasalların Marka ve Menşeleri

Çizelge 90 Başlangıçta ağır metal konsantrasyonu içeren ortamlardaki ağır metal iyonlarının elde edildiği kimyasalların marka ve menşeleri

Kimyasal	Molekül Formülü	Marka	Menşei
Kadmiyum Sülfat	$3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$	Merck	Almanya
Bakır(II) Sülfat 5 Hidrat	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	Merck	Almanya
Çinko Nitrat 6 Hidrat	$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	Merck	Almanya

7.3. Lipaz enzimi aktivitesi tayininde kullanılan kimyasallar

Çizelge 91 Lipaz enzimi aktivitesi tayininde kullanılan kimyasallar

Kimyasal	Molekül Formülü	Marka	Menşei
4-Nitrofenil Palmitat	$\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}$	Merck	Almanya
Propan-2-ol	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$	Merck	Almanya
Triton X	$\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n$	Merck	Almanya
Arap Zamkı	-	Merck	Almanya
Tris	$(\text{HOCH}_2)_3\text{CNH}_2$	Merck	Almanya

7.4. Ağır Metal İyonu İçermeyen Ortamların Yüzey-Cevap Modellemesine Göre Optimizasyon Sonuçları

7.4.1. Lipaz enzimi aktivitesi

Çizelge 92 Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesine göre lipaz enzimi aktivitesi optimizasyonu sonuçları

Response		1 Enzim Aktivitesi					
ANOVA for Response Surface Quadratic Model							
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]							
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F		
Model	125889.2	5	25177.84	143.1061	< 0.0001	significant	
A-pH	1184.041	1	1184.041	6.729868	0.0357		
B-Sicaklik	26361.82	1	26361.82	149.8356	< 0.0001		
AB	2550.25	1	2550.25	14.49514	0.0067		
A^2	92060.01	1	92060.01	523.2517	< 0.0001		
B^2	441.0533	1	441.0533	2.506864	0.1574		
Residual	1231.568	7	175.9383				
Lack of Fit	426.7679	3	142.256	0.707038	0.5961	not significant	
Pure Error	804.8	4	201.2				
Cor Total	127120.8	12					

The Model F-value of 143.11 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, AB, A++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.71 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 59.61% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	13.26417	R-Squared	0.990312
Mean	482.3077	Adj R-Squared	0.983392
C.V. %	2.750147	Pred R-Squared	0.966235

PRESS 4292.294 Adeq Precision 38.21748

The "Pred R-Squared" of 0.9662 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9834.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 38.217 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient		df	Standard Error	95% CI		VIF
	Estimate				Low	High	
Intercept	548.2		1	5.931918	534.1732	562.2268	
A-pH	-12.1657		1	4.689593	-23.2549	-1.07661	1
B-Sicaklik	57.40407		1	4.689593	46.31494	68.49319	1
AB	25.25		1	6.632086	9.567608	40.93239	1
A^2	-115.038		1	5.029028	-126.929	-103.146	1.017308
B^2	7.9625		1	5.029028	-3.92926	19.85426	1.017308

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Enzim Aktivitesi} &= \\
 &548.2 \\
 &-12.1657 * A \\
 &57.40407 * B \\
 &25.25 * A * B \\
 &-115.038 * A^2 \\
 &7.9625 * B^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Enzim Aktivitesi} &= \\
 &-2561.23 \\
 &1143.908 * \text{pH} \\
 &* \\
 &-50.3683 \text{ Sicaklik} \\
 &5.611111 * \text{pH} * \text{Sicaklik} \\
 &-102.256 * \text{pH}^2 \\
 &0.442361 * \text{Sicaklik}^2
 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node. In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

7.4.2. R. delemar konsantrasyonu

Ağır metal iyonu içermeyen ortamlarda gerçekleştirilen yüzey-cevap modellemesine göre mikroorganizma konsantrasyonu optimizasyonu sonuçları

