

**MAYA TÜRÜ HÜCRELERDEKİ METAL BİYOBİRİKİMİ
İLE LİPAZ ENZİMİ AKTİVİTESİNİN
KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ**

**GÜLŞAH MERSİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
2010**

**MAYA TÜRÜ HÜCRELERDEKİ METAL BİYOBİRİKİMİ İLE LİPAZ ENZİMİ
AKTİVİTESİNİN KARŞILAŞTIRMALI
İNCELENMESİ**

**GÜLŞAH MERSİN
YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
2010**

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ünsal AÇIKEL

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 24.09.2008 tarihli ve 7 sayılı toplantısında kabul edilen "Fen/Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu" adlı yönergeye göre hazırlanmıştır.

| | |
|---|------|
| İÇİNDEKİLER | i |
| ÖZET | iv |
| SUMMARY | vi |
| TEŞEKKÜR | viii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ | ix |
| ÇİZELGELER DİZİNİ | xiii |
| SİMGELER DİZİNİ | xiv |
| | |
| 1.GİRİŞ | 1 |
| 2. TEMEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1 Atık sular..... | 3 |
| 2.1.1 Atık su ve genel özellikleri..... | 3 |
| 2.1.1.1 Atık su parametreleri..... | 6 |
| 2.1.1.1.1 Fiziksel parametreler..... | 6 |
| 2.1.1.1.2 Kimyasal parametreler..... | 7 |
| 2.1.1.1.3 Biyolojik parametreler..... | 8 |
| 2.1.2 Ağır metal kirliliği içeren atık sular ve arıtım yöntemleri..... | 8 |
| 2.1.2.1 Fizikokimyasal metotlar..... | 9 |
| 2.1.2.2 Biyolojik metotlar..... | 10 |
| 2.1.2.2.1 Metal iyonlarına karşı mikrobiyal direnç..... | 10 |
| 2.1.2.3 Metal toksikolojisi..... | 11 |
| 2.1.2.4 Bakır(II) kirliliği içeren atık sular ve arıtım yöntemleri..... | 11 |
| 2.1.2.5 Nikel(II) kirliliği İçeren atık sular ve arıtım yöntemleri..... | 12 |
| 2.2 Mikroorganizmalar..... | 13 |
| 2.2.1 Mikroorganizmaların genel özellikleri..... | 13 |
| 2.2.2 Mikroorganizmaların büyümesi..... | 14 |
| 2.2.2.1 Enerji kaynağı..... | 15 |
| 2.2.2.2 Azot kaynağı..... | 15 |
| 2.2.2.3 Mineral kaynağı..... | 15 |
| 2.2.3 Mikroorganizmanın büyümesine etki eden parametreler..... | 15 |

| | |
|--|----|
| 2.2.3.1 pH..... | 15 |
| 2.2.3.2 Sıcaklık..... | 16 |
| 2.2.3.3 Oksijen ihtiyacı..... | 16 |
| 2.2.4 Mikroorganizmaların büyüme evreleri..... | 16 |
| 2.2.4.1 Gecikme evresi..... | 16 |
| 2.2.4.2 Logaritmik evre..... | 17 |
| 2.2.4.3 Duraklama evresi..... | 17 |
| 2.2.4.4 Sabit evre..... | 17 |
| 2.2.4.5 Ölüm evresi..... | 17 |
| 2.3 Mayalar..... | 18 |
| 2.3.1 <i>Candida</i> türleri..... | 22 |
| 2.3.1.1 Morfoloji ve diğer özellikler..... | 22 |
| 2.3.1.2 <i>Candida</i> cinsi..... | 22 |
| 2.3.1.2.1 <i>Candida lipolytica</i> | 23 |
| 2.3.1.2.2 <i>Candida utilis</i> | 23 |
| 2.3.1.2.3 <i>Candida membranaefaciens</i> | 23 |
| 2.3.1.2.4 <i>Candida tropicalis</i> | 24 |
| 2.3.2 Mikroorganizmalar ile enzim salgılama mekanizması..... | 24 |
| 2.3.2.1 Mayalar ile enzim salgılanması..... | 24 |
| 2.3.2.2 Mikroorganizmaların enzimleri..... | 25 |
| 2.4 Biyobirikim..... | 26 |
| 2.4.1 Biyobirikim prosesi..... | 28 |
| 2.4.1.1 Birikim..... | 28 |
| 2.4.1.2 Depolama..... | 29 |
| 2.4.1.3 Eliminasyon..... | 29 |
| 2.4.1.4 Biyobirikim: Dinamik denge durumu..... | 30 |
| 2.4.2 Biyobirikimi etkileyen faktörler..... | 30 |
| 2.4.3 Ağır metal iyonlarının biyobirikimi ve mikroorganizmaların biyobirikimde kullanılması..... | 30 |
| 2.5 Enzimler..... | 36 |
| 2.5.1 Enzimlerin adlandırılması ve sınıflandırılması..... | 36 |
| 2.5.2 Enzimlerin kimyasal yapısı..... | 37 |
| 2.5.3 Enzimlerin katalitik özellikleri..... | 38 |
| 2.5.4 Enzim aktivatörleri ve inhibitörleri..... | 39 |
| 2.5.5 Enzim substrat ilişkisi..... | 39 |
| 2.5.6 Enzim aktivitesine etki eden parametreler..... | 40 |
| 2.5.6.1 pH etkisi..... | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 2.5.6.2 Sıcaklık etkisi..... | 40 |
| 2.5.6.3 Substrat konsantrasyonu etkisi..... | 40 |
| 2.6 Lipaz | 40 |
| 2.6.1 Spesifik olmayan lipazlar..... | 42 |
| 2.6.2 (1,3)-Spesifik lipazlar..... | 42 |
| 2.6.3 Yağ asidi spesifik lipazlar..... | 42 |
| 2.6.4 Lipaz aktivitesi tayin metotlar..... | 43 |
| 2.6.4.1 Para nitro phenil palmitate (p-NPP) metodu..... | 44 |
| 3. MATERYAL ve METOT..... | 45 |
| 3.1 Deneyleler..... | 45 |
| 3.1.1 Analiz yöntemleri..... | 45 |
| 3.1.2 Lipaz aktivitesi tayini..... | 45 |
| 3.1.3 Mikroorganizma derişimi tayini..... | 45 |
| 3.1.4 Sakkaroz derişimi tayini..... | 45 |
| 3.1.5 Bakır(II)/nikel(II) iyon derişiminin tayini..... | 45 |
| 3.1.6 Mikroorganizma özgül üreme hızı..... | 46 |
| 3.1.7 Metal iyonu içermeyen ortamda büyüme kinetiğinin modellenmesi ve Monod eşitliğı..... | 46 |
| 4. BULGULAR..... | 48 |
| 4.1 Mikroorganizma üremesi..... | 48 |
| 4.1.1 Başlangıç pH'ının etkisi..... | 48 |
| 4.1.2 Başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi..... | 49 |
| 4.1.3 Başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin etkisi..... | 49 |
| 4.2 Enzim deneyleri..... | 60 |
| 4.2.1 Başlangıç pH'ının etkisi..... | 60 |
| 4.2.2 Başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi..... | 61 |
| 4.2.3 Başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin etkisi..... | 62 |
| 4.3 Biyobirikim deneyleri..... | 67 |
| 5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA..... | 77 |
| 6. KAYNAKLAR..... | 81 |
| 7. ÖZGEÇMİŞ..... | 87 |
| 8. EKLER..... | 88 |
| Ek 1. Bakır (II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin tayini | 88 |
| Ek 2. Melas sakkarozu derişiminin tayini..... | 89 |
| Ek 3. Mikroorganizma derişimi tayini..... | 91 |

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MAYA TÜRÜ HÜCRELERDEKİ METAL BİYOBİRİKİMİ İLE LİPAZ ENZİMİ
AKTİVİTESİNİN KARŞILAŞTIRMALI İNCELENMESİ**

Gülşah MERSİN

Cumhuriyet Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ünsal AÇIKEL

Yapılan tez çalışmasında düşük pH'larda üreyebilen ve ağır metal iyonlarına oldukça dirençli olan *Candida* türü mayalar (*Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis*, *Candida membranefeciens*) ile ağır metal kirliliği içeren düşük pH'a sahip atık sularda istenmeyen derişimlerde bulunan bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının tekli karışımlarından biyobirikimi ve lipaz enzimi aktiviteleri incelenmiştir. Biyobirikim ve lipaz enzimi aktivitesini için hazırlanan besin ortamlarında bir şeker endüstrisi atığı olan melas kullanılmıştır.

Çalışmaların ilk aşamasında mikroorganizmaların maksimum üreme gösterdiği optimum pH değeri 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde araştırılmıştır. Bütün maya hücreleri için maksimum özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimi pH 4.0 değerinde elde edilmiştir. Başlangıç sakkaroz derişiminin 20 g/L derişimine kadar artmasıyla bütün mayaların özgül üreme hızlarının ve maksimum üreyen derişimlerinin arttığı, mayalar içerisinde en yüksek özgül üreme ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimini *Candida lypolytica*'nın, en düşük özgül üreme ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimini ise *Candida utilis*'in gösterdiği bulunmuştur. Mayalar en yüksek lipaz enzimi aktivitesi ve metal biyobirikim değerlerini de en verimli üredikleri pH 4.0 değerinde göstermiştir. Ortama 25-250 mg/L derişim aralığında eklenen tekli bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının maya hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği ve mayaların artan metal iyonu derişimlerinde özgül üreme hızı ve maksimum üreyen derişimlerinin azaldığı, nikel (II) iyonlarının

inhibisyon etkisinin bakır (II)'ye göre daha fazla olduğu bulunmuştur. Ayrıca Monod eşitliğinin doğrusallaştırılmasıyla çizilen izotermelerden mikroorganizma üremesi için kinetik sabitler belirlenmiştir.

Çalışmaların ikinci aşamasında lipaz enzimi aktivitesi başlangıç sakkaroz derişimi 1-20 g/L aralığında değiştirilerek incelenmiştir. Başlangıç sakkaroz derişiminin 10 g/L' ye kadar artmasıyla bütün mayaların gösterdiği lipaz enzimi aktivitesinin arttığı, daha yüksek sakkaroz derişimlerinde ise lipaz enzimi aktivitesinin azaldığı ve mayalar içerisinde en yüksek lipaz enzimi aktivitesini 10 g/L sakkaroz derişiminde 936,96 U/L değeri ile *Candida membranefeciens*'in, en düşük lipaz enzimi aktivitesini 10 g/L sakkaroz derişiminde 486,54 U/L değeri ile *Candida utilis*'in gösterdiği bulunmuştur. Ortama 25-250 mg/L derişim aralığında eklenen tekli bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının maya hücrelerinin gösterdiği lipaz enzimi aktivitesini önemli ölçüde düşürdüğü ve nikel (II) iyonlarının lipaz enzimi aktivitesini düşürücü etkisinin bakır (II)' ye göre çok daha fazla olduğu görülmüştür.

Çalışmaların son aşamasında ortama 25-250 mg/L derişim aralığında eklenen bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının maya hücreleri tarafından biyobirikimi incelenmiştir. Başlangıç metal iyonu derişimi arttıkça bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının biyobirikiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan metal iyonu miktarlarının arttığı, en yüksek üreme gösteren *Candida lypolytica*'nın, en yüksek verimde metal biyobiriktirdiği ve gram kuru mikroorganizma başına tuttuğu metal iyonu miktarının da diğer maya hücrelerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELER: Atık su, maya, melas, sakkaroz, ağır metal iyonu, biyobirikim, inhibisyon, *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis*, *Candida membranefeciens*, bakır (II), nikel (II)

SUMMARY

MsC Thesis

**COMPERATIVE INVESTIGATION OF METAL BIOACCUMULATION AND LIPASE
ACTIVITY BY YEAST CELLS**

Gülşah MERSİN

Cumhuriyet University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemical Engineering

Supervisor: Asist. Prof. Dr. Ünsal AÇIKEL

In the thesis study, copper (II) and nickel (II) ions which are undesirable concentrations in wastewaters including heavy metal pollution at low pH from the mixture of single bioaccumulation and lipase activity are investigated with *Candida* species (*Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis*, *Candida membranefeciens*) which are capable of reproduced at he low pH and resistant to heavy metal ions. As a sugar industry waste, molesses, was used bioaccumulation and lipase enzyme activity studies in nutrient media.

In the first part of study, optimum pH for growth of microorganism was investigated at 10 g/L for fixed sucrose concentration. Maximum spesific growth rate and reproduced microorganism concentration were obtained for all yeast cells in the pH value of 4.0. All yeast cells' spesific growth rate and reproduced microorganism concentration increased by increasing initial sucrose concentration to 20 g/L. In these yeasts, *Candida lypolytica* showed the highest spesific growth and maximum reproduced microorganisms concentration, *Candida utilis* showed the lowest spesific growth and maximum reproduced microorganisms concentration. Yeast showed the highest lipase activity and bioaccumulation values at pH value of 4.0 efficiently. Single copper (II) and nickel (II) ions added in to medium between the range of 25-250 mg/L concentrations lead to inhibit growth of yeast cells. Yeasts' spesific growth rates and maximum reproduced concentrations decreased by increasing metal ion concentrations and inhibition effect of nickel (II) ions founded better than inhibition effect of copper (II). Kinetic costants were determined with isotherms which were plotted by monod equation linearization.

The second part of study, lipase enzyme activity was investigated at initial sucrose concentration in the range of 1- 20 g/L. For all yeasts, lipase activity increased with increasing initial sucrose concentration to 10 g/L, decreased by the higher sucrose concentration and in the yeasts, *Candida*

membranefeciens showed the highest lipase activity with 936,36 U/L at 10 g/L sucrose concentration. *Candida utilis* showed the lowest lipase enzyme activity with 486,54 U/L at 10 g/L sucrose concentration. Single copper (II) and nickel (II) ions added to medium of 25-250 mg/L concentrations were found to have a reductive effect. The reductive effect of nickel (II) ions is more than the reductive effect of copper (II) ions.

The last part of the study, copper (II) and nickel (II) ions which added the range of 25-250 mg/L concentrations in the medium were examined to bioaccumulation by yeast cells. Copper (II) and nickel (II) ions' bioaccumulation and amount of metal ions held per gram of dry microorganism were found to increase by increasing metal ion concentrations. Maximum reproductive *Candida lipolytica* most efficiently bioaccumulated metal and amount of metal ion held per gram of dry microorganism determined higher than the other yeast cells.

KEY WORDS: Wastewater, yeast, molasses sucrose, heavy metal ion, bioaccumulation, inhibition, *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis*, *Candida membranefeciens*, copper (II), nickel (II)

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans tez çalışmalarım boyunca beni yönlendiren ve çalışmalarımaya yön veren, yaptığım deneylerin, araştırmaların her aşamasında bilgi ve önerileriyle gelişmeme büyük katkı sağlayan danışman hocam sayın Yrd. Doç. Dr. Ünsal AÇIKEL'e en derin duygularımaya teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman yanımda olan, ilgi, destek ve sevgisini benden esirgemeyen, hayatımın her aşamasında emeğini hissettiğim aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1 Endüstriyel sistem ve atıklar..... | 3 |
| Şekil 2.2 Mikroorganizma büyüme evreleri..... | 18 |
| Şekil 2.3 Kofaktörlerin sınıflandırılması..... | 38 |
| Şekil 4.1 <i>Candida lipolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefeciens</i> mayaları için başlangıç pH'ının özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (S_0 : 10 g/L; T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 48 |
| Şekil 4.2 <i>Candida lipolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi..... | 49 |
| Şekil 4.3 <i>Candida membranaefaciens</i> mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 51 |
| Şekil 4.4 <i>Candida utilis</i> mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 51 |
| Şekil 4.5 <i>Candida tropicalis</i> mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 52 |
| Şekil 4.6 <i>Candida lipolytica</i> mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 52 |
| Şekil 4.7 <i>Candida membranaefaciens</i> mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 53 |
| Şekil 4.8 <i>Candida utilis</i> mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 53 |
| Şekil 4.9 <i>Candida tropicalis</i> mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 54 |
| Şekil 4.10 <i>Candida lipolytica</i> mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 54 |
| Şekil 4.11 <i>Candida membranaefaciens</i> için bakır(II) içeren ortamda 1/ μ -1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 55 |
| Şekil 4.12 <i>Candida utilis</i> için bakır(II) içeren ortamda 1/ μ -1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 56 |

| | |
|---|----|
| Şekil 4.13 <i>Candida tropicalis</i> için bakır(II) içeren ortamda 1/μ-1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 56 |
| Şekil 4.14 <i>Candida lypolytica</i> için bakır(II) içeren ortamda 1/μ-1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 57 |
| Şekil 4.15 <i>Candida membranaefaciens</i> için nikel(II) içeren ortamda 1/μ-1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 57 |
| Şekil 4.16 <i>Candida utilis</i> için nikel(II) içeren ortamda 1/μ-1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 58 |
| Şekil 4.17 <i>Candida tropicalis</i> için nikel(II) içeren ortamda 1/μ-1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 58 |
| Şekil 4.18 <i>Candida lypolytica</i> için nikel(II) içeren ortamda 1/μ-1/S grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 59 |
| Şekil 4.19 <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için başlangıç pH'ının lipaz enzimi aktivitesine etkisi (S ₀ : 10 g/L; T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 61 |
| Şekil 4.20 <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için başlangıç sakkaroz derişiminin mayaların enzim aktivitesine etkisi (pH:4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm) | 62 |
| Şekil 4.21 <i>Candida membranaefaciens</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 63 |
| Şekil 4.22 <i>Candida utilis</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm).. | 64 |
| Şekil 4.23 <i>Candida tropicalis</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)... | 64 |
| Şekil 4.24 <i>Candida lypolytica</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm).. | 65 |
| Şekil 4.25 <i>Candida membranaefaciens</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 65 |
| Şekil 4.26 <i>Candida utilis</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm).. | 66 |
| Şekil 4.27 <i>Candida tropicalis</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm).. | 66 |
| Şekil 4.28 <i>Candida lypolytica</i> için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm).. | 67 |
| Şekil 4.29 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 68 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.30 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 50 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 69 |
| Şekil 4.31 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 100 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 69 |
| Şekil 4.32 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 150 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 70 |
| Şekil 4.33 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 200 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 70 |
| Şekil 4.34 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 250 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 71 |
| Şekil 4.35 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 71 |
| Şekil 4.36 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 50 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 72 |
| Şekil 4.37 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 100 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 72 |
| Şekil 4.38 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 150 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 73 |
| Şekil 4.39 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 200 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 73 |
| Şekil 4.40 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 250 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 74 |
| Şekil E.1 Bakır(II) iyon derişiminin tayini için kullanılan çalışma doğrusu..... | 88 |
| Şekil E.2 Nikel(II) iyon derişiminin tayini için kullanılan çalışma doğrusu..... | 89 |
| Şekil E.3 Melas sakkarozu derişiminin tayini için kullanılan çalışma doğrusu..... | 90 |

| | |
|---|----|
| Şekil E.4 <i>Candida lypolytica</i> için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu..... | 91 |
| Şekil E.5 <i>Candida utilis</i> için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu..... | 92 |
| Şekil E.6 <i>Candida tropicalis</i> için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu..... | 92 |
| Şekil E.7 <i>Candida membranaefaciens</i> için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu..... | 93 |
| Şekil E.8 <i>Candida lypolytica</i> için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu..... | 93 |
| Şekil E.9 <i>Candida utilis</i> için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu..... | 94 |
| Şekil E.10 <i>Candida tropicalis</i> için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu..... | 94 |
| Şekil E.11 <i>Candida membranaefaciens</i> için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu..... | 95 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Çizelge 2.1 Organik madde içeren atık suların şehir atık su alt yapı tesislerine deşarjında öngörülen atık su standartları..... | 7 |
| Çizelge 2.2 Bazı endüstriyel atık suların içerdığı bakır(II) derişimleri..... | 12 |
| Çizelge 2.3 Bazı endüstriyel atık sulardaki nikel(II) derişimleri..... | 13 |
| Çizelge 4.1 Farklı başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyonu derişimlerinde ve 1-20 g/L aralığında başlangıç sakkaroz derişimi içeren ortamlarda Monod eşitliğine göre bulunan maksimum özgül üreme hızı ve doygunluk sabiti değerleri | 59 |
| Çizelge 4.2 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25-250 mg/L aralığında bakır(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 75 |
| Çizelge 4.3 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25-250 mg/L aralığında nikel(II) derişimi bulunan ortamda <i>Candida lypolytica</i> , <i>Candida utilis</i> , <i>Candida tropicalis</i> ve <i>Candida membranaefaciens</i> mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)..... | 76 |
| Çizelge 5.1 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken elde edilen mikroorganizma özgül üreme hızının metal içermeyen ortamlarla karşılaştırılması..... | 77 |
| Çizelge 5.2 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken elde edilen maksimum üreyen mikroorganizma derişiminin metal içermeyen ortamlarla karşılaştırılması..... | 78 |
| Çizelge 5.3 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken elde edilen enzim aktivitesinin metal içermeyen ortamlarla karşılaştırılması..... | 78 |
| Çizelge 5.4 10 ve 20 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken tutulan metal derişimleri ve metal iyonu ve sakkaroz derişimi arttıkça tutulan derişimdeki artış yüzdeleri..... | 79 |
| Çizelge 5.5 10 ve 20 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken gram kuru mikroorganizma başına tutulan metal miktarları ve metal iyonu ve sakkaroz derişimi arttıkça tutulan miktardaki artış yüzdeleri..... | 80 |

SİMGELER DİZİNİ

| | |
|--------------------|---|
| μ | : Özgül üreme hızı (sa^{-1}) |
| μ_m | : Maksimum özgül üreme hızı (sa^{-1}) |
| A | : Absorbans |
| C_{Cu} | : Bakır iyonu derişimi (mg/L) |
| C_{Ni} | : Nikel iyonu derişimi (mg/L) |
| C_{oCu} | : Başlangıç bakır iyonu derişimi (mg/L) |
| C_{oNi} | : Başlangıç nikel iyonu derişimi (mg/L) |
| C_{tutCu} | : Mikroorganizma tarafından tutulan bakır iyonu derişimi (mg/L) |
| C_{tutNi} | : Mikroorganizma tarafından tutulan nikel iyonu derişimi (mg/L) |
| K_s | : Doygunluk sabiti (g/L) |
| q | : Birim mikroorganizma kütlesi tarafından tutulan metal iyonu miktarı (mg metal iyonu/g mikroorganizma) |
| q_{Cu} | : Birim mikroorganizma kütlesi tarafından tutulan bakır iyonu miktarı (mg bakır iyonu/g mikroorganizma) |
| q_{Ni} | : Birim mikroorganizma kütlesi tarafından tutulan nikel iyonu miktarı (mg nikel iyonu/g mikroorganizma) |
| S | : Substrat derişimi (g/L) |
| S_o | : Başlangıç sakkaroz derişimi (g/L) |
| t | : Zaman (sa^{-1}) |
| UI | : Enzim aktivitesi (U/L) |
| X | : Maksimum üreyen mikroorganizma derişimi (g/L) |
| X_k | : Kuru mikroorganizma derişimi (g/L) |
| X_y | : Yaş mikroorganizma derişimi (g/L) |

1. GİRİŞ

Dünyada giderek artan nüfusla birlikte gelişen teknoloji ve hızlı sanayileşme, çok büyük ve çözülmesi giderek zorlaşan bir problemi, çevre kirliliğini de beraberinde getirmiştir. Bugün bu kirlilik doğanın dengesini bozar duruma gelmiş ve insan yaşamını tehdit eden boyutlara ulaşmıştır. Su kirliliği ise çevre kirliliğinin önemli bir boyutunu oluşturmaktadır. Su, hava ve toprakta çevre kirliliği biyolojik ve kimyasal etkenler tarafından oluşturulur. Konutlar, sanayi-endüstri kuruluşları, enerji santralleri, tarım ve hayvancılık uygulamaları sonucu açığa çıkan ve içinde sağlığa zararlı biyolojik ve kimyasal maddeleri barındıran sular atık su olarak tanımlanır. Atık sular yeraltı suları, akarsu, göl ve denizlerde oluşan çevre kirliliğinin en önemli kaynağıdır.

Toksik ağır metallerin çevreyi kirlilemesi endüstrinin gelişmesiyle giderek artmaktadır. Ağır metaller, su kaynaklarına, endüstriyel atıklar veya asit yağmurlarının toprağı ve dolayısıyla bileşimde bulunan ağır metalleri çözmesi ve çözünen ağır metallerin ırmak, göl ve yeraltı sularına ulaşmasıyla geçerler. Sulara taşınan ağır metaller aşırı derecede seyrelirler ve kısmen karbonat, sülfat, sülfür olarak katı bileşik oluşturarak su tabanına çöker ve bu bölgede zenginleşirler. Sediment tabakasının adsorpsiyon kapasitesi sınırlı olduğundan dolayı da suların ağır metal konsantrasyonu sürekli olarak yükselir.

Bakır(II) ve Nikel (II), ağır metaller arasında en yaygın bilinenlerdir. Bu metaller çevrede bulunan ağır metallere sadece ikisidir (Patterson, 1977; Aksu, 1998). Bu tip ağır metallerin izleri enzimatik reaksiyonlar için kofaktör olarak gereklidir. Fakat bunların yüksek seviyelerde kullanımı, yaşayan organizmalar için kesinlikle toksiktir ve organizmanın metabolik reaksiyonunu engeller. Bazı prosesler; çapraz akışlı hücre membranı, hücre duvarına biyosorpsiyon ve hücre dışı kapsüllerde tutuklama, çökme, kompleksleştirme ve oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarıdır (Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981). Ağır metallerin giderimi için kullanılan mikroorganizmalar son zamanlarda büyük ilgi görmektedir. Bu sadece bilimsel bir yenilik olarak değil endüstride kullanılacak bir yöntem olarak görülmektedir. Metal birikim proseslerinin iki kategorisinden biri, ölü canlıların ve gelişmeyen biyokütlerin gerçekleştirdiği (pasif) biyosorpsiyon birikimi, diğeri ise canlı hücreler tarafından gerçekleşen birikimdir (Macaskie, L.E. ve Dean, 1989).

Enzimler metabolik reaksiyonlarının pek çoğunu hızlandıran ve protein yapısında olan biyolojik katalizörlerdir. Hücrelerde organik maddelerin yapılması ve yıkılması, sindirim, kas kasılması, hücre solunumu gibi önemli faaliyetler çeşitli metabolizma reaksiyonlarının sonucudur ve bu reaksiyonlar enzimlerin katalitik etkisiyle mümkün olmaktadır. Enzimlerin kimyasal katalizörlerden en önemli farkı, özgül (spesifik) olmalarıdır. Genel olarak enzimler belirli maddeler arasındaki belirli reaksiyonları katalize ederler (Telefoncu, 1986; İnal, 1996; Shuler vd., 2002; Pekin, B., 1980).

Bu tez çalışmasının amacı, kesikli sistemde, *Candida lipolytica*, *Candida membranaefaciens*, *Candida tropicalis* ve *Candida utilis* mayalarının tekli ağır metal iyonu içeren melaslı besin ortamlarından ağır metal biyobirikimlerinin ve lipaz enzimi aktivitelerinin karşılaştırmalı incelenmesidir.

Çalışmanın ilk aşamasında mikroorganizmaların maksimum üreme gösterdiği optimum pH değeri sabit sakkaroz derişiminde araştırılmış, mikroorganizmalar için maksimum özgül üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimleri bulunmuştur. Mikroorganizmaların en yüksek lipaz enzimi aktivitesi ve metal biyobirikimleri ortama tekli bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının eklenmesiyle araştırılmıştır. Mikroorganizmaların tekli ağır metal iyonu içeren besin ortamlarındaki büyümesi, özgül üreme hızı ve maksimum üreyen derişimleri sabit sakkaroz derişiminde incelenmiştir. Mikroorganizma üremesi için kinetik sabitler Monod eşitliğinin kullanılmasıyla hesaplanmıştır.

Çalışmaların ikinci aşamasında mikroorganizmaların lipaz enzimi aktiviteleri, başlangıç sakkaroz derişiminin değiştirilmesiyle incelenmiştir. Ortama farklı derişimlerde eklenen tekli bakır (II) ve nikel (II) iyonlarının mikroorganizmaların lipaz enzimi aktivitesine olan etkisi araştırılmıştır.

Çalışmaların son aşamasında ise tekli bakır (II) ve nikel (II) iyonları farklı derişimlerde mikroorganizma üreme ortamına eklenmiş ve mikroorganizmaların ağır metal iyonu biyobirikimleri incelenmiştir. Ayrıca gram kuru mikroorganizma başına tutulan metal iyonu miktarları da hesaplanmıştır.

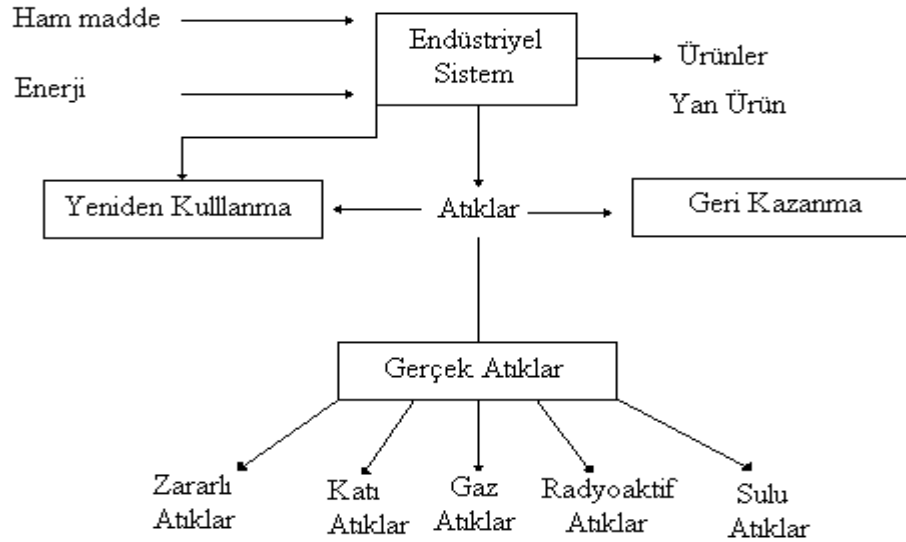
2. TEMEL BİLGİLER

2.1 Atık sular

2.1.1 Atık su ve genel özellikleri

Su kirliliği, su kaynağının fiziksel, kimyasal, bakteriyolojik, radyoaktif ve ekolojik özelliklerinin olumsuz yönde değişmesi şeklinde gözlenen ve doğrudan veya dolaylı yoldan biyolojik kaynaklarda, insan sağlığında, balıkçılıkta, su kalitesinde ve suyun diğer amaçlarda kullanılmasında engelleyici bozulmalar yaratacak madde ve enerji atıklarının boşaltılmasıyla oluşur.

Atık su ise, evsel, endüstriyel, tarımsal ve diğer kullanımlar sonucunda kirlenmiş veya özellikleri kısmen veya tamamen değişmiş sular ile maden ocakları ve cevher hazırlama tesislerinden kaynaklanan sular ve yapılaşmış kaplamalı ve kaplamasız şehir bölgelerinden cadde, otopark ve benzeri alanlarda yağışlarda yüzey veya yüzey altı akışa dönüşmesi sonucunda oluşan sular olarak tanımlanabilir. Şekil 2.1 de bir endüstriyel sistem ve bu sistemden en genel halde kaynaklanan atık türleri verilmiştir (Su Kirliliği Yönetmeliği, 1988; Tünay, O., 1996).



Şekil 2.1 Endüstriyel sistem ve atıklar

Atık sular, fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere üç tür kirlilik gösterirler. Suyun fiziksel özelliklerinin değişmesi (renk, koku, tat, bulanıklık, sıcaklık, pH v.s) fiziksel kirliliğe neden olur. Sıcaklık ve pH, nehirler ve göllerdeki bitkisel ve biyolojik hayatı etkileyen önemli parametrelerdendir. Yüksek sıcaklıkta çevreye bırakılan atık su, karıştığı nehir suyunun sıcaklığını doğal olarak arttıracaktır. Oksijenin yüksek sıcaklıkta, sudaki çözünürlüğü azalacağından, nehir

suyundaki oksijen miktarı, biyolojik hayat için yetersiz kalacaktır. Zamanla suda birikime sebep olan kurşun, cıva gibi ağır metaller, biyolojik yolla parçalanabilen organik maddeler ve inorganik atıklar atık suda kimyasal kirlilik yapar. Kimyasal kirlilik, genellikle sanayi atıklarının arıtılmadan sulara verilmesi sonucunda oluşur. Bazı endüstriyel atık sulardaki dayanıklı kirleticiler, alıcı su ortamında birikme, canlıların dokularında yoğunlaşma ve belli sınırlar üstünde canlılar üzerinde doğrudan toksik etki etme özelliklerine sahiptirler. Ayrıca endüstriyel atık suların sebep olduğu kirlenmelerde ekolojik denge bozulmasına daha çok rastlanmakta ve bu bozunma çoğunlukla geri dönüşü olmayan bir nitelik taşımaktadır.

Kimyasal kirleticiler özelliklerine göre üç sınıfta toplanabilir.

Bozulmadan kalanlar: Klorür gibi inorganik bileşiklerde zamanla parçalanma görülmez. Derişimleri alıcı suda zamanla artarken yağmur suyu ile azalır.

Değişebilenler: Biyolojik olarak parçalanabilen organik kirleticilerdir. Mikroorganizmalar tarafından parçalanarak inorganik kararlı maddelere dönüşürler.

Kalıcılar: Zamanla biyolojik birikime yol açan cıva, arsenik, kadmiyum, krom, kurşun, bakır gibi metaller, tarım ilaçları gibi organik maddeler ve uzun yarı ömürlü radyoaktif maddelerdir.

Atık su arıtımında temel amaç, suyun kirlilik derecesinin kullanım yerine göre istenilen düzeye indirilmesidir. Bu amaca yönelik olarak uygulanan başlıca üç çeşit arıtım yöntemi vardır.

1. Mekanik yöntemler: Bu yöntemler atık suyun içerdiği askıda kolloidal partikülleri ve diğer iri katı maddeleri sudan ayırarak, ileriki proseslere arıtılmak üzere hazırlayan yöntemlerdir. Bu yöntemler aşağıdaki gibi sıralanabilir.

i) Izgara ve Elekler: Atık suyun arıtım tesisine girişinde yer alan ilk işlemdir. Amaç, atık suda yüzen katı maddeleri uzaklaştırarak makinelerin etkilenmesini engellemektir. Eleklerde tutulan büyük parçalar daha sonra gömülür, yakılır veya küçük parçalara öğütülerek atık suya karıştırılır.

ii) Dengeleme Havuzları: Atık sularda debi, bileşim ve kirlilik yükünün zaman içindeki değişimlerinin dengelenmesini ve arıtma tesislerine giden atık su debisinin düzenli olmasını sağlar. Dengeleme havuzlarında bileşimin homojenleştirilmesi ve askıdaki katı maddelerin çökmesinin engellenmesi için karıştırma uygulanır. Diğer yandan, dengeleme havuzunda yapılan karıştırma ve havalandırma ile indirgenmiş bileşiklerin oksidasyonu ve biyolojik oksijen ihtiyacının azaltılması sağlanır.

iii) Çöktürme Havuzları: Katı-sıvı karışımından katı parçacıkların yerçekimi etkisiyle, karışımın bulunduğu kabın ya da havuzun alt kısmında toplanarak ayrılması işlemidir. Bu işlem, tesise giren kum, çakıl ve diğer organik ve inorganik katıların birincil çökeltme tanklarında ayrılmasında, suyun sertliğini gidermede kullanılan kimyasal maddelerin oluşturduğu yumakların ve çökeleklerin ayrılmasında, biyolojik proses sonucunda oluşan biyokütlenin ikincil tanklarda ayrılmasında uygulanır.

iv) Yüzdürme (Floatasyon): Atık sularda bulunan sıvı ve katı maddelerin yüzdürülerek su yüzeyinde toplanmasını ve sıyrılmasını sağlayan işlemdir. Yüzdürme işlemi sıvı ortama verilen gaz (genellikle hava) kabarcıklarının, yüzdürülecek tanelere tutunarak bunları yukarıya doğru birlikte hareket ettirmeleri şeklinde olur. Sudan daha hafif olan ve çökelmeyen yağ damlacıkları da bu yöntemle yüzeye taşınabilir. Böylece su yüzeyinde köpükler halinde toplanan katılar ve küçük yağ damlacıkları yüzeyden uzaklaştırılırlar.

v) Yağ Ayırma: Demir-çelik, metal kaplama, rafineri, maden arama endüstrileri atık sularının yağ içeriği gibi, çevreye değişik nedenlerle sızan yağlar da kanalizasyon suyuna sızabilir. Sonuçta yağ ayırma önemli bir işlem olarak ortaya çıkacaktır. Yağların ayrılmasında suyun özelliklerine göre farklı kimyasal (yumaklaştırma, çöktürme) ve fiziksel (yüzdürme, pıhtılaştırma) yöntemler kullanılmaktadır.

2. Biyolojik yöntemler: Bu yöntemlerde kendi ağırlığı ile çökemeyen asılı ya da koloidal tanecikler ile çözünmüş organik maddelerin mikroorganizmalar tarafından giderilmesi sağlanır. Mikroorganizmalar bu maddeleri aerobik koşullarda besin ve enerji kaynağı olarak kullanır. Organik maddelerin bir kısmı mikroorganizma hücrelerine, bir kısmı da enerjiye dönüşür. Biyolojik arıtma yöntemleri, sistemde oksijenin olup olmasına bağlı olarak, aerobik ve anaerobik olmak üzere ikiye ayrılır (Atımtay ve Yetiş, 1992).

3. Kimyasal ve fizikokimyasal yöntemler: Kimyasal arıtma prosesleri atık sudaki bileşiklerin kimyasal yapısını değiştirerek onları arıtmaya yarar. Kimyasal arıtma proseslerinde daha az zararlı veya zararsız atıklar oluşur. Kimyasal arıtım yöntemleri şu şekilde sıralanabilir.

i) pH ve nötralizasyon: Endüstriyel atık sular, kullanılan prosese göre asidik veya bazik karakter gösterir. Bu atıklara boşaltım işlemi yapılmadan ya da diğer arıtım yöntemleri kullanılmadan önce nötralizasyon işlemi yapılması gerekir. Bir biyolojik arıtım ünitesindeki optimum pH 6.5-8.5 arasındadır.

ii) Pıhtılaştırma ve topaklaştırma: Pıhtılaştırma ve topaklaştırma su ya da atık suda bulunan, askıda ya da koloidal maddelerin uzaklaştırılması amacıyla uygulanmaktadır. Bu maddeler alışılmış

çökeltme teknikleri ile çökelmeyen 10^{-7} - 10^{-9} cm parçacık büyüklüğünde ve bulanıklığa neden olan taneciklerdir. Pıhtılaştırmada en yaygın olarak kullanılan kimyasallar, alüminyum sülfat (şap) ve demir tuzlarıdır.

iii) Yumaklaştırma: Hızlı karıştırma sonrası yüzey yükleri en aza indirgenen ve aralarında itici güç bulunmayan parçacıkların bir araya getirilerek, daha büyük tanecikler oluşturmaları yumaklaştırma tankında gerçekleştirilir ve sonuçta çökeltme tankında çökmeleri sağlanır.

iv) Kimyasal çöktürme: Kimyasal çöktürmenin endüstriyel atı su arıtımında en yaygın uygulaması ağır metallerin giderilmesi amacına yöneliktir. Bu işlemde amaç, atık suda çözülmüş bileşikler halinde bulunan ağır metallerin en az çözünür hale dönüştürülmesi, ya da atık suda bulunan kimyasal dengenin çeşitli kimyasal maddeler eklenerek bozulup yeni bir kimyasal dengeye dönüştürülmesidir. Sönmüş kireç ($\text{Ca}(\text{OH})_2$), kostik soda (NaOH) ve soda (Na_2CO_3) kimyasal çöktürmede yaygın olarak kullanılan kimyasallardır.

v) Dezenfeksiyon: Su ya da atık suda bulunan hastalık yapıcı mikroorganizmaların öldürülmesi işlemidir. Bu amaçla; oksitleyici maddeler, ağır metal katyonları (Ag, Au, Hg), organik bileşikler, ısı, UV, pH gibi fiziksel faktörler uygulanabilmektedir (Atımtay ve Yetiş, 1992).