Response		2 Mikroorganizma Konsantrasyonu					
ANOVA for Response Surface Quadratic Model							
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]							
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F		
Model	0.033872	5	0.006774	19.46628	0.0006	significant	
A-pH	0.009209	1	0.009209	26.4615	0.0013		
B-Sicaklik	0.017698	1	0.017698	50.85518	0.0002		
AB	2.5E-05	1	2.5E-05	0.071838	0.7964		
A^2	0.006418	1	0.006418	18.4434	0.0036		
B^2	0.000149	1	0.000149	0.427594	0.5341		
Residual	0.002436	7	0.000348				
Lack of Fit	0.001356	3	0.000452	1.674104	0.3085	not significant	
Pure Error	0.00108	4	0.00027				
Cor Total	0.036308	12					

The Model F-value of 19.47 implies the model is significant. There is only a 0.06% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, A++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 1.67 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 30.85% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.018655	R-Squared	0.932906
Mean	1.156154	Adj R-Squared	0.884982
C.V. %	1.613527	Pred R-Squared	0.687936
PRESS	0.01133	Adeq Precision	14.55776

The "Pred R-Squared" of 0.6879 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.8850.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 14.558 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	1.172	1	0.008343	1.152273	1.191727	
A-pH	-0.03393	1	0.006595	-0.04952	-0.01833	1
B-Sicaklik	0.047034	1	0.006595	0.031438	0.06263	1
AB	-0.0025	1	0.009327	-0.02456	0.019556	1
A^2	-0.03038	1	0.007073	-0.0471	-0.01365	1.017308
B^2	0.004625	1	0.007073	-0.0121	0.02135	1.017308

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned} \text{Mikroorganizma} \\ \text{Konsantrasyonu} &= \\ & 1.172 \\ & -0.03393 * A \\ & 0.047034 * B \\ & -0.0025 * A * B \\ & -0.03038 * A^2 \\ & 0.004625 * B^2 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned} \text{Mikroorganizma} \\ \text{Konsantrasyonu} &= \\ & 0.030478 \\ & 0.336235 * \text{pH} \\ & * \\ & -0.00123 \text{ Sicaklik} \\ & -0.00056 * \text{pH} * \text{Sicaklik} \\ & -0.027 * \text{pH}^2 \\ & 0.000257 * \text{Sicaklik}^2 \end{aligned}$$

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node. In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

7.5. Cu(II) İyonu İçeren Ortamların Yüzey-Cevap Modellemesine Göre Optimizasyon Sonuçları

7.5.1. Lipaz enzimi aktivitesi

Response 1 Enzim Aktivitesi

ANOVA for Response Surface Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	70005.28	9	7778.365	19.24162	< 0.0001	significant
A-pH	9989.695	1	9989.695	24.71187	0.0006	
B-Sıcaklık	9119.505	1	9119.505	22.55925	0.0008	
C-Cu	3088.134	1	3088.134	7.639231	0.0200	
AB	98	1	98	0.242426	0.6331	
AC	12.5	1	12.5	0.030922	0.8639	
BC	578	1	578	1.42982	0.2594	
A^2	34490.09	1	34490.09	85.31939	< 0.0001	
B^2	14067.56	1	14067.56	34.79943	0.0002	
C^2	5928.934	1	5928.934	14.66662	0.0033	
Residual	4042.468	10	404.2468			
Lack of Fit	2887.634	5	577.5269	2.500477	0.1686	not significant
Pure Error	1154.833	5	230.9667			
Cor Total	74047.75	19				

The Model F-value of 19.24 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, C, A++2+-, B++2+-, C++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 2.50 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 16.86% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	20.10589	R-Squared	0.945407
Mean	440.75	Adj R-Squared	0.896274
C.V. %	4.561745	Pred R-Squared	0.677926