Aktif karbon adsorpsiyonu, iyon değişimi, çözücü ekstraksiyonu, ters ozmoz, elektrodializ, kimyasal indirgeme, yükseltgeme gibi fizikokimyasal yöntemler suların daha ileri düzeyde arıtılması için kullanılan diğer yöntemlerdir (Gurnham, 1965; Eckenfelder, 1966; Clark vd., 1971; Weber, 1972; Patterson, 1977).

2.1.1.1 Atık su parametreleri

Atık su özellikleri fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak gruplandırılabilirler. Bu özellikleri gösteren parametreler şunlardır.

2.1.1.1.1 Fiziksel parametreler

Atık suda bulunan katı maddelerin derişimi, suyun sıcaklığı, pH değeri, kokusu, rengi ve bulanıklığı atık suyun en önemli fiziksel parametrelerini oluşturur. Atık suda bulunan toplam katı madde, çökebilir katı, askıda katı ve çözülmüş katı içerir. Askıda katı kaba kirleticilerin göstergesi olup basit fiziksel arıtım yöntemleri ile arıtılabilirler. Çökebilir katı, yer çekimi etkisi ile çöker ve atık suyun membran filtrelerden süzülmesi esnasında filtre üzerinde tutunurlar. Çözülmüş maddeler ise atık suların membran filtreden geçirilmesinden sonra atık sularda kalan maddelerdir. Sıcaklık ve pH nehirlerde ve göllerdeki bitkisel ve biyolojik hayatı etkileyen önemli parametrelerdir. Bu

iki parametre, çözülmüş oksijen ve biyolojik oksijen ihtiyacı gibi birçok kalite parametresinin değerini belirleyici rol oynar.

Koku ölçümü insanın koku alma hassasiyetine bağlı bir parametredir. Taze kullanılmış sular hoş olmayan küf kokuludur. Başka kokular endüstri atıklarının veya septik ev atıklarının suya karıştığına göstergesidir.

Çizelge 2.1 Organik madde içeren atık suların şehir atık su alt yapı tesislerine deşarjında öngörülen atık su standartları (Uslu ve Türkman, 1987; Su Kirliliği Yönetmeliği, 1988)

| Parametre | Birim | İzin verilen limit değer |
|---------------------------------|--------------------|---|
| Sıcaklık | $^{\circ}\text{C}$ | 40 |
| PH | (mg/L) | 6.5-10.0 |
| Askıda katı madde | (mg/L) | 500 |
| Yağ ve gres | (mg/L) | 250 |
| Kimyasal oksijen ihtiyacı | (mg/L) | 4.000 |
| Sülfat | (mg/L) | 1.000 |
| Sülfür | (mg/L) | 2 |
| Fenol | (mg/L) | 10 |
| Pestisid | (mg/L) | 0.5 |
| Kloroform | (mg/L) | 200 |
| Bromoform | (mg/L) | 100 |
| Monokloroasetik asit | (mg/L) | - |
| Trikloroasetik asit | (mg/L) | 100 |
| Siyanür | (mg/L) | 70 |
| 2,4,6-triklorofenol | (mg/L) | 200 |
| Katran ve petrol kökenli yağlar | (mg/L) | 50 |
| Yüzey aktif maddeler | (mg/L) | Biyolojik olarak parçalanamayan yüzey aktif madde boşaltımı yasaktır. |

Suyun bulanıklık derecesi (türbiditesi), çok güvenilir olmamakla beraber suyun içerdiği katı maddenin derişimi hakkında bilgi verebilir. Bulanıklık derecesi, sudaki katıların belli şiddetteki ışığı absorbe etme derecesi veya ışığı dağıtma derecesi cinsinden ifade edilir. Suyun içindeki askıda koloidal katıların suya verdiği renge “zahiri renk” denir ve bu renk genellikle gridir. Atık sularda görülen diğer renkler suya endüstriyel atıkların katıldığına göstergesidir.

Çizelge 2.1 de organik madde içeren atık suların şehir atık su alt yapı tesisine deşarjında öngörülen atık su standartları görülmektedir.

2.1.1.1.2 Kimyasal parametreler

Atık suyun kimyasal özelliklerini, içerdiği çözülmüş organik maddeler, toksik maddeler, azotlu ve fosforlu maddeler belirler. Atık sularda biyolojik olarak bozunabilen organik maddeler üç grupta toplanırlar:

Proteinler (yüksek molekül ağırlıklı aminoasitler)

- Karbonhidratlar (şeker, nişasta, selüloz)
- Lipidler (sıvı ve katı yağlar)

Tipik bir evsel atık suyun organik kısmı, %40-60 protein, %25-30 karbonhidrat ve %10 lipid içerir. Atık suyun içerdiği organik maddeler BOİ (Biyolojik Oksijen İhtiyacı), KOİ (Kimyasal Oksijen İhtiyacı), TOİ (Toplam Oksijen İhtiyacı), TOK (Toplam Organik Karbon) gibi kimyasal parametreler cinsinden ifade edilir. Atık suların içerdiği inorganik bileşikler ise toksik olmayıp, ancak çok yüksek dozlarda kirletici olarak düşünülebilirler. Kum, çakıl ve mineral tuzlar inorganik katılar arasında sayılırlar (Akpınar, D., 1998)

Fenol ve türevleri önemli kirleticilerdendir. Zehirleyici etkiye sahip olmaları nedeni ile biyolojik bozunmayı kısıtlandırmaktadırlar. Ayrıca sularda kötü tat ve kokmaya neden olurlar. Ayrıca atık sularda çeşitli derişimlerde çözülmüş gazlar da bulunur. Oksijen yüzeysel havalanma sonucu suya geçer ve atık su arıtımında çözülmüş oksijen miktarı önemli bir kimyasal parametredir (Koçhisar, N., 1989).

2.1.1.1.3 Biyolojik parametreler

İçme ve kullanma suyunun güvenilir olup olmadığını ve kalite kriterini sağlayıp sağlamadığını kontrol etmek için bakteriyolojik testler yapılır. Sularda bulunabilecek tek hücreli veya çok hücreli patojenik organizmaların miktarı bu testlerle belirlenir. En çok rastlanan patojen türleri koli basili ve streptokoktur. Sağlığa zarar vermeden suyun kullanılabilmesi açısından bu ölçümler büyük bir önem taşır (Akpınar, D., 1998).

2.1.2 Ağır metal kirliliği içeren atık sular ve arıtım yöntemleri

Yoğunluğu 5 g/cm^3 civarında olan metaller ağır metal olarak tanımlanmıştır. Bu tanımlama altında, bu gruba ait 69 elementten 16'sı sentetiktir ve bu metal iyonları kimyasal özellikleri bakımından çok farklıdır. Bu metaller (Antimon, arsenik, kadmiyum, krom, kobalt, bakır, demir, kurşun, cıva, nikel, gümüş, talyum, kalay, vanadyum ve çinko gibi) ciddi organik kirliliklere neden olur. Bu metaller son yıllarda yapılan sınıflandırmayla elektronegatiflikleri, yükleri, metal iyonlarının iyonik yarıçapı ve ligant/iyon kompleksinin yapısını tanımlayan denge sabitleri bakımından üç grupta sınıflandırılabilir (Kahvecioğlu, Ö., Güven, A., Kartal, G., Timur, S.)

(1) A grubu metaller ligantların oksijen içerme tercihlerini gösterir.

(2) B grubu metaller ligantların nitrojen ve sülfür içerme tercihlerini gösterir.

(3) A ve B grubu arasındaki özelliklere sahip olan metaller onların Lewis asit özelliklerini yansıtırlar.

Bazı metal iyonları, örneğin; bakır, demir, çinko ve krom gibi, yaşamımızın temelini oluşturmasına rağmen, bu metal iyonlarının aşırı alımı yaşayan organizmalarda zehirleyici etki gösterir. Metal iyonları besin zinciri boyunca transfer edilir ve sonunda insan vücuduna girer. Diğer yaşayan organizmalar için metal iyonlarının toksik hareketleri biyolojik döngüdeki ekolojik süreçlerde sorunlara neden olur. Bu metal iyonları doğal dönüşüm süreçlerinin olmadığı bir çevreye yayıldıkları zaman çevredeki metal iyonu derişimi, ekosistem ve insan sağlığını tehdit eden riskleri bir derece daha arttıracaktır (Baş, L., Demet, Ö.).

Metal iyonları çeşitli yollar ile çeşitli kaynaklardan hava, su ve toprağa geçerler. Bunlar doğal kaynakların madencilik, tarımsal aktiviteler, endüstriyel süreçler ve kent yaşamındaki aktiviteler gibi insani aktivitelerden doğal salınımı içerirler. Bu metal iyonları atık sular, tarım ilaçları, gübreler, koruyucular, kanalizasyon suları ve madencilik ile çevreye yayılırlar.

2.1.2.1 Fizikokimyasal metotlar

Klasik fizikokimyasal metotlar kimyasal çökelme, kimyasal oksidasyon ve redüksiyon, iyon değişimi, elektrokimyasal redüksiyon, ters ozmoz, donma kristalizasyonu, elektrodializ, sedimentasyon ve nişasta ksantik adsorpsiyondur. Bu metotlar, yüksek işletim maliyeti ve katı atıkların sürekli üretilmesinden dolayı genellikle pahalıdır ve metal iyonlarının (1-100 mg/L) düşük derişimlerdeki büyük hacimli çözeltilerinde metal iyonları çözüldüğü zaman etkili değildir.

Ters ozmoz (RO) ozmatik basıncın üstesinden gelmek için yüksek basınç uygulamaları üzerinde temellenir. Metal-iyon yükü atık suyun kap içindeki membran boyunca geçişini sağlar. Metal iyonu içeren atık sular, saflaştırma, buhar geçişi ve metal çözeltisinin konsantre buharından seçici geçirgen olarak ayrılabilir.

Çöktürme atık su arıtımında en yaygın ve geniş kullanım alanına sahip bir metottur. Atıklardaki istenmeyen metal iyonlarına kalsiyum hidroksit ya da sodyum hidroksit eklenerek, metal iyonları metal hidroksidazları olarak çöktürülebilir. Bu metaller aynı zamanda sodyum sülfid, sodyum hidrosülfid ya da demir sülfid eklenmesi ile çözünmeyen metal sülfidler olarak çöktürülebilir. Bu çözünmeyen çökelekler daha sonra koagülasyon ajanları eklenerek sedimentasyon tankına gönderilir. Son olarak sulu çamur uzaklaştırılır ve saflaştırılan akıntı kanalizasyon sistemine boşaltılır.

İyon değişimi stokiyometrik ve tersinir bir kimyasal reaksiyondur. Tutuklanan matriksde inorganik zeolitler, sentetik reğine materyalleri ya da aktif karbon doğal olarak bulunabilir. Bunlar iyon değiştirici sistemindeki kolonun içinde gerçekleşir.

2.1.2.2 Biyolojik metotlar

2.1.2.2.1 Metal iyonlarına karşı mikrobiyal direnç

200 yıl önceden başlayıp endüstrileşmeden beri, antropojenik aktiviteler dolayısı ile dünyanın yüzeyindeki metal iyonlarının dağılımında büyük değişiklikler olmuştur. Bakteriler bu değişimlere adapte olmuştur. Öncelikle bu adaptasyon ekstrem çevrede yaşayan organizmalar için doğal bir yetenektir. Aynı zamanda direnç kolaylıkla plazmidlerden meydana gelebilir. Metal iyonlarına karşı direnç stratejileri birçok mekanizmayla meydana gelebilir (McCarty, P., 1964)

(a) Hücre içindeki toksik maddelerin seviyesini korumak için aktif geçiş sistemlerinin geliştirilmesiyle gerçekleşir.

(b) Enzimatik ortamdaki oksidasyon ve redüksiyon toksikantları düşük toksik yapılara dönüştürür.

(c) Hücre içi ya da hücre dışı biyolojik bileşiklerin biyosentezi ile zeltiden metal iyonlarının uzaklaştırılması sağlanır. Sideroforez çeşitli organizmalarda bulunan düşük molekül ağırlıklı demir bağlı bileşikleri referans olarak gösterir. Bazı hücre dışı biyolojik bileşikler demiri ayırma yeteneğine sahiptir.

(d) Metal iyonları bakterilerin hücre yüzeyine bağlanır.

(e) Bakteriyel hücre yüzeyinde znmeyen metal tuzlarının okmesi sülfat redüktaz ve oksijen, hidrojen gibi oksidasyon ajanlarının biyosentezi ile olur.

(f) Difüzyon kontrol prosesi ile biyometilaston ve hücre membranı boyunca geçiş görülür.

Genellikle, mikroorganizmalar hem metallere olan direnci hem de ucuz olmasından dolayı metal iyonlarının uzaklaştırılmasında sıklıkla kullanılır. Canlılar içinde bakteriler, aşırı yüksek tuz koşullarına karşı en büyük toleransa sahiptir. Bakteriler doygun tuz zeltelerinde yaşayabilirler ve iyi bir adsorplama özelliği gösterirler. Adsorpsiyon büyük oranda difüzyona ve hücre yüzey alanının hacimsel oranına bağlı olduğu için zeltideki metal iyonlarının okmesine neden olur.

Bu yapısal ve fonksiyonel basitlik, bakterinin çoğalma zamanının kısa olması, metal iyonlarını uzaklaştırma mekanizmasında ve bakterinin metal iyonu biriktirme yeteneğinde önemli rol oynayan genetik yapının geliştirilmesi için kolaylık sağlar.

2.1.2.3 Metal toksikolojisi

Biyolojik açıdan metaller üç gruba ayrılabilir:

- Sıvı ortamlarda normalde hareketli katyonlar olarak hafif metaller (sodyum, potasyum, kalsiyum vb.)
- Düşük konsantrasyonlarda gerekli fakat yüksek konsantrasyonlarda toksik olan geçiş elementleri (demir, bakır, çinko, kobalt ve mangan)
- Metabolik aktivite için genelde gerekli olmayan fakat oldukça düşük konsantrasyonlarda hücrede toksik etki yapan metaloidler (civa, kurşun, kalay, selenyum, arsenik)

Bunlardan geçiş elementleri ve metaloidler genelde “ağır metal” olarak adlandırılır. Bu elementler, çeşitli evrensel ve endüstriyel aktiviteler sonucunda doğaya salınmakta ve canlı sistemleri için toksik etki yapabilmektedirler. Vücut için gerekli olan eser miktarlardaki metaller metabolize edilebildiği halde, gerekli olmayanlar metabolize edilemezler. Vücut için gerekli olmayan ağır metaller parçalanarak toksisiteyi azaltılamaz ve vücuttan atılamazlar. Dolayısıyla, bu metaller metabolik fonksiyon göstermediklerinden, hücreler için toksiktirler. Bu metallerin hücre içine alınmaması için selektif bir mekanizma söz konusu değildir (Kahvecioğlu, Ö., Güven, A., Kartal, G., Timur, S.)

Endüstriyel, tıbbi ve tarımsal amaçlı kullanılan metaller insan vücuduna başta besinler olmak üzere birçok yoldan alınmaktadır. Böylece vücut metal yükü oluşmakta, bazıları vücutta birikerek konsantrasyonlarını arttırmaktadır. Metallerin toksik etkileri, her metalin özelliğine göre değişmektedir. Ayrıca, ağır metallerin toksisitesi metalin taşıdığı yüke ve suda veya yağda çözünür olmasına göre de değişir. Ancak genel olarak bütün metaller birden fazla organ ve sistemi etkilemektedir (So, C.M.,1993).

2.1.2.4 Bakır(II) kirliliği içeren atık sular ve arıtım yöntemleri

Maden, metal kaplama, elektrokaplama, metal işleme, boya, amonyum-rayon ve petrokimya endüstrileri atık sularında istenmeyen derişimlerde bakır(II) kirliliğine rastlanmaktadır (Drzymala ve ark., 2003). Bakır(II) iyonunu içeren atık sulardaki bakır; bakır(I), bakır(II), bakır(III) iyonları (çok düşük derişimlerde) ve CuCO_3 (aq) şeklinde veya bakırın organik kompleksleri şeklinde bulunur. Bakır düşük pH aralığında (pH 2.0-4.5) bakır(II) olarak bulunurken, daha yüksek pH'larda (pH 8.0-11.0) CuCO_3 şeklindedir. İndirgeyerek çöktürme, iyon değiştirme,

buharlaştırarak geri kazanma ve elektroliz gibi yöntemler ile bu iyonların atık sudan arıtımı sağlanır. Çizelge 2.2’de ise bazı endüstriyel atık sularda yer alan bakır(II) derişimleri görölmektedir (Gurnham, 1965; Diamadopoulas ve ark., 1972; Cheremisinoff ve Ellerbusch, 1978; Aksu, 1988; Gönenç, 1991; Kim ve ark., 2003).

Çizelge 2.2 Bazı endüstriyel atık suların içerdiği bakır(II) derişimleri (Gurnham, 1965; Diamadopoulas vd., 1972; Cheremisinoff ve Ellerbusch, 1978; Aksu, 1988; Gönenç, 1991; Kim vd. ,2003)

| Proses | Bakır(II) (mg/L) |
|----------------------------------|---------------------|
| Kaplama banyosu | 20-120 |
| Bakır kaplama banyo suları | 183 |
| Otomobil ısıtma sistemleri | 24-33 |
| Altın cevheri ekstraksiyonu | 20 |
| Asidik maden drenajı | 51.6-128 |
| Boya ve mürekkep formülasyonu | 0-100 |
| Porselen kaplama | 0-12 |
| Bakır kaynak tel kaplama banyosu | 3640 |

2.1.2.5 Nikel(II) kirliliği İçeren atık sular ve arıtım yöntemleri

Kaplama banyoları, plastik kaplama, çelik, pil ve boya endüstrileri atık suları yüksek derişimlerde nikel(II) iyonlarını içerir. Nikel(II) atık sularda çoğunlukla pH 2.0-4.5 aralığında nikel(II) olarak bulunurken aynı pH’larda düşük derişimlerde nikel(I) ve nikel(III) olarak da bulunabilir. Nikel(II) iyonlarının arıtımında kullanılan klasik yöntemler çöktürme, iyon-değişirme, buharlaşma ve ters ozmozdur. Çizelge 2.3’te bazı endüstrilerin içerdiği nikel(II) derişimleri görölmektedir (Gurnham, 1965; Patterson, 1977; Gönenç, 1991).

Çizelge 2.3 Bazı endüstriyel atık sularındaki nikel(II) derişimleri (Gurnham, 1965; Patterson, 1977; Gönenç, 1991).

| Proses | Nikel(II) (mg/L) |
|----------------------------------|---------------------|
| Kaplama banyoları | 2.0-900.0 |
| Asidik Maden Drenajı | 0.01-5.6 |
| Boya ve mürekkep formülasyonu | 0-40.0 |
| Bakır sülfat üretimi | 22.0 |
| Metal bitirme işlemleri atıkları | 17.0-51.0 |
| Porselen kaplama | 14.0 |
| Plastik kaplama | 30.0-40.0 |
| Altın cevheri ekstraksiyonu | 1.4 |
| Nikel(II) kaplama banyoları | 134.0 |

2.2 Mikroorganizmalar

2.2.1 Mikroorganizmaların genel özellikleri

Canlılar alemi genel olarak üç grupta incelenebilir.

1. Protista: Bu gruptaki canlılar da iki sınıfa ayrılırlar.

Prokaryotlar: En ilkel tek hücreli canlılar olan bu grubun başlıcaları, bakteriler, virüsler ve mavi-yeşil alglerdir.

Ökaryotlar: Prokaryotlardan daha gelişmiş canlılar grubudur. Hücre yapılarında farklılıklar vardır. Mantarlar (şapkalı mantarlar, küfler ve mayalar), tek hücreli hayvanlar (protozoalar) ve su yosunları (algler) bu gruba girerler (Pekin, 1983).

2. Bitkiler

3. Hayvanlar

Bu üç grupta yer alan canlıların çoğu biyokimya mühendisliğinde oldukça önem taşırlar ve çeşitli ürünlerin eldesi, enzim ve protein ayırma ve saflaştırma, genetik ve medikal uygulamalar, atık suların arıtılması gibi birçok amaç için geniş ölçüde kullanılırlar. İkinci ve üçüncü grupta yer alan canlılar gelişmiş canlılardır. Birinci grupta yer alan ve ancak mikroskop altında görülebilen ve çoğunlukla tek hücreli olan canlılar mikroorganizma olarak adlandırılır. Mikroorganizmalar

doğada, su ve toprakta, bazı gıda maddelerinde, gelişmiş canlıların deri ve bağırsaklarında, organik maddelerde hemen her yerde bulunurlar (Pekin, 1983; Aksu, 1988; Walker, 2000).

Mikroorganizmaları çeşitli şekillerde gruplandırabilmek mümkündür. Kullandıkları besin yönünden inorganik hammadde kullanarak çoğalan mikroorganizmalara litotrof, organik besin kullanarak çoğalanlara organotrof denir. İhtiyacı olduğu karbonu organik bileşiklerden sağlıyorsa hetotrof, CO₂'den sağlıyorsa ototrof mikroorganizma denir. Enerji kaynağı olarak güneş ışığı kullananlara fototrof, enerjiyi kimyasal maddelerden sağlayan mikroorganizmalara kemotrof denir. Ayrıca oksijen ihtiyacına göre de aerobik, anaerobik, fakültatif ve mikroarofilik olmak üzere dört gruba ayrılırlar (Rybicki, E.P., 1990)

Mikroorganizmalar yapılarında (virüsler hariç) yaklaşık %75-80 oranında su içerirler. Bakteri, maya ve tek hücreli alglerin kuru ağırlıklarının %50'si proteinden oluşur. Mantarlar gibi daha karmaşık mikroorganizmaların hücre duvarını oluşturan inert polisakkarid bileşikler ise, kuru ağırlıklarının büyük oranını oluşturur. Virüsler hariç bütün mikroorganizmaların diğer bir önemli bileşeni de lipidlerdir.

Mikroorganizmalar uygun koşullarda büyür, gelişir ve çoğalırlar, uygun olmayan ortamlarda üreyemezler, ya ölürler ya da bu ortamlara dayanacak şekiller oluştururlar. Mikroorganizmaların gelişmesi ve üreyebilmesi için gerekli şartları sağlayan (ortam pH'ı, nemlilik, oksijen ve çeşitli derişimlerde kimyasallar) ve gerekli maddeleri içeren ortama besi ortamı denir.

2.2.2 Mikroorganizmaların büyümesi

Her mikroorganizma grubu farklı şekilde büyür ve aynı besin maddesini farklı metabolik yollarla kullanabilir. Çoğalmaları için farklı büyüme ortamlarını tercih eden mikroorganizmalar, hücre içerisinde de farklı kimyasallar içerebilirler. Üstte de denildiği gibi virüsler haricindeki mikroorganizmaların yaklaşık %75- 80'ni su oluşturur. Bakteriler, maya ve tek hücreli algler kuru ağırlıklarının yarısı kadar protein içerebilirler ve bu proteinlerin çoğu enzim yapısındadır.

Mikroorganizmaların üremesini etkileyen en önemli faktörlerden biri de ortamdaki besin maddeleridir. Özellikle şeker (glukoz, sakkaroz, laktoz, maltoz, fruktoz) türü maddeler mikroorganizmaların büyümesini etkileyen büyümeyi sınırlayan ana besin maddesidir. Ayrıca mikroorganizmalar azot, potasyum, fosfor, kalsiyum, magnezyum gibi maddelere de ihtiyaç duyarlar.

2.2.2.1 Enerji kaynağı

Mikroorganizma, büyüme ve sentez için gerekli enerjiyi, karbon kaynağı olarak karbondioksiti veya çözeltildeki bikarbonatları kullanarak içerdiği klorofil a ve b pigmentleri katalizörlüğünde güneş enerjisinden sağlar. Karanlıkta ise gerekli enerjiyi glukoz ve sakkaroz gibi organik kökenli karbon kaynaklarından temin eder. Bunlar nişasta, şeker, organik asitler, yağlar ve hidrokarbonlardır. Fakat aynı karbon kaynaklarını parçalama şekilleri mikroorganizmadan mikroorganizmaya çok değişiklik gösterir. Ekseri mayalar nişastayı ya hiç ya da yeter derecede hızlı parçalayamadıkları halde, şekerleri kolaylıkla parçalayabilirler. Birçok hallerde, hidrokarbonlarda olduğu gibi, parçalanma ilk defa parçalayıcı enzimlerin substrata adaptasyonlarından sonra meydana gelir. Yüksek sıcaklıklarda yaşayamayan mikroorganizma 20-25°C ve pH 7.0 değerinde en verimli üremeyi gösterir (Ralph, 1967; Aksu, 1988).

2.2.2.2 Azot kaynağı

Azot kaynağı olarak birçok hallerde NH_4^+ ve NO_3^- gibi anorganik azotlu maddeler asimile edilebilir. Başka hallerde ise organik azot kaynakları daha iyi değerlendirilir. Örneğin ürün, pürin, çeşitli aminoasitler, pepton, maya ekstraktı ve protein bu gibi maddelerdir.

2.2.2.3 Mineral kaynağı

Mikroorganizmalar azot ve karbon kaynaklarından farklı olarak element halinde O, H, P, S, K, Ca, Mg, Fe ve kısmen iz element olarak Mn, Cu, Zn, Mo, Co, Ni, V, B ve Na isterler. Bu iz elementlerin pek çoğu diğer tuzlar ve kompleks maddeler içinde bulaşmış bir halde bulunurlar (Pekin, 1983).

2.2.3 Mikroorganizmanın büyümesine etki eden parametreler

2.2.3.1 pH

Hidrojen iyonu derişimi (pH) mikrobiyal üreme hızını, dolayısı ile enzimlerin aktivitesini etkiler. Üreme için optimum pH, ürün oluşumu için olan optimum pH'dan farklı olabilir. Genellikle kabul edilebilir pH aralığı optimumdan ± 1 ile 2 pH birimi kadar değişebilir. Farklı mikroorganizmalar farklı pH optimumlarına sahip olabilir; bir çok bakteri için optimum pH 3.0–8.0 arasında değişir, mayalar için 3.0–6.0, küfler için 3.0–7.0, bitki hücreleri için 5.0–6.0, hayvan hücreleri için 6.5–7.5 arasında değişir. Birçok organizma, çevresel pH'da düzensizlikler oluştuğunda, hücre içindeki pH'ı göreceli olarak sabit bir değerde tutmak için mekanizmalara sahiptir. pH optimum değerinden farklılık gösterdiğinde, organizmanın varlığını sürdürme enerji gereksinimleri artar. Farklı mikroorganizmaların, farklı pH optimumlarına sahip olmaları nedeniyle, ortam pH'ı üremesi istenen mikroorganizma türüne seçimlilik sağlamak için kullanılabilir.

Çoğu fermantasyonlarda pH önemli ölçüde değişebilir. Azot kaynağı önemli olabilir. Eğer amonyum tek azot kaynağı ise, hidrojen iyonları amonyağın mikrobiyal kullanımının bir sonucu olarak, pH'da gözlenen bir azalma ile birlikte, ortama serbest bırakılabilir. Eğer nitrat tek azot kaynağı ise, hidrojen iyonları, pH'da gözlenen bir artış ile birlikte nitrati amonyağa indirgemek için, ortamdaki uzaklaştırılır. Aynı zamanda pH, organik asitlerin üretimi, asitlerin özellikle de aminoasitlerin kullanımı veya bazların üretimi nedeni ile de değişebilir. CO₂'in ortama eklenmesi veya ortamdaki uzaklaştırılması, deniz suyu veya hayvan hücre kültürü gibi bazı sistemlerde pH'ı önemli ölçüde değiştirebilir. Bir tampon veya aktif pH kontrol sistemi aracılığı ile pH kontrolü önemli olabilir (Shuler ve Kargı, 2002).

2.2.3.2 Sıcaklık

Mikroorganizmalar için diğer önemli bir koşul sıcaklıktır. Her mikroorganizma için belli sıcaklık sınırları içinde bir gelişme optimumu vardır. Sıcaklık, mikroorganizma ortamının içerisindeki çözünmüş oksijen derişimini, buna bağlı olarak biyolojik aktiviteyi oldukça fazla etkilemektedir. Her mikroorganizma için belli sıcaklık içinde bir gelişme optimumu vardır. Bu her zaman belli bir metabolizma ürününün optimum oluşumu ile uyum halinde bulunmaz. Sıcaklık mikroorganizmanın gelişmesinde yalnız bir koşul değil aynı zamanda bir sterilizasyon aracıdır.

2.2.3.3 Oksijen ihtiyacı

Mikroorganizmanın gelişmesinde çok önemli bir faktör de oksijendir. Ayrıca mikroorganizmaların verimli gelişimi için, karıştırma ile substratla devamlı teması da sağlanmalıdır (Pekin, 1983; Kargı, 1993; Walker, 2000). Birçok fermantasyon olaylarında başlangıçta substratta mevcut olan oksijen CO₂ veya H₂ oluşmasıyla substrattan veya substrat üstündeki hava tabakasından sürülüp atılır. Bazı durumlarda daha iyi bir oksijensiz koşul yaratmak için fermantasyon sıvısı içine CO₂ - N₂ sevk edilir (Shuler ve Kargı, 2002).

2.2.4 Mikroorganizmaların büyüme evreleri

Bakterilerin bir çok maya ve küf mantarlarının gelişmesinde aşağıdaki evreler gözlemlenebilir (Şekil 2.2).

2.2.4.1 Gecikme evresi

Belirli bir besin ortamına ekilen mikroorganizmalar yeni ortama uyum gösterip çoğalmaya başlayıncaya kadar belirli bir süre geçer. Bu sırada hücre sayısında hemen hemen hiçbir artış gözlenmez. Bu süreye gecikme evresi adı verilir. Bu sürenin uzunluğu aşılana bakterinin yaşı ve besiyerinin iyi seçilmesine bağlıdır. Gecikme evresinden sonra mikroorganizma sayısı yavaş yavaş

artmaya başlar. Mikroorganizma sayısı belirli bir düzeye ulaşıncaya kadar da geçiş evresi diye adlandırabileceğimiz ara evre devam eder.

2.2.4.2 Logaritmik evre

Bu evrede mikroorganizmaların canlı, genç ve dinç olduğu kabul edilir. Logaritmik evrede mikroorganizmalar üstel olarak arttığı için kesikli kültürlemede ortamdaki besinler giderek azalır. Ortamda inhibe edici ürünlerde oluşabileceği için maksimum derişime ulaşılmayabilir.

2.2.4.3 Duraklama evresi

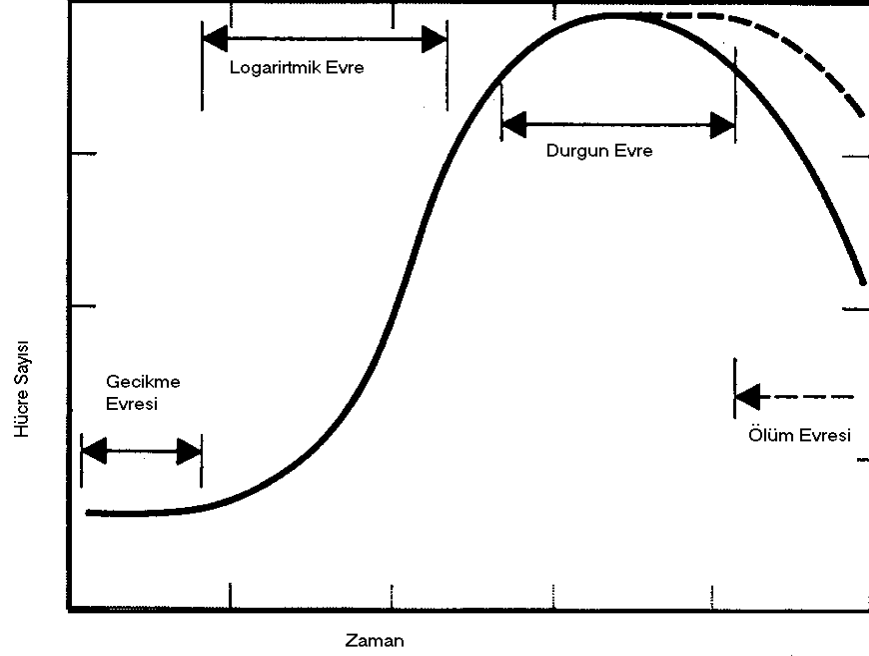
Logaritmik evreden sonra mikroorganizmaların yaşlanması ve ölüm olayının belirginleşmesi nedeni ile çoğalmada yavaşlama yani logaritmik evreye kıyasla çoğalma hızında azalma gözlenir. Buna duraklama evresi denir.

2.2.4.4 Sabit evre

Bu evrede kimi mikroorganizmalar ürer, kimileri ölür ve bazıları da çoğalmadan yaşamlarını sürdürür. Bu üç etken birbirini dengelediği için mikroorganizma sayısında zamana göre net bir artış gözlenmez.

2.2.4.5 Ölüm evresi

Mikroorganizmaların dışa salgıladığı enzimlerden dolayı hücre zarlarında parçalanma ve hidroliz olayları belirgin bir hal alır. Hidrolitik ve lipolitik enzimlerin meydana getirdiği bu olaya genel olarak 'Lisis' denir (Pekin, 1983; Shuler ve Kargı, 2002).



Şekil 2.2 Mikroorganizma büyüme evreleri

2.3 Mayalar

Mayalar mantar ailesinin geniş bir bölümünü oluştururlar. Doğada çok yaygın olarak bulunan mayaların hücre yapıları büyük oranda proteinler, polisakkaritler, lipidler ve nükleik asitlerden oluşur. Hücre büyüklüğüne göre bakterilerle yüksek mantarlar arasında yer alırlar (Shuler ve Kargı, 2002). Maya hücre zarı ise genellikle protein, lipid ve fosfat yapıdadır. Genel olarak maya hücrelerinin %75'i su geri kalanı ise diğer maddelerdir. Diğer maddelerin yaklaşık yarısını proteinler, geri kalan kısmını da karbohidratlar, yağlar, aminoasitler, peptidler, vitaminler ve enzimler oluşturur. Mayalarda bulunan enzimler hidrolazlar ve desmolazlar olarak iki ana gruba ayrılabilir. Hidrolaz enzimleri karbohidrolaz, proteaz ve esterazlardır. Karbohidrolazlardan olan glikonaz yedek besin maddesi glikojeni glikoza, sakkarozu glikoz ve fruktoza, maltaz maltozu glikoza dönüştürür. Proteazlar yüksek moleküllü proteinleri hidrolize ederek parçalayan enzimlerdir. Esterazlardan olan lipaz, yağları hidroliz eder, fosfataz ise fosforik asitin organik bileşimlerini parçalayarak fosforik asit açığa çıkarır. Desmolaz enzimleri yükseltgenme ve

indirgenme tepkimelerini katalizler. Ayrıca hücre zarında permaazlarda denilen ve dış ortamdan hücre içerisine madde transferini sağlayan enzimler de bulunmaktadır.

Mayaların üremeleri bölünerek ya da tomurcuklanarak olmaktadır. Bölünerek çoğalan maya hücreleri, hücre ortasından bölünerek bir ara bölme oluşturur ve buradan hücre ikiye ayrılarak aynı büyüklükte iki yavru hücre oluşur. Tomurcuklanarak çoğalan mayalar uygun çevre koşulları bulurlarsa tomurcuklanma ile bir hücreden bir veya daha çok çıkıntı meydana gelir ve bunlar yeni hücreler halinde gelişir. Gelişen bu hücreler daha sonra ana hücreden ayrılır. Tomurcuklanarak çoğalan bir maya hücresi yaklaşık 50-55 defa tomurcuklanabilmektedir (Barnett, J.A., Payne, R.W., Yarrow, D., 1990).

Maya hücreleri, hücre boyutları, şekilleri ve renkleri bakımından geniş bir dağılım gösterirler. Hücre biçimleri genellikle küresel, elipsoidal, uç kısımları küresel silindirik (limon yapısına benzer) veya oval olabilmektedir. Mayaların hücre çapları bazı türlerde farklılık göstermesine karşın, genellikle 1-10 µm aralığında değişmektedir.

Mayaların gelişebilmeleri ve aktivitelerini devam ettirebilmeleri için bazı ortam şartlarına ve bazı besin maddelerine ihtiyaçları vardır. Mayaların üremelerini etkileyen en önemli ortam şartları pH, sıcaklık ve havalandırmadır. Mayalar asidik ortamda gelişebilen mikroorganizmalardır. Mayalar için en uygun üreme pH'ı 4.0-4.5'tir. Ayrıca mayalar 0-50°C arasında değişen geniş bir sıcaklık aralığında üreyebilir. Mayadan mayaya fark etmesine rağmen genellikle hepsi en iyi üremeyi 25-27°C'de gösterir. Ancak daha düşük ve yüksek sıcaklık maya aktivitesini ve üremesini oldukça yavaşlatır. Mayaların üremesini etkileyen bir diğer etken ise havalandırmadır. Mayalar havalandırılmalı ve havasız ortamda üreyebilirler. Ancak havalandırılmalı ortamda daha hızlı ürerler. Havasız ortamda ise besin maddesini ürüne (etil alkol) dönüştürürler. Maya büyümesine ortam şartları dışında bazı besin maddeleri de doğrudan etki eder. Heterotrof bir mikroorganizma olan mayaların en önemli ve üremesini kısıtlayan ve kontrol eden besin maddesi karbonhidratlardır. Bu karbonhidrat kaynağı glukoz, sakkaroz, fruktoz, mannoz veya laktoz olabilir. Mayaların üremesine etki eden bir diğer önemli madde ise azottur. Bunun yanında potasyum, fosfor, kalsiyum, magnezyum gibi maddelere de ihtiyaç duyarlar (Şahinkaya H., 1964).

Tipik bir maya hücresini oluşturan kısımlar ve içerdikleri organellerin işlevleri aşağıda açıklanmaya çalışılmıştır (Pekin, 1983; Walker, 2000):

Hücre duvarı: Maya hücresinin en dış tabakasında bulunan hücre duvarı hücreye şekil verir ve hücreyi korur. Hücre içi ve dış ortam arasındaki ozmotik basınç dengesini sağlar. Başta su olmak üzere hücre içine giren maddelerin kontrolünü hücre duvarı yapar. Ayrıca dış ortamdaki bütün maddelerin tanınması işlevini de yapar (Walker, 2000).

Hücre zarı: Hücre duvarının altında hücre zarı bulunur ve yarı geçirgendir. Besin maddelerini içeri alırken, maya metabolizmasının ürettiği ürünleri hücre dışına aktarır.

Stoplazma: Maya stoplazması su içeriği fazla ve asidik (genellikle pH 4.0-5.5 aralığında) akışkan bir sıvıdır. Yapısında düşük ve büyük molekül ağırlıklı bileşikler, çözülmüş proteinler, glikojen ve diğer çözünebilir bileşikler bulunur. Maya stoplazması içerisinde bulunan taneciklerin çeşitli işlevleri vardır. Bunlar;

Ribozom: Protein ve ribonükleik asitlerden oluşan ribozomların görevi protein sentezidir.

Mitokondri: Çubuk şeklindeki bu organel hücrenin solunum organıdır. Lipoprotein ve ribonükleik asitten oluşur. Hücrenin aktivitesi için gerekli enerjiyi depo ederler. Enzim sentezleri ve yedek besin maddelerinin yapımında görev alır.