PRESS 23848.84 Adeq Precision 12.93205

The "Pred R-Squared" of 0.6779 is not as close to the "Adj R-Squared" of 0.8963 as one might normally expect. This may indicate a large block effect or a possible problem with your model and/or data. Things to consider are model reduction, response transformation, outliers, etc.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 12.932 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient		Standard Error	95% CI		VIF
	Estimate	df		Low	High	
Intercept	509.3399	1	8.200152	491.0689	527.611	
A-pH	27.04586	1	5.440614	14.92341	39.1683	1
B-Sicaklik	25.84106	1	5.440614	13.71861	37.9635	1
C-Cu	-15.0374	1	5.440614	-27.1598	-2.91496	1
AB	-3.5	1	7.108505	-19.3387	12.33874	1
AC	1.25	1	7.108505	-14.5887	17.08874	1
BC	-8.5	1	7.108505	-24.3387	7.338737	1
A^2	-48.921	1	5.296291	-60.7219	-37.1202	1.018265
B^2	-31.2434	1	5.296291	-43.0442	-19.4425	1.018265
C^2	-20.2832	1	5.296291	-32.0841	-8.48235	1.018265

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Enzim Aktivitesi} = & 509.3399 \\
 & 27.04586 * A \\
 & 25.84106 * B \\
 & -15.0374 * C \\
 & -3.5 * A * B \\
 & 1.25 * A * C \\
 & -8.5 * B * C \\
 & -48.921 * A^2 \\
 & -31.2434 * B^2 \\
 & -20.2832 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Enzim Aktivitesi} = & \\
 & -4348.94
 \end{aligned}$$

1095.918 * pH
88.86279 * Sicaklik
5.793349 * Cu
-0.93333 * pH * Sicaklik
* pH *
0.095238 Cu
-0.09714 * Sicaklik * Cu
-86.9707 * pH^2
-1.24973 * Sicaklik^2
-0.06623 * Cu^2

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

7.5.2. Cu(II) iyonu biyobirikimi

Response 2 Biyobirikim

ANOVA for Response Surface Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	2548.447	9	283.1608	302.455	< 0.0001	significant
A-pH	199.9019	1	199.9019	213.5229	< 0.0001	
B-Sicaklik	71.46471	1	71.46471	76.33422	< 0.0001	
C-Cu	2125.189	1	2125.189	2269.996	< 0.0001	
AB	14.31125	1	14.31125	15.2864	0.0029	
AC	0.55125	1	0.55125	0.588811	0.4606	
BC	76.26125	1	76.26125	81.45759	< 0.0001	
A^2	3.996992	1	3.996992	4.269342	0.0657	
B^2	36.30964	1	36.30964	38.78373	< 0.0001	
C^2	15.78786	1	15.78786	16.86362	0.0021	
Residual	9.36208	10	0.936208			
Lack of Fit	5.44208	5	1.088416	1.388286	0.3638	not significant
Pure Error	3.92	5	0.784			
Cor Total	2557.81	19				

The Model F-value of 302.46 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, C, AB, BC, B++2+-, C++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 1.39 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 36.38% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.967578	R-Squared	0.99634
Mean	20.495	Adj R-Squared	0.993046
C.V. %	4.721046	Pred R-Squared	0.981659
PRESS	46.91396	Adeq Precision	63.11572

The "Pred R-Squared" of 0.9817 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9930.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 63.116 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient		Standard Error	95% CI		VIF
	Estimate	df		Low	High	
Intercept	21.22378	1	0.394625	20.3445	22.10306	
A-pH	-3.8259	1	0.261825	-4.40928	-3.24251	1
B-Sicaklik	2.287549	1	0.261825	1.704167	2.870932	1
C-Cu	12.47451	1	0.261825	11.89113	13.05789	1
AB	-1.3375	1	0.342091	-2.09973	-0.57527	1
AC	-0.2625	1	0.342091	-1.02473	0.499725	1
BC	3.0875	1	0.342091	2.325275	3.849725	1
A^2	-0.52664	1	0.254879	-1.09455	0.041265	1.018265
B^2	-1.5873	1	0.254879	-2.15521	-1.0194	1.018265
C^2	1.046671	1	0.254879	0.478764	1.614578	1.018265