Golgi aygıtı: Çift zarlı olan bu aygıt lipid, protein ve ribonükleik asit yapıdan oluşmaktadır. Hücrenin diğer organellerinden gelen atıklar bu aygıtta toplanarak atılmak üzere buradan vakollere verilir.

Endoplazmik retikulum: Hücre zarından başlayarak stoplazma içerisinde çekirdeğe kadar uzanan çift katlı zardan oluşmuş bir ağ örgüsüdür. Plazma iletim yoludur.

Lizozom: Mitokondride sentez edilen bazı enzimler lizozomlarda depo edilir.

Sentrozom: Çekirdeğe yakın bulunan sentrozom çekirdek bölünmesinde rol oynar.

Vakol (boşluk): İnce bir zarla çevrili olan bu boşlukların içerisinde düşük molekül ağırlıklı maddeleri içeren sıvı bulunur (Walker, 2000).

Çekirdek: Stoplazma içerisinde bir zarla çevrili çekirdek bulunur. DNA'dan oluşan kromozomları ve çeşitli proteinleri içeren çekirdek, kalıtım özelliklerini barındırır. Çekirdek içerisinde ayrıca RNA'ca zengin küresel çekirdekçik bulunur.

İnsanlık tarihinde ilk kullanılan mikroorganizmalar mayalardır. Günümüze kadar yaklaşık 700 çeşit maya kültürü belirlenmiş olmakla beraber yeni maya kültürlerinin tanımlanmasına da halen devam edilmektedir. Mayalar binlerce yıldır insanlar tarafından değişik amaçlar için kullanılmaktadır. Mayaların ilk kullanımının Babil'liler, Sümer'ler ve Mısır'lular tarafından bira ve şarap üretiminde ve hamurun mayalanmasında olduğu sanılmaktadır. Modern çağda ise mayalar geleneksel gıda endüstrisinde (ekmek mayası üretimi, çeşitli enzimler, pigmentler, gıda asitlendiricilerinin elde edilmesi) kullanımlarının yanı sıra, birçok fermantasyon prosesinde (bira,

etanol) de kullanılmaktadır. Mayaların gelecekte yenilenebilir enerji kaynaklarında, çevresel biyoteknolojide ve insan sağlığını ilgilendiren pek çok biyolojik gelişmede daha geniş uygulama alanı bulacağı beklenmektedir. Enerji üretimi açısından bakıldığında mayaların metabolik olarak etanol ürettikleri bilinmektedir. Bu üretimi yenilenebilir karbonhidratlar üzerinden gerçekleştirdiği göz önüne alındığında bunun büyük bir avantaj sağlayacağı görülmektedir. Mayaların çevresel biyoteknolojide de gittikçe artan önemde kullanılacağı tahmin edilmektedir. Atık sulardan biyosorpsiyon ve biyobirikim yöntemleriyle ağır metal iyonlarının ve boyarmaddelerin giderimi ve geri kazanımı çalışmalarında çeşitli türdeki mayalar başarıyla kullanılmaktadır. Mayaların zorlu ortam koşullarında, örneğin, asidik ve toksik etkiye sahip ağır metal iyonu içeren ortamlarda üreyebilme dayanıklılığı göstermesi ve bu tür maddeleri hücre içerisine alabilme özelliğinin bulunması (biyobirikim), mayaların diğer mikroorganizmalara göre üstünlüğünü göstermektedir. İlaç endüstrisinde aşı üretimi ve özellikle insan tedavi amaçlı proteinlerin, hormonların ve kan faktörlerinin üretiminde de mayalar kullanılmaktadır. Tek hücre proteinlerinin üretilmesi ve bunların farklı fonksiyonel gruplar içermesi önemli uygulamalardan sayılabilir.

Bazı maya türlerinin özel kullanım alanları ise aşağıda verilmiştir;

Arxula adenivorans: Nitrat ve aminlerin dönüştürülmesinde önemli rol oynar. Optimum üreme sıcaklığı 45°C'nin üzerindedir.

Hansenula polymorpha: Metil tüketen bir mayadır. Gen aktarımı için önemlidir.

Kluyveromyces marxianus: Laktoz ve polifruktozan fermantasyonunda kullanılır.

Pachysolen tannophilus: Bazı hidroliz ürünlerinde bulunan pentoz şekerlerinin fermantasyonunda kullanılır.

Phaffia rhodozyma: Gıda boyalarının eldesinde kullanılır.

Saccharomyces türleri: Bira, ekmek mayası, vitaminler, şarap, şampanya, sirke, alkol, gliserol, invertaz, hayvan yemi, ilaç ham maddesi, biyofarmasetiklerin üretiminde ve nişasta fermantasyonunda kullanılır.

Schizosaccharomyces pombe: Şaraptan asit gideriminde, etanol üretiminde ve geleneksel Afrika alkollü içeceklerinin fermantasyonunda kullanılır (Walker, 2000).

2.3.1 *Candida* türleri

Çok geniş kullanım alanına sahip olan bu mayalar, 6-aminopenisillanik asit, B6 vitamini, NAD, FAD, metil ketonlar, sitrik asit, riboflavin, triptofan ve biyokütle üretiminde kullanılır. Normalde insan deri ve mukozası florasında bulunan organizmalardır. Doğum sırasında veya doğumdan kısa bir süre sonra yeni doğana bulaşarak söz konusu flora içinde yerini alırlar. Normal bireylerin %30-50 'sinin ağızında ve gastrointestinal kanalında bulunur. Bazı hazırlayıcı faktörlerin varlığında *kandidoz* olarak tanımlanan yüzeysel ve/veya derin akut/ ve veya/kronik enfeksiyonlara neden olur. Florada bulunmaları nedeniyle enfeksiyonlarının çoğu endojendir. Sistemik mikozlar arasında en sık görülen kandidozdur (Ustaçelebi, Ş., 1999)

2.3.1.1 Morfoloji ve diğer özellikler

Klinik örneklerde ve kültürlerinde *Candida* türleri 3-6 µm büyüklüğünde oval veya yuvarlağımsı, tomurcuklanan hücreler olarak görülürler. Ayrıca yalancı hif de oluştururlar. Yalancı hif, arka arkaya tomurcuklanan blastonidiyumların birbirinden ayrılmayıp uzayarak ve aralarında boğumlar oluşturarak yaptıkları bir hücreler zinciridir.

Candida türleri Sabouraud-dekstroz-agar (SDA) gibi rutin besiyerlerinde oda ısısında ve 37 °C'de 24 saatte üreyip genellikle kirli beyaz veya krem rengi, yumuşak kıvamlı ve tipik olarak mayamsı kokulu koloniler oluştururlar. Kolonin besiyeri yüzeyinde kalan bölümü blastokonidiyumlardan oluşmuştur; besiyeri yüzeyinin altında ise yalancı hifler bulunur.

Çok sayıda olan *Candida* türlerinin ancak bazıları insanda enfeksiyon etkenidir. *Candida* türleri SDA gibi rutin besiyerlerinde oluşturdukları kolonileri ve mısır unu-tween 80 gibi besinden fakir besiyerlerinde saptanan özellikleri farklılık gösterir. Mısır unu -tween 80 besiyerindeki morfolojileri ayrıca tanıya yardımcıdır. Ancak türlerin kesin tanısı daha sonra yapılan şeker fermantasyonu ve asimilasyon deneyleri ile konulur.

Candida tropicalis mısır unu- tween 80 agarda bazen yalancı hif uçlarında klamidospora benzer, ancak ince duvarlı ve blastokonidiyumlarından daha iri yuvarlağımsı veya armut şeklinde hücreler oluşturabilir. Ancak bunlar gerçek klamidospor değildir.

2.3.1.2 *Candida* cinsi

Heterojen bir cins olan *Candida*, askomiçetler içindeki *Candidaceae* ailesinde yer alır. Bu cins yaklaşık 200 türden oluşur. Bu sayı sabit değildir. Yeni teknolojik gelişmeler taksonomiye de etkileyip elimizdeki türlerin yeniden adlandırılmasına ve yeni türlerin bulunmasına yol açacaktır. Çok sayıda tür varlığının nedeni, *Candida* 'nın tanımlanma şeklidir. *Candida* cinsi adı aşağıdaki özelliklerden birini sergilemeyen herhangi bir eşeysiz maya için kullanılmaktadır.

- Asetik asit oluşturma
- Gözle görülebilen kırmızı, pembe veya turuncu pigment,
- Artrokonnidyumlar
- Geniş bir tabanla tek kutuplu veya çift kutuplu tomurcuklanma
- Simpodula üzerinde oluşan blastokonidyumlar
- Saplar üzerinde oluşan tomurcuklar
- İğne Őekilli terminal konidyumlar
- Üçgen hücreler
- Çoğunlukla mkoid koloniler

2.3.1.2.1 *Candida lipolytica*

Candida lipolytica deterjan endüstrisinde sıklıkla kullanılan ve lipaz enzimi üretebilen bir maya türüdür. *C. lipolytica* rutin olarak farklı besin ortamlarından ve lipid içeren çevresel atıklardan izole edilen yağlı bir mayadır. Bu maya yarı kromozomlu ve hücre durumunda gelişir ve bu gelişim, gelişim koşullarına bağlıdır. C16 ve C18:0'dan daha fazla (Delta 9) C18:1, (Delta 9, 12) C18:2, (Delta 9, 12, 15) C18:3 başlangıç substratının yağ asidi bileşiminden bağımsız olarak bulunmuştur (Ustaçelebi, Ő., 1999).

2.3.1.2.2 *Candida utilis*

Geniş kullanım alanına sahip olan bu maya, 6-aminopenisillanik asit, B6 vitamini, NAD, FAD, metil ketonlar, sitrik asit, riboflavin, triptofan ve biyokütle üretiminde kullanılır. Optimum oğalma sıcaklığı 0-50 °C olmak üzere geniş bir sıcaklık aralığında rer. En iyi reme 25-30 °C'de olmaktadır. Hücre apı 1-10 µm aralığında değişmektedir. remesi tomurcuklanarak olmaktadır. Tomurcuklanma ile bir hücreden bir veya daha çok çıkıntı meydana gelir ve bunlar yeni hücreler halinde gelişir. Gelişen bu hücreler daha sonra ana hücreden ayrılır. Tomurcuklanarak çoğalan bu maya hresi yaklaşık 50-55 defa tomurcuklanabilmektedir. Maya zt, glukoz, sülfat ve potasyum gibi besinleri içeren ortamlarda özellikle pH 4.0-4.5 aralığında hızlı büyürler. Besin ortamı çok asidik olmamak kaydıyla diğer pH'larda da ürerler (Ustaçelebi, Ő., 1999).

2.3.1.2.3 *Candida membranaefaciens*

Bu mayalar, 6-aminopenisillanik asit, B6 vitamini, NAD, FAD, metil ketonlar, sitrik asit, riboflavin, triptofan ve biyokütle üretiminde kullanılır. 3-6 µm büyüklüğünde oval veya yuvarlağımsı, tomurcuklanan hücreler olarak görülürler. Ayrıca yalancı hif de oluştururlar. Yalancı hif, arka arkaya tomurcuklanan blastonidyumların birbirinden ayrılmayıp uzayarak ve aralarında boğunlar oluşturarak yaptıkları bir hücreler zinciridir (Ustaçelebi, Ő., 1999).

2.3.1.2.4 *Candida tropicalis*

C.tropicalis *Candida* cinsinde bir maya türüdür. Krem renkli, pürüzsüz ve tüysüz beyaz görünümlü olup 3,0-5,5 x 4,0 – 9,0 um küresel boyuta sahiptir. Fermantasyon sırasında gaz üretimi pH değişikliklerinden etkilenmez. 72 saate 25 °C'de tween-80 agar ile pseudohyphae boyunca bulunan oval blastospores üretir. Blastosporesler tek tek ya da kümeler halinde bulunur (Ustaçelebi, Ş., 1999).

Endüstriyel mayalardan olan *C.tropicalis* birçok uzun zincirli alkanlar ve yağ asitlerini tek karbon kaynağı olarak kullanarak gelişebilir.

2.3.2 Mikroorganizmalar ile enzim salgılama mekanizması

Mikroorganizmalarda iki tip salgılama prosesi birbirinden farklı mekanizmalara sahiptir. Ökaryotik hücrelerde (hayvan hücresi, mantar ve gelişmiş bitkiler) salgılanan enzimler genellikle S-S bağlarını içeren oldukça uzun glikoproteinlerdir (Eylar, E. H., 1965). Aksine, bakteriler genellikle küçük aksoenzimler üretirler. Bu enzimler karbonhidratlar ve S-S bağlarını içermez (Pollock, M. R., 1964; Lampen, J.O.,1964). Çoğu durumda enzim, endoplazmik retikulumda bulunan polizomlar tarafından salgılanır ve retikulum tümeni içine geçer. Burada salgılanan enzim daha sonra yoğunlaşır ve genellikle bir golgi cisimciği ve son olarak hücre dışındaki membran keselere transfer edilir. Bu proses, aynı zamanda enzimlerin depolanmasına da sağlar. Enzimi zehirli maddelerden ve enzim modifikasyonu boyunca korur.

2.3.2.1 Mayalar ile enzim salgılanması

Mayalar glukoprotein enzimleri üretirler. Fakat bu enzimler polisakkarit hücre duvarında kalır ve dışarı salgılanmaz. Fakat protoplastlar, hücre duvarı bileşenlerinden ve hücre ortamından elde edilebilir (Lampen, J.O.,1968). Bu protoplastlar fizyolojik ve salgılama çalışmalarında kullanılmaktadır (İslam, M. F. ve Lampen, J. O., 1962). Tomurcuklanma ile maya gelişimi boyunca birçok yeni enzim bud keselerine geçer ve daha sonra serbest kalır (Tkacz, J. S. ve Lampen, J. O., 1971; Matile, P., Cortat, M., Wiemken, A., ve Frey-Wyssling, A., 1971). Salgılama proseslerinin çeşitli adımlarının mayalarda ve mantarlarda daha detaylı olarak incelenememesine rağmen bu sistemler birbirine çok benzerdir. Geçiş, depolama ve modifikasyon bir doku ya da organizmadan diğerine doğru olur.

2.3.2.2 Mikroorganizmaların enzimleri

Protozoonlar ve virüsler dışındaki mikroorganizmaların metabolizması ile ilgili olaylar dış enzimatik sindirim ile başlar. Mikroorganizmalar tarafından salgılanan enzimlerle dış ortamdaki besin maddelerinin parçalanarak hücre zarından geçebilecek nitelikteki maddeler ayrıştırılmaları,

hücre zarından sitoplazmaya alınmaları, sitoplazmada yapı taşı birimlerine katar ayrıştırılmaları (katabolizma), bu yapıtaşları birimlerinin yeniden sentezlenmesi ile mikroorganizmaya özgü maddelerin oluşturulması (anabolizma) gibi biyokimyasal olaylar mikroorganizma metabolizmasının kapsadığı olaylardır (Bilgehan, H., 1999).

Virüsler dışındaki mikroorganizmalar tüm canlılarda olduğu gibi metabolizmalarını enzimleri ile sağlarlar. Mantar ve bakterilerin gerek hücre dışına salgıladıkları gerekse hücre içinde görev yapan çok güçlü enzimleri vardır. Hücre dışı parazitleri olmaları nedeni ile Riketsiya ve klamidiyanların hücre dışı enzimleri sınırlı olmakla beraber metabolizmalarını kendi enzimleri ile sağlarlar.

Bilindiği gibi enzimler, canlı hücre tarafından oluşturulan, biyolojik kimyasal tepkimeleri katalize eden, çok küçük miktarlarda etkinlik gösteren ve tepkime sonunda aynı yapı ve hemen aynı miktarlarda ortamda kalan organik maddelerdir.

Enzimler protein yapısında olup onlarla aynı fiziki ve kimyasal özelliklere sahiptirler. Metabolizma esnasında kimyasal olaylardaki reaksiyonlara katılırlar, fakat sarf edilmezler ve sonunda yine ortamda kalırlar. Her enzim özgül bir kimyasal tepkimeyi katalize eder ve yalnız bir madde (substrat) üzerine etkili olarak onunla madde-enzim bileşiği yapacak şekilde birleşirler. Bir kısım enzimler işlevleri esnasında bazı nonproteik organik molekülleri gereksinirler ki enzimleri aktive eden bu moleküllere prostetik grup= koenzim denir. Enzimatik çalışmada koenzimler kimyasal olarak değişebilir fakat tepkime sonunda tekrar orijinal şekillerine dönerler. Enzimlerin protein kısmına apoenzim (esas enzim) apo ve koenzimden oluşan total enzime haloenzim denir. Ne apo ne de koenzimler tek başlarına etkin olmazlar. Apoenzimlerin özgül olmalarına karşılık koenzimler bir değil çeşitli apoenzimlere bağlanarak çeşitli kimyasal tepkimelerde rol alabilirler (Bilgehan, H., 1999).

Enzimlerin, kendi substratlarına enzim molekülünde bulunan ve substratlara özgü kovalent olmayan zayıf bağlarla (Vander Waals, iyonik hidrojen bağları) bağlandıkları bilinmektedir.

Koenzimler apoenzimlere sıkı bazen zayıf kimyasal bağlarla bağlanırlar. Her ko-enzim birden çok kimyasal tepkimede yer alır. Adenozin trifosfat (ATP) gibi koenzimler sanki substrat gibi hizmet görürler. Kimyasal tepkime sonucu yapıları değiştiğinden (ATP den ADP), yeniden kullanılmadan önce başka bir sıra, kimyasal tepkime ile yenilenmeleri ve eski hallerine getirilmeleri gereklidir.

Bazı enzimlerin aktif hale gelebilmeleri için, koenzimler dışında ko-faktör denilen bazı aktivatör maddelere gereksinim duyarlar. Bu enzimler ko faktör olmadıkça inaktif durumdadırlar. Ko-faktörler çoğunlukla metalik iyonlardır. Fe^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} bunlardandır.

Enzimler sadece canlı hücreler tarafından yapılmaktadır. Birçokları kristaller halinde elde edilip hücre dışında laboratuvar deneylerinde kullanılabilir. Mikroorganizma metabolizmasında ortaya çıkan bir kimyasal tepkimenin sürüp gitmesi anında yalnızca bir değil, çoğu kez birden fazla enzim yer alır. Her enzim kimyasal tepkimenin bir basamağında yer alarak sonuçta reaksiyonun tamamı ortaya çıkar. O halde mikrop metabolizmasında, etkinlikte bulunan enzimlerden ve daha çok enzim sistemlerinden söz etmek gerekir. Enzim sistemlerinin çalışması sonunda ortamdaki besin maddeleri parçalanıp hücre zarından geçebilecek hale gelirler. Hücrede yapıtaşlarının sentezi, solunum, üreme, hareket ve diğer yaşamsal işlevler için gerekli enerji sağlanır, hücre yapısı için gerekli maddeler asimile edilir. Mikroorganizmalarda bu işler için çalışma gösteren iki türlü enzim vardır. Eksoenzimler ve Endoenzimler (Bilgehan, H., 1999).

1) Ekso - enzimler: Üreme ortamında bulunan kompleks bileşikler, hidroliz ve ayrışma ile daha basit ve eriyebilen maddelere parçalayarak hücre içersine girebilecek hale getiren enzimlerdir. Parçalanmış maddeler ya intra ve ekstrasellüler yoğunluklarına göre pasif olarak hücre içersine girerler veya bazı maddelerde olduğu gibi permease denilen bir takım değişik enzimlerin aktif çalışmaları ile stoplazmaya aktarılırlar.

2) Endo- enzimler: Hücre içi metabolizmasını yürütürler. Daha çok hücre zarı civarında veya stoplazma içersinde çalışma gösterirler.

2.4 Biyobirikim

Biyobirikim, akışkan fazda çözülmüş halde bulunan belirli bileşenlerin aynı ortamdaki bir canlı hücre zarından geçerek, hücre içersinde biriktirilmesi olayıdır.