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Biyobirikim} = & 21.22378 \\
 & -3.8259 * A \\
 & 2.287549 * B \\
 & 12.47451 * C \\
 & -1.3375 * A * B \\
 & -0.2625 * A * C \\
 & 3.0875 * B * C \\
 & -0.52664 * A^2 \\
 & -1.5873 * B^2 \\
 & 1.046671 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Biyobirikim} = & -105.124 \\
 & 17.3902 * \text{pH} \\
 & 5.242415 * \text{Sicaklik} \\
 & -0.44889 * \text{Cu} \\
 & -0.35667 * \text{pH} * \text{Sicaklik} \\
 & -0.02 * \text{pH} * \text{Cu} \\
 & 0.035286 * \text{Sicaklik} * \text{Cu}
 \end{aligned}$$

-0.93625 * pH²
-0.06349 * Sicaklik²
0.003418 * Cu²

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

7.5.3. R. delemar konsantrasyonu

Response		3 Mikroorganizma Konsantrasyonu				
ANOVA for Response Surface Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	0.169982	9	0.018887	15.61107	< 0.0001	significant
A-pH	0.013482	1	0.013482	11.14328	0.0075	
B-Sıcaklık	0.091925	1	0.091925	75.98121	< 0.0001	
C-Cu	0.03124	1	0.03124	25.82163	0.0005	
AB	0.00245	1	0.00245	2.025067	0.1852	
AC	0.00405	1	0.00405	3.34756	0.0972	
BC	0	1	0	0	1.0000	
A^2	0.022432	1	0.022432	18.54165	0.0015	
B^2	2.09E-05	1	2.09E-05	0.017299	0.8980	
C^2	0.005769	1	0.005769	4.768573	0.0539	
Residual	0.012098	10	0.00121			
Lack of Fit	0.006565	5	0.001313	1.186452	0.4279	not significant
Pure Error	0.005533	5	0.001107			
Cor Total	0.18208	19				

The Model F-value of 15.61 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, C, A++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 1.19 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 42.79% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.034783	R-Squared	0.933555
Mean	0.654	Adj R-Squared	0.873754
C.V. %	5.318456	Pred R-Squared	0.67562
PRESS	0.059063	Adeq Precision	14.47176

The "Pred R-Squared" of 0.6756 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.8738.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 14.472 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	0.69378	1	0.014186	0.662172	0.725389	
A-pH	-0.03142	1	0.009412	-0.05239	-0.01045	1
B-Sicaklik	0.082043	1	0.009412	0.061071	0.103014	1
C-Cu	-0.04783	1	0.009412	-0.0688	-0.02686	1
AB	0.0175	1	0.012298	-0.0099	0.044901	1
AC	0.0225	1	0.012298	-0.0049	0.049901	1
BC	0	1	0.012298	-0.0274	0.027401	1
A^2	-0.03945	1	0.009162	-0.05987	-0.01904	1.018265
B^2	0.001205	1	0.009162	-0.01921	0.02162	1.018265
C^2	-0.02001	1	0.009162	-0.04042	0.000407	1.018265

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 &\text{Mikroorganizma} \\
 &\text{Konsantrasyonu} = \\
 &0.69378 \\
 &-0.03142 * A \\
 &0.082043 * B \\
 &-0.04783 * C \\
 &0.0175 * A * B \\
 &0.0225 * A * C \\
 &0 * B * C \\
 &-0.03945 * A^2 \\
 &0.001205 * B^2 \\
 &-0.02001 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 &\text{Mikroorganizma} \\
 &\text{Konsantrasyonu} = \\
 &-0.80464 \\
 &0.597055 * \text{pH} \\
 &-0.01425 *
 \end{aligned}$$

	Sicaklik
-0.00869	* Cu
0.004667	* pH * Sicaklik
	* pH *
0.001714	Cu
0	* Sicaklik * Cu
-0.07014	* pH^2
4.82E-05	* Sicaklik^2
-6.5E-05	* Cu^2

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

7.6. Zn(II) İyonu İçeren Ortamların Yüzey-Cevap Modellemesine Göre Optimizasyon Sonuçları

7.6.1. Lipaz enzimi aktivitesi

Response		1 Enzim Aktivitesi				
ANOVA for Response Surface Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	120032.3	9	13336.92	30.55107	< 0.0001	significant
A-pH	2525.762	1	2525.762	5.785797	0.0370	
B-Sıcaklık	14172.93	1	14172.93	32.46612	0.0002	
C-Zn(II)	93776.06	1	93776.06	214.8141	< 0.0001	
AB	722	1	722	1.653895	0.2274	
AC	98	1	98	0.22449	0.6458	
BC	50	1	50	0.114536	0.7420	
A^2	2648.433	1	2648.433	6.0668	0.0335	
B^2	3785.839	1	3785.839	8.672273	0.0147	
C^2	3952.805	1	3952.805	9.054745	0.0131	
Residual	4365.452	10	436.5452			
Lack of Fit	3249.952	5	649.9904	2.913449	0.1327	not significant
Pure Error	1115.5	5	223.1			
Cor Total	124397.8	19				

The Model F-value of 30.55 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, C, A++2+-, B++2+-, C++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 2.91 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 13.27% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	20.89366	R-Squared	0.964907
Mean	475.75	Adj R-Squared	0.933324
C.V. %	4.391732	Pred R-Squared	0.764339

PRESS 29315.66 Adeq Precision 19.15679

The "Pred R-Squared" of 0.7643 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9333.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 19.157 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient		df	Standard Error	95% CI		VIF
	Estimate				Low	High	
Intercept	507.3833		1	8.521445	488.3964	526.3703	
A-pH	13.59943		1	5.653785	1.002017	26.19685	1
B-Sicaklik	32.21473		1	5.653785	19.61731	44.81214	1
C-Zn(II)	82.86491		1	5.653785	70.26749	95.46233	1
AB	-9.5		1	7.387026	-25.9593	6.959319	1
AC	-3.5		1	7.387026	-19.9593	12.95932	1
BC	-2.5		1	7.387026	-18.9593	13.95932	1
A^2	-13.5564		1	5.503807	-25.8196	-1.29311	1.018265
B^2	-16.208		1	5.503807	-28.4713	-3.94476	1.018265
C^2	-16.5616		1	5.503807	-28.8248	-4.29832	1.018265

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Enzim Aktivitesi} = & 507.3833 \\
 & 13.59943 * A \\
 & 32.21473 * B \\
 & 82.86491 * C \\
 & -9.5 * A * B \\
 & -3.5 * A * C \\
 & -2.5 * B * C \\
 & -13.5564 * A^2 \\
 & -16.208 * B^2 \\
 & -16.5616 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Enzim Aktivitesi} = & -2409.39 \\
 & 328.5928 * \text{pH} \\
 & 89.49253 *
 \end{aligned}$$

	Sicaklik
14.62877	* Zn(II)
-2.66854	* pH * Sicaklik
-0.29348	* pH * Zn(II)
-0.04664	* Sicaklik * Zn(II)
-17.1145	* pH^2
-1.013	* Sicaklik^2
-0.09223	* Zn(II)^2

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

7.6.2. Zn(II) iyonu biyobirikimi

Response 2 Biyobirikim

ANOVA for Response Surface Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1440.824	9	160.0916	398.6937	< 0.0001	significant
A-pH	44.79393	1	44.79393	111.5553	< 0.0001	
B-Sicaklik	14.19823	1	14.19823	35.35943	0.0001	
C-Zn(II)	1127.048	1	1127.048	2806.813	< 0.0001	
AB	1.029613	1	1.029613	2.564158	0.1404	
AC	80.70851	1	80.70851	200.9973	< 0.0001	
BC	5.561113	1	5.561113	13.84945	0.0040	
A^2	27.37758	1	27.37758	68.1814	< 0.0001	
B^2	42.08486	1	42.08486	104.8086	< 0.0001	
C^2	124.8012	1	124.8012	310.8062	< 0.0001	
Residual	4.015403	10	0.40154			
Lack of Fit	1.889519	5	0.377904	0.888816	0.5499	not significant
Pure Error	2.125883	5	0.425177			
Cor Total	1444.839	19				