Canlı hücrelerin ürettiği ortamdaki belirli bileşenlerin hücre içine alımı, hücre içi ve dışı derişim farkından dolayı oluşan sürücü güç ile bu maddelerin hücre zarından geçerek, hücre içinde birikmesi şeklinde olmaktadır. Difüzyona sebep olan sürücü güç kimyasal potansiyel olarak adlandırılır ve bu durum, hücre dışındaki kimyasal hücre içersine hareket ettirir. Bu durum Gibbs serbest enerjisi ile ifade edilirse; $\Delta G = -RT \ln(C_{dış}/C_{iç})$ formülüne göre $C_{dış}$ derişimi her zaman büyük olacağından, bu işlemin sonucu daima eksi çıkacaktır. Yani ortamdaki maddelerin hücre zarından geçerek hücre içersine girmeleri istemli bir durumdur. Canlı hücreler, bu maddelerin, ne kadar zehirli etkiye sahip olurlarsa olsunlar hücre içersine girmelerine engel olamamaktadır. Ayrıca hücre zarında çok sayıda bulunan ve besin maddelerini hücre yüzeyinden alıp hücre içersine transfer eden çok sayıda transfer edici enzimlerin (transferaz enzimleri), besinlerle beraber bu maddelerin de hücre dışından hücre içersine transferini gerçekleştirdiği düşünülmektedir. Yani ortamdaki maddelerin hücre zarından kendiliğinden difüzyonu yanında,

özellikle taşıyıcı enzimler yardımıyla kolaylaştırılmış difüzyon diye adlandırılan bu mekanizmayla da hücre içine alımı söz konusudur. Hücrenin toksik etkiye sahip ve dönüştüremediği bu maddeleri stoplazma içerisindeki boşluklarda (vakol) diğer hücre içi atıklarla beraber biriktirdiği 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. Hücre içerisinde madde biyobirikimini etkileyen bir diğer faktör de o maddenin sudaki çözünürlüğüyle ilgilidir. Hidrofobik bir madde hücre içerisinde kalma eğilimindedir. Biyobirikimle ilgili önerilen başka bir mekanizma ise, hücre içerisine giren ve bir merkeze bağlanan maddenin dış ortamdaki aynı maddenin hücre içine aktarımını hızlandırdığı yönündedir. Aslında biyobirikim oldukça kompleks bir süreçtir ve bugüne kadar mekanizması tam olarak anlaşılammıştır (Macaskie ve Dean, 1989; Ting vd., 1989; Kargı, 1993; Macaskie, 1997; Goodyear ve Mc Neill, 1999; Haritonidis ve Malea, 1999; Aksu ve Dönmez, 2000; Aksu ve Dönmez, 2001).

Biyobirikim, birçok doğal fiziksel, kimyasal ve biyolojik işlemde gözlenmektedir. Günümüzde biyobirikim prosesleri atık suların çeşitli kirleticilerin giderilmesinde, özellikle aktif çamur proseslerinde sıklıkla kullanılmaktadır (Kargı, 1993; Goodyear ve Mc Neill, 1999; Haritonidis ve Malea, 1999; Aksu ve Dönmez, 2000).

Biyobirikimi etkileyen bazı önemli parametreler arasında ortam pH'ı, sıcaklık, substrat ve kirletici derişimleri, hücre yüzey alanı sayılabilir. Canlı hücrelerin optimum üreme pH'ı ve sıcaklığı daha yoğun ve hızlı hücre üremesine dolayısıyla da hücre zarından geçen madde derişiminin artmasına neden olmaktadır. Ayrıca çözeltideki hidronyum iyonlarının hücre zarından geçerken oluşturdukları etki diğer maddelerin transferini de kolaylaştırmaktadır. Yüksek substrat ve kirletici derişimleri, itici güç ΔC 'nin artmasından dolayı madde aktarımını hızlandırmaktadır. Tam olgunluğa erişmiş hücrelerin yüzey alanı daha büyük ve hücre aktiviteleri üst seviyededir, dolayısıyla daha fazla madde transferine imkan tanımaktadır (Walker, 2000; Mejare ve Bulow, 2001).

Biyobirikim, bir kimyasalın derişiminin çevrenin derişimi ile karşılaştırıldığında zamanla biyolojik organizmadaki derişiminin artmasıdır. Yaşayan organizmalarda biriken bileşikler cansız organizmalardan daha hızlı tutuklanır ve birikir. Biyobirikimin dinamik prosesini anlamak insanların aktivitelerinin ve diğer organizmaların kimyasallardan nasıl etkilendiğinin anlaşılması için önemlidir. Bu açıdan bakıldığında biyobirikim, kimyasalların düzenlenmesi için önemli bir prosestir.

Tutuklanma bir kimyasalın solunum, emme ya da deri tarafından absorplanması ile hiçbir sınırlama olmaksızın gerçekleşen bir olaydır. Depolanma, kimyasal biyobirikimin bir yönüdür. Bu

terim aynı zamanda hayvanların uykuda iken yağları depolaması ya da bitkiler tarafından nişastanın depolanması gibi doğal prosesler için de kullanılır.

Biyoderişim, bir kimyasalın organizmadaki derişiminin havadan, sudan ya da organizmanın çevresinden daha yüksek olduğu spesifik bir biyobirikim prosesidir. Bu proses hem doğal hem de insan yapımı kimyasallar için aynı olmasına rağmen, biyoderişim terimi genellikle organizmadaki yabancı kimyasallara işaret eder. Balık ve diğer suda yaşayan hayvanlar için solungaçlarla ya da deri ile depolama en önemli biyobirikim prosesidir. Biyoderişim, DDT çalışmalarıyla incelendiğinde topraktaki derişimi 10 ppm olan DDT'nin, solucanlarda 141 ppm kuşlarda ise 444 ppm olduğu bulunmuştur. Biyobirikim ile bir kimyasalın besin zinciri boyunca aktarılması besin zincirinin en üstünde bulunan canlılar için ölümlere, üreme sorunlarına ve çeşitli biyolojik bozukluklara neden olmaktadır (Frausto Da Silva, J. J. R. ve Williams R. J. P., 1976).

Biyobirikim ya da biyo-artış, bir kimyasalın derişiminin besin zinciri boyunca artması ve tek hücreli canlılar ile daha gelişmiş hayvanlar arasında adım adım aktarılmasıdır. Bu süreçte gelişmiş organizmalar basit yapıllı canlılardan daha fazla kimyasala maruz kalırlar.

2.4.1 Biyobirikim prosesi

Biyobirikim, organizmanın gelişim ve beslenmesinde yer alan temel bir prosestir. Tüm hayvanlar ve insanlar, vitamin A, D, K, eser mineraller, temel yağlar ve aminoasitler gibi hayati besinlerini biyobirikim ile alırlar. Toprağa ve suya karışan toksik maddelerin biyobirikim prosesi ile besin zinciri boyunca aktarılması ve organizmada toksik maddelerin giderek artan derecelerde birikmesi toksikolojistlerin ilgilendiği en önemli konulardan biridir.

2.4.1.1 Birikim

Biyobirikim, bir kimyasalın çevreden organizma hücrelerine geçişi sırasında başlar. Birikim henüz tam anlamıyla anlaşılmamış karmaşık bir prosestir. Kimyasallar hareket etme eğiliminde olup difüzlenir ya da pasif olarak yüksek derişimlerden düşük derişimlere doğru hareket eder. Difüzyon için yürütücü güç, kimyasal potansiyeldir. Kimyasal potansiyel ile organizmanın dışından organizma içine doğru bir kütle akışı olmaktadır.

Birçok faktör olası maddelerin kimyasal potansiyelini arttırabilir. Örneğin, bazı kimyasallar su ile iyi karışmazlar. Bu tip kimyasallara lipofilik “yağ seven” ya da hidrofobik “su sevmeyen” maddeler denir. Her durumda bu tip kimyasallar lipofilik çevrede organizma içine girme eğilimi gösterirler.

2.4.1.2 Depolama

Bazı kimyasallar, proteinlerle bağlanır, hücredeki aktif bölgelere tutunur ya da yağlarda çözünür ve geçici olarak depolanır. Eğer hücreye sıkı bir şekilde bağlanmadıysa ya da birikim yavaş ve süreksizse, organizma bu kimyasalı bünyesine almayı durdurur.

Birikim ve depolama proseslerinde en önemli faktörlerden biri de suda çözünübilirliktir. Suda çözünme, kimyasalın suda çözünme yeteneğidir. Genellikle suda iyi çözünen kimyasallar düşük biyobirikim potansiyeline sahiptir ve su moleküllerine bağlandıkları için organizma içine girmezler. Hücre bu tip kimyasalları tutmak için spesifik bir prosese sahip olmadıkça, bu tip kimyalar genellikle hücrede birikmez (Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981).

Cıva ve diğer suda çözünebilir ağır metaller gibi kimyasallar bir istisna gibi düşünülebilir. Çünkü bu tip kimyasallar, vücuttaki spesifik bölgelere sıkı bir şekilde tutunurlar. Bağlanma meydana geldiği zaman, suda çözünen kimyasallar birikebilir. Bu duruma Kobaltın suda çözünmesine rağmen, canlı organizmaya sıkı bir şekilde bağlanması örnek gösterilebilir. Benzer şekilde, cıva, bakır, kadmiyum ve kurşunda da bu durum görülür.

Lipofilik kimyasallar, suda çözünebilir kimyasallara göre hücrenin yağ tabakasından daha kolay geçebilirler. Organizma içindeki bu tip kimyasallar, hücre tabakaları boyunca hareket eder ve daha sonra yağlı dokularda depolanır.

2.4.1.3 Eliminasyon

Biyobirikimi etkileyen diğer bir faktör ne organizmanın bozulması ne de bir kimyasalın dışarı atmasıdır. Bir kimyasalın biyolojik yıkımı, metabolizma olarak adlandırılır. Çeşitli türler ve organizmalar arasındaki bu yetenek kimyasalın özelliklerine bağlıdır.

Yağda çözünebilir fakat suda çözünmeyen kimyasallar, vücut tarafından daha yavaş atılır. Bu durum daha büyük bir birikim potansiyeli sağlar. Çoğu metabolik reaksiyon sonucu suda çözünebilir kimyasallar oluşur. Suda çözünebilir bu yapılara metabolitler denir.

Fakat bazı durumlarda istisnalar vardır. Doğal piretrinler, kasımpatı bitkisinden türetilen böcek ilaçları, yüksek oranda suda çözünebilir böcek ilaçlarıdır. Bunlar kolayca suda çözünebilirler ve birikmezler. Metabolizmayı etkileyen faktörler bir kimyasalın biyobirikim potansiyeli ile belirlenmez.

2.4.1.4 Biyobirikim: Dinamik denge durumu

Bir kimyasal organizmanın hücrelerine girdiği zaman, bu kimyasal dağılır, salgılanır, depolanır ve metabolize olur. Salgılama, depolama ve metabolizma kimyasalın organizmadaki derişimini azaltır ve organizmanın çevresi dışına çıkma potansiyelini arttırır. Bir kimyasal sabit çevre koşullarına maruz kaldığı zaman bir miktar kimyasal organizma içinde birikir bir miktarı ayrılır ve daha sonra dinamik dengeye ulaşır.

Dinamik dengeyi anlamak için, su ile dolu bir tüp hayal edelim. Bu tüpün en üstünde bir musluk olsun ve çok küçük miktarlarda su akıtsın. Su seviyesi tüpün altında çok düşük bir seviyeye geldiği zaman, küçük bir basınçla su akar. Su seviyesi artarsa, akıştaki basınçta artar. Sonunda içerdeki su ile dışarı akan su dengeye ulaşır ve tüpteki su seviyesi değişmez. Eğer giriş ve çıkış akımları değişirse, tüpteki su seviyesi farklı değerlere ulaşır (Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981).

Eğer çevredeki kimyasalın derişimi artarsa organizma içinde de yeni dengeye ulaşmak için derişim artacaktır. Uzun bir periyotta çok miktarda kimyasala maruz kalmak, dengeye ulaşmayı etkileyebilir ve zararlı etkilere neden olabilir. Benzer şekilde, çevredeki kimyasalın derişimi azalırsa, organizma içindeki kimyasal derişimi de azalacaktır.

2.4.2 Biyobirikimi etkileyen faktörler

Yukarıda bahsettiğimiz basit açıklama çoğu durum için dikkate alınmaz. Vücuttaki spesifik bölgelere bağlı bazı kimyasallar vücuttaki durumlarını sürdürürlerken bazıları da organizma dışına çıkar. Bu iki durum arasındaki süreç biyobirikimi etkiler ve kimyasallar birikime uğramaz.

Benzer şekilde, organizmanın kimyasala maruz kalma süresi de biyobirikimi etkiler. Çoğu kez çevredeki bir kimyasala maruz kalma süreklilik gösterdiğinde ya da kimyasalın organizmayı hiç etkilemediği durumlarda, dengeye hiçbir zaman ulaşamaz ve birikim beklenenden az olur.

2.4.3 Ağır metal iyonlarının biyobirikimi ve mikroorganizmaların biyobirikimde kullanılması

Mikroorganizmaların üreme ortamlarındaki olumsuzluklar (örneğin ortamın çok asidik ve/veya aşırı tuzlu olması, toksik etkiye sahip bileşenler içermesi, vb) mikroorganizma üremesinin yavaşlamasına ve inhibisyona neden olur. Bazı mikroorganizmalar ise bu uç ortam koşullarında, bu koşullara dayanabilme mekanizmaları geliştirebilir ve çok iyi üreyebilir. Eğer ortamda ağır metal iyonları varsa yine bazı mikroorganizmalar bu iyonların toksik etkisine karşı direnç kazanabilir ve bu iyonları hücre içinde biriktirebilir.

Literatürde çeşitli ağır metal iyonlarının farklı türden alg, bakteri, maya ve küf mantarlarına biyobirikimiyle ilgili bazı çalışmalara rastlanmaktadır (Ting vd., 1989; Macaskie, 1997; Aksu ve Dönmez, 2000; Mejare ve Bulow, 2001; Lee ve Wang, 2001; Dursun vd., 2002; Pawlik-Skowronska, 2003). Ağır metal iyonlarının biyobirikimiyle ilgili ilk çalışma, Ting ve arkadaşları (1989) tarafından canlı *Chlorella vulgaris* yeşil algine kadmiyum(II) ve çinko(II) iyonlarının metabolizmaya bağlı yarışmalı gideriminin, ışık varlığında ve yokluğunda incelenmesiyle başlatılmıştır. 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.

Mayalar asidik pH'a sahip ve ağır metal kirliliği içeren ortamlarda iyi üreyebilen mikroorganizmalardandır ve ağır metal iyonlarının biyobirikim yöntemiyle gideriminde başarıyla kullanılabilir. Maya hücreleriyle tekli metal iyonu biyobirikiminde, ortam pH'ı, sıcaklık, substrat ve kirletici derişimleri mikroorganizmanın üremesini ve metal biyobirikimini etkileyen en önemli parametrelerdir. Aksu ve Dönmez (2001), metal iyonlarına alıştırmış canlı *Candida sp.* mayasıyla bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının biyobirikimini başlangıç pH'ı ve başlangıç metal iyon derişiminin fonksiyonu olarak incelemişler ve 783.6 mg/L başlangıç bakır(II) derişiminde 36.9 mg/g; 321.5 mg/L başlangıç nikel(II) derişiminde ise 46.8 mg/g özgül giderim kapasitesi değerleri elde etmişlerdir.

Lee ve Wang (2001), yaptıkları bir çalışmada deniz kıyısında yaşayan mikroalgelere metal iyonlarının (Cu(II), Cr(VI), Zn(II) ve Cd(II)) birikimi üzerine temel besin ortamı bileşenlerinin (nitrat, amonyum ve fosfat) etkilerini araştırmışlardır. Nitrat derişimindeki artışın Cd(II) biyobirikim miktarını önemli derecede arttırdığını, buna karşın Cr(VI) ve Zn(II) biyobirikiminin, nitrat düzeyinden fazla etkilenmediğini göstermişlerdir. Araştırmacılar çalışmalarında ayrıca Cd(II), Cr(VI) ve Zn(II)'nin biyobirikiminin amonyum derişiminden fazla etkilenmediğini, mikroalglere Cr(VI) birikiminin ise artan fosfat derişimi ile arttığını da gözlemişlerdir (Lee, W.Y., Wang, W.X., 2001).

Dursun ve arkadaşları (2002), bir çalışmada Cu(II), Pb(II) ve Cr(VI) iyonlarının *Aspergillus niger*'in üremesi ve biyobirikimi üzerine başlangıç pH'ı ve başlangıç metal iyon derişimi etkilerini araştırmışlar ve çalıştıkları tüm metal iyonu derişimlerinde *A. niger*'in üremesi üzerine metal iyonlarının inhibisyonunu gözlemelerine karşın, 100.0 mg/L'lik başlangıç Cu(II) ve Pb(II) derişimlerinde sırasıyla 15.6 ve 34.4 mg/g olan maksimum giderim kapasiteleri elde etmişlerdir. Araştırmacılar çok düşük Cr(VI) derişimlerinin bile *A. niger*'in üremesini inhibe ettiğini de gözlemişlerdir (Dursun, A. Y., Uslu, G., Cuci, Y., Aksu, Z., 2002).

Tsekova ve Galabova (2003), *Rhizopus delemar*'ın atık sulardan Cu(II) iyonunun giderimi için biriktirebilme yeteneğinin yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Tsekova, K., Petrov G., 2003).

Preetha ve Viruthagiri (2006), kesikli reaktörde ağır metaller krom(VI), bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının giderimi için *Rhizopus arrhizus*'un biyobirikirme kapasitesini çalışmışlardır. Bu çalışmada krom(VI), bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının başlangıç metal iyon derişimi arttıkça *Rhizopus arrhizus*'un özgül üreme hızının azaldığını bulmuşlardır (Preetha, B., Viruthagiri, T., 2006).

Dursun vd. (2002), Cu (II) ve Cd (II) iyonlarının canlı *Rhizopus arrhizus* ve *Aspergillus niger* tarafından biyobirikimini başlangıç pH'ı ve başlangıç metal iyonu derişiminin bir fonksiyonu olarak incelenmişlerdir. Cd(II)'un tüm derişimlerinde, *Rhizopus arrhizus*'un, *Aspergillus niger*'den daha dirençli olduğu ve Cd(II)'nin daha büyük miktarlarını biriktirdiği görülmüştür (Dursun, A. Y., Uslu, G., Cuci, Y., Aksu, Z., 2002).

Gönül (2001), reaktif tekstil boyalarının, remozal mavi, reaktif siyah ve reaktif kırmızı, *Candida tropicalis* maya türü tarafından biyobirikimi, melas içeren gelişim ortamında başlangıç pH'ı ve başlangıç boya derişiminin bir fonksiyonu olarak kesikli karıştırmalı ortamda incelemiştir. Tüm boyaların düşük derişimlerinde yüksek biyobirikim yüzdeleri gözlenmiştir. Remozal mavi boyası test edilen boyalar arasında daha fazla biyobirikime uğramıştır (Dönmez, G, 2001).

Tsekova vd. (1999), *Aspergillus awamori* türü mikroorganizma ile sulu çözeltiden Cu²⁺ iyonlarının birikimini incelemiştir. Prosesin Langmuir modeline daha çok uyduğu belirlenmiştir. Verilerin sentezi ile sorpsiyon reaksiyonunun kinetik sabitleri hesaplanmıştır (Tsekova, K. V. , Marinov, P. G. , Tzekova, A. N., 1999).

Rehman vd. (2009), *Candida tropicalis*'in metallere karşı olan direncini ve sulu ortamdan kadmiyum birikimini değerlendirmiştir. Cd²⁺'nin minimum inhibitör derişiminde *C. tropicalis* tarafından yapılan biyobirikimi 2800 mg L⁻¹ olarak bulunmuştur. Optimum birikim kapasitesi ise 100 mg L⁻¹'lik Cd²⁺ ortamında görülmüştür. *C. tropicalis*'in ortamdaki Cd²⁺ iyonlarını biriktirme kapasitesi 48, 96 ve 144 saatlik zaman dilimlerinde sırasıyla % 57, % 69 ve % 80 azalmıştır. *C. tropicalis* aynı zamanda 6 ve 12 günde atık sulardaki Cd²⁺'nin sırasıyla % 56 ve % 72 'sini uzaklaştırmıştır (Rehman, A., Anjum, M. S., 2009).