The Model F-value of 398.69 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, C, AC, BC, A++2+-, B++2+-, C++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.89 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 54.99% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.633672	R-Squared	0.997221
Mean	21.26	Adj R-Squared	0.99472
C.V. %	2.980583	Pred R-Squared	0.987331
PRESS	18.30421	Adeq Precision	68.19443

The "Pred R-Squared" of 0.9873 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9947.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 68.194 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient		Standard Error	95% CI		VIF
	Estimate	df		Low	High	
Intercept	25.37752	1	0.258442	24.80167	25.95336	
A-pH	-1.81107	1	0.17147	-2.19313	-1.42901	1
B-Sicaklik	1.019628	1	0.17147	0.637568	1.401688	1
C-Zn(II)	9.084394	1	0.17147	8.702334	9.466454	1
AB	0.35875	1	0.224037	-0.14044	0.857935	1
AC	3.17625	1	0.224037	2.677065	3.675435	1
BC	0.83375	1	0.224037	0.334565	1.332935	1
A^2	-1.37831	1	0.166922	-1.75023	-1.00638	1.018265
B^2	-1.70888	1	0.166922	-2.0808	-1.33695	1.018265
C^2	-2.94278	1	0.166922	-3.31471	-2.57086	1.018265

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Biyobirikim} = & 25.37752 \\
 & -1.81107 * A \\
 & 1.019628 * B \\
 & 9.084394 * C \\
 & 0.35875 * A * B \\
 & 3.17625 * A * C \\
 & 0.83375 * B * C \\
 & -1.37831 * A^2 \\
 & -1.70888 * B^2 \\
 & -2.94278 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 \text{Biyobirikim} = & -95.2565 \\
 & 10.11132 * \text{pH} \\
 & 5.792476 * \text{Sicaklik} \\
 & -0.63075 * \text{Zn(II)} \\
 & 0.100772 * \text{pH} * \text{Sicaklik} \\
 & 0.26633 * \text{pH} * \text{Zn(II)} \\
 & 0.015555 * \text{Sicaklik} * \text{Zn(II)}
 \end{aligned}$$

-1.74007 * pH²
-0.1068 * Sicaklik²
-0.01639 * Zn(II)²

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

7.6.3. R. delemar konsantrasyonu

Response 3 Mikroorganizma Konsantrasyonu

ANOVA for Response Surface Quadratic Model

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	2.878592	9	0.319844	92.47134	< 0.0001	significant
A-pH	0.228809	1	0.228809	66.15202	< 0.0001	
B-Sıcaklık	0.197376	1	0.197376	57.0643	< 0.0001	
C-Zn(II)	2.183966	1	2.183966	631.4158	< 0.0001	
AB	0.082013	1	0.082013	23.71099	0.0007	
AC	0.010513	1	0.010513	3.039314	0.1119	
BC	0.001513	1	0.001513	0.437285	0.5234	
A^2	0.077671	1	0.077671	22.45578	0.0008	
B^2	0.002514	1	0.002514	0.726717	0.4139	
C^2	0.101736	1	0.101736	29.41319	0.0003	
Residual	0.034588	10	0.003459			
Lack of Fit	0.015105	5	0.003021	0.775281	0.6066	not significant
Pure Error	0.019483	5	0.003897			
Cor Total	2.91318	19				

The Model F-value of 92.47 implies the model is significant. There is only a 0.01% chance that a "Model F-Value" this large could occur due to noise.