Zhang vd. (2009), *Drawide sp* ve *Allolobophora sp* solucanları ile toplam cıva biyobirikimini incelemiştir. Birikim türden türe belirgin farklılıklar göstermiştir. Topraktan solucanlara olan metil cıvanın birikim faktörleri, toplam cıvadan çok daha yüksek olup metil cıvanın lipid

çözünürlüğünden dolayı solucanlara daha kolay adsorplandığı ve biriktiği bulunmuştur (Zhang, Z. S., Zheng, D. M., Wang, Q. C., 2009).

Sirianuntapiboon vd. (2006), sentetik atık sularda hem canlı hem de ölü biyoçamurların neredeyse aynı Cu^{2+} ve Zn^{2+} adsorpsiyon kapasitesi gösterdiğini bulmuşlardır. Canlı biyoçamurlar sadece Cu^{2+} ve Zn^{2+} adsorpsiyonu yapmakla kalmayıp organik maddeleri de adsorplama özelliğine sahiptir. Cu^{2+} ve Zn^{2+} SBR sisteminde verimli olarak uzaklaştırılmış ve uzaklaştırma verimi süspansiyon karışımının artmasıyla artma göstermiştir (Sirianuntapiboon, S., Hangrisuwan, T., 2006).

Ahluwalia vd. (2005), biyokütle olarak *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Rhizopus nigricans*, *Oscillatoria angustissima*, *Bacillus firmus* ve *Streptomyces sp.* türleri kullanılmış ve Pd, Zn, Cd, Cr, Cu ve Ni adsorpsiyon kapasiteleri 5 ile 641 mg g^{-1} arasında değişim göstermiştir (Ahluwalia, S. S., Goyal, D., 2005).

Kılıç vd. (2006), tekstil atık sularından boya ve Cr (IV)'ün biyobirikiminde kullandıkları mikrobiyal üç bakteri türünün yüksek biyobirikim kapasite gösterdiğini bulmuşlardır. Bakterilerin tanımlanması 16S rRNA gen analizi ile yapılmış ve bunların *Ochrobacterium sp.*, *Salmonella enterica* ve *Pseudomonas aerughosa* oldukları bulunmuştur. Boya ve Cr (IV) 'in birikimleri izole edilmiş ve zenginleştirilmiş ortamdakinden daha yüksek bulunmuştur (Kılıç, N. K., Nielsen, J. L., Yüce, M., Dönmez, G., 2006).

Deng vd. (2007), *E.coli*'nin eş zamanlı olarak cıva iyonlarını biriktirme yetenekleri sürekli proseste geliştirilmesi, sürekli karıştırılmalı tank reaktörde (CSTR) incelenmiştir. Seyreltme oranı ve başlangıç Hg^{2+} iyonunun derişiminin etkisi incelenmiştir. Sonuçlar, rekombinant *E.coli* bakterisinin sulu çözültiden Hg^{2+} biyobirikiminin yaklaşık olarak % 90 olduğunu göstermiştir (Deng, X., Hu, Z. L., Yi, X. E., 2007).

Taştan vd. (2009), *Aspergillus vesicolor* mikroorganizması ile boya ve ağır metal iyonu birikimini incelemişlerdir. Maksimum ağır metal biyobirikimi için optimum pH değeri, 50 mg/L 'lik Cr (VI) ve Ni (II) iyonlarının bulunduğu ortam için pH=6, 50 mg/L 'lik Cu (II) iyonunun bulunduğu ortam için pH= 5 olarak bulunmuştur. Bu iyonların uzaklaştırılma verimleri sırasıyla % 99.89, % 30.05 ve % 29.06 olarak belirlenmiştir (Taştan, B. E., Ertuğrul, S., Dönmez, G., 2009).

Moore vd (2007), atık sulardan metal biyobirikimi için izole edilen bir mayanın biyobirikim kapasitesini, belirli miktarlarda metal iyonu içeren çözültüler hazırlayarak belirlenmişlerdir. Platinyum, altın ve bakır iyonları, düşük derişimlerde verimli uzaklaştırılmasına rağmen 72 saatte

50 mg/L'lik çözeltideki metal iyonlarının neredeyse tamamının uzaklaştığı görülmüştür. (Moore, B. A, Duncan, J. R., Burgess, J. E., 2007).

Akhtar vd. (2007), *Candida tropicalis*'in bir adsorbent olarak kullanılması ile sulu çözeltiden zirkonyum'un uzaklaştırılması ve geri dönüşümü biyosorpsiyon ve desorpsiyon testleriyle incelemiştir. Bu prosesin büyük ölçüde başlangıç pH'ı ve metal derişimine bağlı olduğu bulunmuştur. Deneysel parametreler optimize edildiğinde *Candida tropicalis*'in zirkonyum iyonlarını maksimum biyosorplama kapasitesi 179 mg Zr g⁻¹ biyosorbent kuru ağırlığı olarak bulunmuştur (Akhtar, K. M., Khalid, A. M., 2007).

Brozzoli vd. (2009), zeytin atık suyunu (OMV), *Candida Cylindracea* NRRLY-17506 mikroorganizması ile lipaz üretimi için bir ortam olarak kullandı ve ortamın lipaz üretim uygunluğunu araştırdı. Enzim üretiminin elverişliliği zeytin atık suyu için, düşük COD ve düşük toplam şeker içeriği ile test edildi. Atık suya 2,4 g/L NH₄Cl ve 3 g/L zeytinyağı ilave edildiği zaman enzim aktivitesinin yaklaşık 10 U/mL olduğu bulundu (Brozzoli,V., Crognale, S., Sampedro, I., Federici, F. , Annibale, A. D., Fetruccidi, M., 2009).

Wang vd. (2007), geliştirilmiş *Aspergillus famigatus* ile reaktif parlak mavi boya KN-R'nin uzaklaştırılmasını başlangıç boya derişiminin fonksiyonu olarak incelemiştir. Yüksek başlangıç boya derişimi mikroorganizmanın gelişimini engellemiş fakat biyobirikim kapasitesini fazla etkilememiştir. 374.4 mg/L'lik birincil boya derişiminde maksimum biyobirikim kapasitesi yaklaşık 190,5 mg/L olarak bulunmuştur (Wang, B., Hu, Y., Xie, L., Peng, K., 2007).

Xin vd. (2010), Cu-kompleks reaktif boyasının, *Penicillium oxalicum* tarafından biyobirikimini incelenmiştir. 48 saatlik karıştırma sonucunda 400 mg/L den % 99,7 boya uzaklaştırılmıştır (Xin, B., Chen, G., Zheng, W., 2010)

Nursito vd. (2009), kadmiyumun (Cd), Collembolan, P. munita gibi dört tür toprakta biyobirikimini incelemiştir. Kadmiyumun vücut dokularında biyobirikimi, Collembolan'ın yumuşatılmasıyla atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile ölçülmüştür. Bu toprakların kadmiyum biyoelverişliliği ardışık ekstraksiyon metodu ile belirlenmiştir. Çözünen ve derişimi değişen Cd'nin, P. minuta tarafından biyobirikiminin, Cd fraksiyonuna göre daha olası olduğu bulunmuştur (Nursito, A.I., Singh, B., Lees, E., 2009).

Ertuğrul vd. (2008), Krom (VI), Nikel (II), Bakır (II) ve reaktif boyanın, *Rhodotorula mucilaginosa* tarafından biyobirikimini, melasın karbon ve enerji kaynağı olduğu gelişim ortamında incelemiştir. Maya hücrelerinin kirlilikleri uzaklaştırmaları için optimum pH değerleri, 50 mg/L ağır metal ve 50 mg/L remozal mavi içeren ortamda, bakır(II) ve boya için

pH= 4, krom (VI) ve boya için pH= 6, nikel (II) ve boya için pH= 5 olarak belirlenmiştir (Ertuğrul, S., San N. O., Dönmez, G., 2008).

Açikel vd. (2009), *Rhizopus delemar* mikroorganizmasının mikrobiyal gelişimini ve eş zamanlı olarak Cu(II) ve Ni (II) iyonlarının biyobirikimini, melas ortamında kesikli bir sistemde incelenmiştir. Cu (II) ve Ni (II) iyonlarının biyobirikimi, diğer metal iyonlarının derişimlerinin artmasıyla azalmıştır. Cu(II) ve Ni(II) iyonlarının kendilerine has hareketleri, *R.delemar*'ın antagonistik olduğunu göstermiştir (Açikel, Ü., Alp, T., 2009).

Öncü vd. (2007), Kadmiyum(Cd), Bakır(Cu), Çinko(Zn), Kurşun(Pb), Nikel(Ni) gibi ağır metallerle, çeşitli konsantrasyonlarda yapay olarak kirletilmiş topraklarda yetişen solucanların bünyesindeki ağır metal birikimini ve bu metallerin toksisitesini araştırmışlardır. Bu metallerden Kadmiyumun kontrol numunelerine kıyasla 330 kat daha fazla biriktiği bulunmuştur (Öncü, V., Tazegül, D., Aydın, N., 2007).

Birden fazla metal iyonunun bulunduğu ortamlar ise endüstriyel atık su özelliklerini daha gerçekçi olarak yansıtmaktadır. Bu durumda mikroorganizmanın üremesini ve her bir metalin biyobirikimini etkileyen parametrelere ek olarak metal iyonunun türü, her birinin derişimi, metal iyonlarının karışım oranı, vb incelenmesi gerekir.

Literatürde bugüne kadar yapılan çalışmalar gözden geçirildiğinde, genellikle tek bileşenli metal biyobirikim çalışmalarının öne çıktığı ve düşük metal iyonu derişimlerinde ve yapay besin ortamlarında çalışıldığı görülmektedir. Tez çalışmasında farklı mikroorganizma türleriyle ve farklı metal iyonlarıyla melas katılmış besin ortamlarında tekli bakır(II) ve nikel(II) biyobirikim çalışmalarının gerçekleştirilmesinin literatüre önemli bir katkıda bulunacağı düşünülmektedir.

Adsorpsiyon ve biyobirikimde bir mikroorganizma üzerine bir metal karışımının birleştirilmiş etkisi çok karmaşık olabilir ve genellikle organizma tarafından üç tip cevap üretilebilir.

Karışımın etkisi karışımdaki bileşenlerin tek tek etkilerinin her birinden daha büyüktür (Synergism);

Karışımın etkisi karışımdaki bileşenlerin tek tek etkilerinin her birinden daha küçüktür (Antagonism);

Karışımın etkisi karışımdaki bileşenlerin tek tek etkilerinin her birinden ne daha büyüktür, ne de daha küçüktür (Noninteraction) (Ting vd., 1989).

2.5 Enzimler

Biyolojik sistemlerde meydana gelen tepkimeler laboratuvar koşullarında gerçekleştirilmek istendiğinde çok yüksek sıcaklık, basınç vb. gibi ağır fizikokimyasal yöntemlerin uygulanması gerekir: Bu koşullar altında bile reaksiyonların çoğu izlenemeyecek kadar yavaştır. Örneğin lipidlerin standart koşullarda kimyasal olarak herhangi bir katalizör söz konusu olmadığı zaman çok zor şartlar altında hidroliz olduğunu görürken, vücut içerisinde 37 °C çok daha yumuşak koşullarda ve hızlı olarak hidroliz olduğunu görüyoruz. Biyolojik sistemlerdeki tepkimelerin böylesine kolay ve hızlı oluşu enzim adını verdiğimiz biyolojik katalizörler ile gerçekleşebilmektedir (Pekin, B., 1980).

Enzimler, sarmal biçimde kıvrılmış yüksek molekül ağırlıklı proteinlerdir. Enzimlerin en belirgin fonksiyonu canlı hücrelerdeki kimyasal tepkimeleri katalizlemeleridir. Katalizleme olayı, enzimin üzerinde bulunan ve etkin bölge olarak bilinen çok küçük bir bölge tarafından gerçekleştirilir. Katalizleme sırasında substrat etkin bölgeye bağlanır. Maksimum katalitik etki, bu bölgede bulunan fonksiyonel grupların en uygun konuma gelmesiyle oluşur. Enzimlerle ilgili yapılan çalışmalar 1878 yıllarına kadar dayanmaktadır. İlk defa bir enzimin kristal halde elde edilmesi 1926 yılında Sumner adında bir bilim adamı tarafından başarılmış ve bu enzime üreaz adı verilmiştir. Bunu izleyen yıllarda protein yapıları hakkındaki bilgilerin artması ve giderek yeni enzim türlerinin bulunması sonucu enzimoloji adı verilen büyük bir bilim dalı doğmuştur.

Önceleri, enzimlerin katalitik aktivitelerin yalnızca sağlam hücrelerde kaldığı düşünülmüştür. Oysa zamanla bilimsel çalışmalar ilerleyince enzimlerin büyük bir kısmının biyolojik ve katalitik aktiviteleri kaybolmadan hücrelerden ayrılabilirdiği görülmüş ve bu nedenle laboratuvar ya da endüstri koşullarında kullanılabilme olanağının var olduğu anlaşılmıştır (Pekin, B., 1980).

2.5.1 Enzimlerin adlandırılması ve sınıflandırılması

Enzimler kullandıkları substratın veya katalize ettikleri reaksiyonun tipine göre adlandırılmaktadır. Genellikle enzimler, enzimin etkilediği substratın sonuna “ase = az” eki getirilerek adlandırılmaktadır. Örneğin, üreaz üreyi amonyak ve karbondioksite ayırmaktadır. Amilaz ise nişastayı hidroliz eden enzimdir. Enzimler oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlar olmak üzere 6 genel sınıfa ayrılmaktadır.

Enzimlerin bu şekilde adlandırılması halen kullanılmasına rağmen önemini kaybetmiştir. Yeni keşfedilen ve sayıları hızla artan enzimler Uluslararası Biyokimya Derneği (International Union of Biochemistry – IUB) tarafından yeni bir sınıflandırmaya tabi tutulmuştur.

Enzimlerin sınıflandırılmasına yönelik IUB sistemine göre her enzimin sistematik bir kod numarası (E.C.) vardır. Enzimlere 4 numara verilmektedir. İlk numara, enzimin yukarıdaki 6 sınıftan hangisine ait olduğunu, ikinci numara, etki ettiği kimyasal yapıyı ve fonksiyonel grubu, üçüncü numara, akseptörü, dördüncü numara da enzimin aldığı sıra numarasını belirtmektedir (Özata, A., 2000; Erdal, E., 2004).

2.5.2 Enzimlerin kimyasal yapısı

Enzimlerin aktivite göstermeleri için gerekli olan ve protein yapısında olmayan genellikle metal iyonlarından meydana gelmiş yan gruplarına kofaktör adı verilir. Örneğin sitokrom oksidaz Cu^{+2} , DNA polimeraz Zn^{+2} ye kofaktör olarak gereksinim duyarlar.

Enzimlerin aktivite göstermek için ihtiyaç duyduğu kompleks organik moleküllere koenzim adı verilmektedir. Örneğin piruvat karboksilaz biotine, suksinik dehidrogenaz ise koenzim olarak FAD' a ihtiyaç duyarlar. Bazı hallerde enzim aktivite göstermek için hem kofaktöre hem de koenzime ihtiyaç duyabilir. Kofaktörler ve koenzimler gevşek veya sıkı bağlıdır. Genellikle diyaliz ile ayırmak mümkündür. Kofaktör ve koenzimler bazen enzime kovalent olarak bağlanır ve diyaliz ile bile ayırmak mümkün olmaz. Enzim yüzeyine sıkıca bağlanmış ve protein yapısında olmayan bu gruplara prostetik grup adı verilmektedir.

Koenzimlerin yapısında genellikle vitaminler bulunmaktadır. Bu bakımdan vitaminler, koenzimlerin yapısına girdiği için metabolik olayların enzimler tarafından kolayca başarılması için organizma bakımından son derece gerekli bileşiklerdir.

Eğer enzim koenzim ve kofaktörü ile birlikte ve katalitik bakımdan tamamen aktif ise enzimin bu haline haloenzim adı verilir. Eğer enzim koenzim ve kofaktörden ayrılacak olursa ve enzim inaktif hale gelecek olursa enzimin diyalize edilemeyen ve yalnız proteinden meydana gelmiş bu inaktif şekline ise apoenzim adı verilir (Gözükara, E., 1997).

Apoenzime katalitik aktivite özelliği veren kısım kofaktördür. Kofaktörler aşağıda şekil 2.3' de olduğu gibi sınıflandırılırlar.

Genelde apoenzimler yalnız başına katalitik aktivite göstermezler. Ancak, bir apoenzim ile kofaktörü bir arada oldukları zaman gerçek enzim aktivitesi gözlenir (Pekin, B., 1979).



Şekil 2.3 Kofaktörlerin sınıflandırılması (Pekin, B.,1979; Erdal, E., 2004)

2.5.3 Enzimlerin katalitik özellikleri

Enzimler biyolojik reaksiyonları katalize ettikleri için genel olarak biyokatalizörler sınıfına girerler. Doğal enzimler molekül büyüklükleri bakımından genellikle kolloidal tanecikler sınıfına girerler. Bu nedenle kimyasal kataliz yönünden enzimler mikro heterojen katalizörler olarak adlandırılabilirler.

Enzimlerin katalitik aktiviteleri katalize ettikleri reaksiyon hızını tayin ederek saptanır. Enzim aktivitesi turnover sayısı ile belirlenir. Turnover sayısı 1 mol aktif enzim tarafından 1 dakikada ürüne dönüştürülen substratın mol sayısı olarak tanımlanmaktadır. Enzim örneklerinin spesifik aktivitelerini tanımlamak için turnover sayısı yerine, enzim birimi veya ünitesi de denilebilir. Enzim birimi (UI) dakikada 1 mikromol substrat dönüşümünü katalizleyen miligram enzim miktarı olarak tanımlanır. Reaksiyon spesifiklikleri bakımından enzimler 4 gruba ayrılırlar.

1.Salt spesifiklik: Bir enzim yalnız bir reaksiyonu hızlandırabiliyorsa böyle enzimlere salt (mutlak) spesifik enzimler adı verilir.

2.Grup spesifikliği: Bu sınıfa giren enzimlerin etki alanı salt spesifik enzimlerden biraz daha geniştir. Örneğin pepsin enzimi bazı peptid bağlarının hidrolizine etki eden bir katalizördür.

3.Reaksiyon veya bağ spesifikliği: Kimi enzimler belirli bir reaksiyon türünü katalize ederler. Mesala lipazlar, tüm trigliseridlerin tepkimelerini hızlandırır. Yalnız hız artışı yağın çeşidine göre değişiklik gösterir.

4.Stereokimyasal spesiflik: Eğer bir enzim bir bileşigin yalnız bir stereokimyasal şekli üzerine etki ediyorsa, bu tür enzimler bu gruba girerler. Örneğın arjinaz enzimi l-arjininin üzerine etki yaparken d-arjinine hiç bir etki yapmaz (Pekin, B., 1980).

2.5.4 Enzim aktivatörleri ve inhibitörleri

Enzimlerin katalitik etkileri serbest ya da enzime bağılı olarak bazı metal iyonları tarafından artırılmakta veya azaltılmaktadır. Aktivatör olarak etki eden metal iyonlarını yapısında bağılı olarak bulunduran enzimlere de metalloenzimler adı verilir. Enzimler üzerinde aktivatör olarak etki yaptığı saptanan iyonlar şunlardır: Na^+ , K^+ , Rb^+ , Cs^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} , Zn^{+2} , Cd^{+2} , Cr^{+2} , Cu^{+2} , Mn^{+2} , Fe^{+2} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Al^{+3} , NH_4^+

Aktivatör ve inhibitör olarak etki eden her bir iyon için belirli bir optimum konsantrasyon vardır. Bazı enzimler, aktivite gösterebilmeleri için mutlaka bir metal iyonuna gereksinim duyarlar. Bu iyonlar EDTA gibi şelat yapıcı bileşiklerle ortamdandan uzaklaştırıldığı zaman enzim aktivitesinde büyük oranda düşmeler gözlenir.