Values of "Prob > F" less than 0.0500 indicate model terms are significant.

In this case A, B, C, AB, A++2+-, C++2+- are significant model terms.

Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant.

If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

The "Lack of Fit F-value" of 0.78 implies the Lack of Fit is not significant relative to the pure error. There is a 60.66% chance that a "Lack of Fit F-value" this large could occur due to noise. Non-significant lack of fit is good -- we want the model to fit.

Std. Dev.	0.058812	R-Squared	0.988127
Mean	0.919	Adj R-Squared	0.977441
C.V. %	6.399554	Pred R-Squared	0.950478
PRESS	0.144267	Adeq Precision	32.34446

The "Pred R-Squared" of 0.9505 is in reasonable agreement with the "Adj R-Squared" of 0.9774.

"Adeq Precision" measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 32.344 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Factor	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
Intercept	1.017485	1	0.023986	0.96404	1.07093	
A-pH	-0.12944	1	0.015914	-0.1649	-0.09398	1
B-Sicaklik	0.120219	1	0.015914	0.084759	0.155678	1
C-Zn(II)	-0.3999	1	0.015914	-0.43536	-0.36444	1
AB	0.10125	1	0.020793	0.05492	0.14758	1
AC	0.03625	1	0.020793	-0.01008	0.08258	1
BC	0.01375	1	0.020793	-0.03258	0.06008	1
A^2	-0.07341	1	0.015492	-0.10793	-0.03889	1.018265
B^2	0.013207	1	0.015492	-0.02131	0.047726	1.018265
C^2	-0.08402	1	0.015492	-0.11854	-0.0495	1.018265

Final Equation in Terms of Coded Factors:

$$\begin{aligned}
 &\text{Mikroorganizma} \\
 &\text{Konsantrasyonu} = \\
 &1.017485 \\
 &-0.12944 * A \\
 &0.120219 * B \\
 &-0.3999 * C \\
 &0.10125 * A * B \\
 &0.03625 * A * C \\
 &0.01375 * B * C \\
 &-0.07341 * A^2 \\
 &0.013207 * B^2 \\
 &-0.08402 * C^2
 \end{aligned}$$

Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 &\text{Mikroorganizma} \\
 &\text{Konsantrasyonu} = \\
 &4.87139 \\
 &0.093873 * \text{pH} \\
 &-0.21307 *
 \end{aligned}$$

Sicaklik
-0.03172 * Zn(II)
0.028441 * pH * Sicaklik
0.00304 * pH * Zn(II)
0.000257 * Sicaklik * Zn(II)
-0.09268 * pH^2
0.000825 * Sicaklik^2
-0.00047 * Zn(II)^2

The Diagnostics Case Statistics Report has been moved to the Diagnostics Node.
In the Diagnostics Node, Select Case Statistics from the View Menu.

Proceed to Diagnostic Plots (the next icon in progression). Be sure to look at the:

- 1) Normal probability plot of the studentized residuals to check for normality of residuals.
- 2) Studentized residuals versus predicted values to check for constant error.
- 3) Externally Studentized Residuals to look for outliers, i.e., influential values.
- 4) Box-Cox plot for power transformations.

If all the model statistics and diagnostic plots are OK, finish up with the Model Graphs icon.

ÖZGEÇMİŞ

Adı – Soyadı: Oğulcan Ahmet Evirgen

Doğum Yılı: 1978

Doğum Yeri: Ankara

Eğitim Durumu

Lisans: Ortadoğu Teknik Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü

Yüksek Lisans: Hacettepe Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü

Doktora: Hacettepe Üniversitesi Biyomühendislik Bölümü

İş Durumu

1999 – 2001 TCT Danışmanlık ve Enerji Ltd. Şti., Mühendis

2001 – 2011 Hacettepe Üniversitesi, Araştırma Görevlisi

Yabancı Lisan

İngilizce: Çok iyi

Almanca: Orta

e-posta: ogulcan@gmail.com