İnhibütörlerin de aktivatörler gibi reaksiyon hızına etkileri farklılık gösterir. Özellikle protein çöktürmede kullanılan bir takım maddeler inhibüsyona yol açabilirler. Özellikle enzimlerin protein kısmında -SH grubu bulunuyorsa bazı ağır metal iyonları inhibitör olarak etki ederler (Gözükara, E., 1997).

2.5.5 Enzim substrat ilişkisi

Enzim aktif merkezinde görev alan aminoasitlerden bazıları substratın doğru olarak aktif merkeze bağlanmasını sağlamaktadır. Başka bir deyişle enzimlerin aktif merkezinde bir substratın bağlandığı bir de katalitik değişikliğe uğratıldığı merkez bulunmaktadır. O halde aktif merkezdeki bazı bölgeler substratı bağlamakta diğer bölge de kataliz olayını başarmaktadır. O halde aktif merkezde iki bölge bulunmaktadır. Bunlardan birincisi bağlanma bölgesi diğerisi ise katalitik aktivite bölgesidir (Koshland,D. E., 1958).

Substrat ve enzimin birbiriyle bağlanmasıyla alakalı çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Örneğın anahtar-kilit modelinde substratın aktif merkezde enzime bağlanırken anahtar kilit gibi bağlandığı kabul edilmiştir. Diğer bir görüşe göre ise enzim substratı olmadığı zaman serbest olarak bulunmaktadır. Ancak substratı ile buluşacak olursa enzim özel yapısını almakta ve substrat aktif bölgeye bağlanmaktadır. Bu ikinci hipoteze de indüklenmiş uyum hipotezi adı verilmektedir.

2.5.6 Enzim aktivitesine etki eden parametreler

2.5.6.1 pH etkisi

Enzim reaksiyon hızları farklı hidrojen iyonu konsantrasyonlarında farklı değerler almaktadırlar. Enzimin en fazla aktivite gösterdiği pH' a da o enzimin optimum pH' ı denir. Optimum pH değerinin hemen yanındaki pH değerlerinde enzim reaksiyonlarının yavaşladığı görülmektedir. Genellikle optimum pH değerinden uzaklaştıkça aktivite düşmekte, enzim denature olmakta veya inaktif hale geçmektedir. Enzim çalışmalarında optimum pH da çalışabilmek için tampon çözeltiler kullanılmakta ve pH belirli bir değerde sabit tutulmaya çalışılmaktadır (Fersht, A., 1985)

2.5.6.2 Sıcaklık etkisi

Normal kinetik kurallarına göre sıcaklık arttıkça reaksiyon hızı da artmaktadır. Enzim reaksiyonları aktivite sıcaklık ilişkisi bakımından incelendiğinde normal kimyasal reaksiyonlarla birebir uyum sağlamadığı görülür. Enzim reaksiyonlarında ancak belirli bir sıcaklığa kadar reaksiyon hızının dolayısıyla aktivitenin arttığı görülür. Enzimatik reaksiyonlar da bu sıcaklık sınırları içerisinde Arrhenius kanununa uymaktadırlar. Enzimler protein yapısında oldukları için belirli bir sıcaklıktan sonra yapıları bozulmaya başlar, belirli bir süre sonra enzim tamamen denatüre olacağından enzim üst sıcaklık sınırına doğru çıktıkça tamamen aktivitesini yitirir.

2.5.6.3 Substrat konsantrasyonu etkisi

Enzim substrat konsantrasyonu ilişkisi incelendiği zaman başlangıçta substrat konsantrasyonu arttıkça enzimatik tepkime reaksiyon hızının arttığı dolayısıyla enzim aktivitesinin arttığı görülmektedir. Substrat konsantrasyonu belirli bir limite ulaşıncaya kadar iki ihtimal söz konusudur: Substratın inhibe edici etkisi varsa reaksiyonun yavaşladığı gözlemlenir, inhibe edici bir etkisi yoksa substrat konsantrasyonu ne kadar artarsa artsın hızın değişmeden sabit kaldığı gözlemlenmektedir.

2.6 Lipaz enzimi

Lipazlar, enzimler içerisinde yağ asitlerini sentezleyen veya yağları hidrolizleyen lipolitik enzimler olduğundan önemli bir grup oluştururlar ve lipazlar gliserin ile yağ asitlerinden oluşan esterleri hidroliz eden enzimler olarak tanımlanır. Lipazlar sulu ortamda katı ve sıvı yağların ve diğer lipidlerin hidrolizini katalizleyerek diaçilgliserinler, monoaçilgliserinler, gliserin ve serbest yağ asitlerini oluştururlar. Enzimatik hidroliz tepkimesine lipoliz adı verilir.

Lipazların doğal substratları uzun zincirli yağ asitlerinin gliserin esterleri suda çok az çözünürler. Lipazlar, enzimin çözündüğü sulu faz ve su ile karışmayan substrat fazı arasındaki ara yüzeyde ester bağlarının hidrolizini katalizler. Gliseridler tercih edilen substratlarsa da lipaz enzimleri yağ asitlerinin diğer alkollerle yaptıkları esterleri de hidrolizleyebilirler. Ancak suda çözünen esterlere karşı aktiviteleri oldukça düşüktür. Lipazlar spesifik seçiciliği olan biyokimyasal katalizörler olup belirli özellikte ve yapıdaki ester bağlarına etkilidirler. Bu nedenle kimyasal katalizörlerle gerçekleştirilen reaksiyonlarda oluşan ürünlerin kontrolü mümkün değilken lipazlarla yapılan reaksiyonlar kontrol altında tutulabilir, istenmeyen yan ürünlerin oluşumu engellenebilir ya da minimum düzeyde tutulabilir. Lipaz enzimi ile katalizlenen enzimatik reaksiyonların bir diğer önemli avantajı reaksiyonların kimyasal prosese göre nispeten daha ılımlı koşullarda (nötral pH, sıcaklık, atmosferik basınç gibi) gerçekleştirilmesidir. Lipazlar substrat spesifikliklerinden dolayı reaksiyonu daha seçimli gerçekleştirirler. Lipolizin spesifikliği ve derecesi kullanılan lipaza bağlıdır (Elibol, M., 1997).

Lipazlar, hidrolazlar sınıfında olup triaçil gliserol ester hidrolazlar olarak da adlandırılırlar. Üsttede bahsedildiği gibi lipazlar hidrolazlar sınıfında olmakla beraber yağ asit esterlerinin hem hidrolizini hem de sentezini katalizleyebilirler. Katalizleme su ile çözünmez substratın oluşturduğu ara yüzeyde gerçekleşir. Su ve yağın oluşturduğu bu ara yüzey enzim aktivitesi için gereklidir. Lipazın tutuklanması sırasında lipaz ile birlikte tutuklanmış olan su bu ara yüzeyin oluşmasını sağlar (Haas, M. J., 1992).

Dünyada ticari olarak üretilen enzimlerin % 3' ünü lipazlar oluşturur. Lipazlar özelliklerine göre, spesifik olmayan lipazlar, 1,3-spesifik lipazlar ve yağ asidi spesifik lipazlar olarak üç ayrı grupta incelenir.

Dalmau vd. (1999), farklı karbon kaynaklarının *Candida rugosa*'nın gelişimi ve lipaz üretimine etkisini, farklı ortamlarda kesikli kültürler hazırlayarak incelenmişlerdir. Karbonhidratlar ve yağlarla ilgili olmayan asitlerin lipaz üretimini arttırdığı bulunmuştur (Dalmau, E., Mantesinos, J. L., Lotti, M., 1999)

Sharma vd. (2001), üretim, geri dönüşüm ve mikrobiyal lipazların kullanımını incelemiştir. Enzim kinetikleri, termostabilite ve biyoaktivite araştırılmıştır (Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U. C., 2001).

Rigo vd. (2010) farklı miktarlardaki soya küspesindeki hücre dışı lipaz enzimi üretimini, katı durum fermantasyonu ile incelemişlerdir. İki mikroorganizma ile yapılan deneylerde mikroorganizmaların potansiyel lipaz enzimi üretimleri ve farklı pH'larda (4,7 ve 9) hidrolitik aktiviteleri incelenmiştir. Farklı soya küspesi miktarlarındaki fermantasyon ortamında, üre ve soya

yağı ile mikroorganizmaların, daha yüksek lipaz üretim aktivitesine sahip olduğu bulunmuştur (Rigo, E., Ninow, J., L., Luccio M. D.,2010).

2.6.1 Spesifik olmayan lipazlar

Bu gruba giren lipazlar, trigliseridlerin tüm pozisyonlarındaki açıl gruplarını koparabilme yeteneğine sahip olup, sonuçta trigliseridleri, gliserin ve serbest yağ asitlerine parçalarlar. Reaksiyonda ana ürün olarak diaçil ve monoaçil gliserinler oluşur. *Candida cylindracea*, *Corynebacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* ve *Geotrichum candidum* tarafından üretilen lipazlar bu gruba girerler (Elibol, M., 1997).

2.6.2 (1,3)-Spesifik lipazlar

Bu gruba giren lipazlar nötral yağları eşdeğer konuma sahip olan 1 ve 3 pozisyonlarından spesifik olarak hidrolizlerler. Reaksiyon sonunda triaçilgliserinlerden yağ asitleri 1,2(2,3)-diaçilgliserinler ve 2-monoaçilgliserinler oluşur. 1,2(2,3)-diaçilgliserinler ve 2-monoaçilgliserinler kimyasal olarak kararsız olup sırasıyla 1,3-diaçilgliserinlere ve 1,3-monoaçilgliserinlere izomerleşirler. Böylece oluşan izomerler enzim tarafından tekrar substrat olarak kullanılabilir ve sonuçta 1,3-spesifik lipazlar da spesifik olmayan lipazlar gibi trigliserinleri gliserin ve serbest yağ asitlerine kadar parçalayabilirler. Pankreas, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas fluorescens*, *Humicola lanuginosa*, *Rhizopus* ve *Mucor* türlerinden elde edilen lipazlar 1,3-spesifiktir (Haas, M. J., 1992).

2.6.3 Yağ asidi spesifik lipazlar

Bu grup lipazlar açilgliserinlerdeki bazı yağ asitlerine spesifik olup sadece bu yağ asidlerinin oluşturduğu ester bağlarını parçalarlar. Yağ asidi spesifik lipazlar içesterleşme reaksiyonunda kullanılırsa oluşacak ürünler çok sınırlıdır ve bu sayede amaca uygun triaçil gliserinler sentezlenebilmektedir. *Geotrichum candidum* tarafından üretilmiş lipazın uzun zincirli bir yağ asidine özel bu tipinin esterlerin hidrolizi için birçok özelliğe sahip olduğu bilinmektedir. (Baillargeon, M. W., 1989)

Lipaz enzimleri, iç esterleşme prosesinde serbest halden çok ekonomik açıdan daha uygun olan tutuklanmış halde kullanılırlar. Enzim tutuklanması için organik çözücülerden etkilenmeyen inert destekler (taşıyıcı) gerektiğinden, enzim tutuklanmasında kieselguhr, diatome toprağı, celite, hidrosiapatit gibi inorganik taşıyıcıların kullanılması uygundur. Literatürde lipaz enzimini tutuklamak için kullanılan diğer malzemeler ise, silika jel, oyuklu elyaf, prepolimer reçineler, poliüretan prepolimerler, Ca-aljinat, reçineler (amberlite), jeller (octyl sefaroze, diaion), sefadeks, PVC, kitin, kitosan, agaroz, sefaroze ve trisakrildir (Sharma, R., 2001).

Lipazlar fiziksel özellikleri, substrat spesiflikleri gibi biyokimyasal özellikleri, optimum reaksiyon koşulları, aktivatörlere gereksinimleri ve inhibitörlere duyarlılıkları açısından birbirlerinden farklılıklar gösterirler. Lipazların büyük çoğunluğu trigliseridlerdeki ester bağları ve bu moleküllerdeki yağ asidlerinin uzunluğu için yüksek spesifliğe sahiptir. Örneğin *Candida cylindracea*' dan elde edilen enzim trigliseriddeki üç ester bağının hepsine birden atak yapar ancak oldukça zayıf termal kararlılığa sahiptir. *Penicillium cyclopium*'dan elde edilen lipazın bu üç pozisyonada atak yaptığı fakat bu zincirin trigliseridlere nazaran monogliseridlere daha hızlı atak yaptığı kaydedilmiştir. Taksonomik olarak yakın zincirler farklı tipte lipazlar üretebilirler, bu nedenle lipazın farklı kaynaklarının araştırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Saxena, R. K., 2003). Ökaryotlarda, lipazlar yağın sindirilmesi, absorpsiyon, yeniden yapılanmayı kapsayan lipid metabolizmasının ve lipoprotein metabolizmasının değişik basamaklarında içerilmektedirler. Bitkilerde lipazlar enerji depolama dokularında bulunurlar. Lipazlarla lipidlerin ara yüzeyde nasıl etkileştikleri hala tam olarak açık değildir ve yoğun araştırmaların konusudur. Hemen hemen her hafta yeni bir kaynaktan yeni bir lipazın keşfi literatürde kaydedilmektedir. Lipazlar üzerindeki araştırmalar Avrupa Topluluğu tarafından desteklenen bir araştırma projesinden esas ivmesini almaktadır. Bu projede, bir kaç lipaz yapısı X- ışını kristalografisi ile çözülmüştür ve enzimlerin bu sınıfı moleküler biyoloji ve kinetik açısından ayrıntılı bir şekilde incelenmektedir (Haas, M. J., 1992).

2.6.4 Lipaz aktivitesi tayin metotları

Lipaz aktivitesi oluşan tepkimedeki trigliseridin ortadan kaybolması veya yağ asidi ve gliserol oluşumu izlenerek saptanabilir. Trigliseridin azalma hızının saptanmasıyla ilgili eski bir metot olan ve özellikle tributirin substratı için geliştirilen stalagmometrik yöntemden bahsedilebilir. Yöntemin esası yüzey gerilimindeki değişimin ölçümüdür. Bunun yanında tepkimenin olduğu ortamdaki emülsiyonun berraklığının zamanla değişiminin izlendiği türbidimetrik metottan da bahsedilebilir. Bu iki metot da trigliseridin azalma hızının tespitiyle alakalıdır (Groves, J. T., 1997).

Yağ asidi artım hızının ölçülmesiyle ilgili özellikle pH stat metodundan bahsedilebilir. Aktivite tayininde en çok tercih edilen metotlardan birinin bu olduğu söylenebilir. Yöntemin esası yağ asidi oluşumuyla düşen pH'ın kontrolü esasına dayanır. Ortam pH'ı düzenli olarak ölçülür ve azalan pH bir baz yardımı ile belli bir pH değerinde sabit tutulmaya çalışılır. Tepkime boyunca kullanılan baz miktarından hareketle kullanılan enzimin aktivitesi tayin edilmeye çalışılır.

Bu bahsedilen metotların yanında karbondioksit hacminin zamanla ölçüldüğü warburg analizinden, özgül hacimlerin değişimine dayanan dilatometrik yöntemden ve genellikle kompleks oluşumlarına dayanan bir yöntem olan kolorimetrik yöntemlerden bahsedilebilir.

2.6.4.1 Para nitro phenil palmitate (p-NPP) metodu

Lipaz aktivite tayin metotlarından biri de spektrofotometrik bir metot olan p-NPP metodudur. Özellikle çok sayıda aktivite tayininin yapılacağı durumlarda pratikliği, ölçüm hassasiyeti ve çok sayıda deney setine kolayca uygulanabilirliği açısından son yıllarda özellikle tercih edilen bir metottur. Esası p-nitro phenil palmitate kullanılarak oluşan tepkime sonucu ortaya çıkan p-nitro phenolun zamanla değişiminin spektrofotometre yoluyla takibine dayanır (Gupta, N., Rathi P., 2002).

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Deneyler

Deneyisel çalışmalar 100.0 mL çalışma hacmine sahip 250.0 mL'lik steril erlenlerde sabit sıcaklık ve 150 rpm karıştırma hızında çalışan çalkalayıcıda kesikli olarak gerçekleştirilmiştir. Deneyler metal iyonu içeren ve içermeyen besin ortamlarına alıştırılarak üstel üreme evresine gelmiş mikroorganizma çözeltilisinden 1.0 mL aşı alınarak deney ortamına eklenmesiyle başlatılmıştır. Bütün deneylerde sıcaklık 25°C'de sabit tutulmuştur.

3.1.1 Analiz yöntemleri

Belirli zaman aralıklarında deney ortamından steril olarak alınan örnekler santrifüjlenerek, sıvı kısım lipaz, metal iyonu ve sakkaroz derişiminin tayininde, dipte çökelen kısım ise mikroorganizma derişiminin bulunmasında kullanılmıştır.

3.1.2 Lipaz aktivitesi tayini

Lipaz aktivitesinin saptanması için de spektrofotometrik yöntem kullanılmıştır. Bir lipaz birimi 30°C ve pH 6.0' da dakikada 1 µmol yağ asidini serbest bırakmak için ihtiyaç duyulan enzim miktarı olarak tanımlanmaktadır.

3.1.3 Mikroorganizma derişimi tayini

Alınan örnekteki yaş maya derişimi g/L cinsinden spektrofotometrik olarak 360 nm'de absorbans okunarak tayin edilmiştir. Daha sonra yaş ağırlık, yaş-kuru ağırlık mikroorganizma çalışma doğrusundan yararlanılarak kuru mikroorganizma derişimine geçilmiştir.

3.1.4 Sakkaroz derişimi tayini

Örnekteki sakkaroz derişimi g/L cinsinden, sakkarozun dinitrosalisilikasit ile verdiği turuncu-koyu kırmızı renkli kompleks yardımıyla spektrofotometrik olarak 575 nm'de absorbans okunarak tayin edilmiştir (Forouchi ve Gunn, 1983).

3.1.5 Bakır(II)/nikel(II) iyon derişiminin tayini

Biyosorpsiyon ve biyobirikim deneylerinde tekli bakır(II) veya nikel(II) içeren deney ortamından alınan örnekteki serbest bakır(II) veya nikel(II) derişimi, bakır(II) iyonlarının veya nikel(II) iyonlarının sodyum dietil ditiyokarbamatla yaptığı sarı-kahverengi renkli kompleks yardımıyla spektrofotometrik olarak 460 nm'de absorbans okunarak tayin edilmiştir (Snell ve Snell, 1959; Sandell, 1961).

3.1.6 Mikroorganizma özgül üreme hızı

Kesikli sistemde üstel üreme evresinde mikroorganizma derişiminin zamanla değişimi özgül üreme hızı ile ifade edilir ve Eşitlik 2.1 ile verilir (Pekin, 1983; Kargı, 1993).

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad (2.1)$$

t=0 anında X=X₀, t=t anında X=X sınır koşullarında Eşitlik 2.1'in integrasyonu ile Eşitlik 2.2 elde edilir.

$$\ln \frac{X}{X_0} = \mu t \quad (2.2)$$

Bu eşitliklerde;

μ : Özgül üreme hızı (sa⁻¹),

X: Kuru mikroorganizma derişimi (g /L),

t : Zaman (sa)'dır.

3.1.7 Metal iyonu içermeyen ortamda büyüme kinetiğinin modellenmesi ve monod eşitliğı

Kesikli sistemde substrat inhibisyonunun gözlenmediğı durumda, özgül üreme hızı ile mikroorganizmanın üreme hızını kontrol eden besin maddesi (substrat) arasındaki ilişki Monod eşitliğı ile verilir (Shuler ve Kargı, 2002).

$$\mu = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (2.3)$$

Burada $S \gg K_s$ olduğu zaman;

μ_m : Maksimum özgül üreme hızı (sa^{-1}),

K_s : Doygunluk sabiti (g/L)'dir.

Eşitlik 2.3'ün doğrusallaştırılmış şekli Eşitlik 2.4 ile gösterilebilir:

$$\frac{1}{\mu} = \frac{1}{\mu_m} + \frac{K_s}{\mu_m} \frac{1}{S} \quad (2.4)$$

$1/\mu$ 'ye karşı $1/S$ grafiğinin, y eksenini kesim noktasından μ_m , doğrunun eğiminden ise K_s bulunur. Düşük K_s değeri mikroorganizmanın düşük substrat derişimlerinde de hızlı ürediğini gösterir.

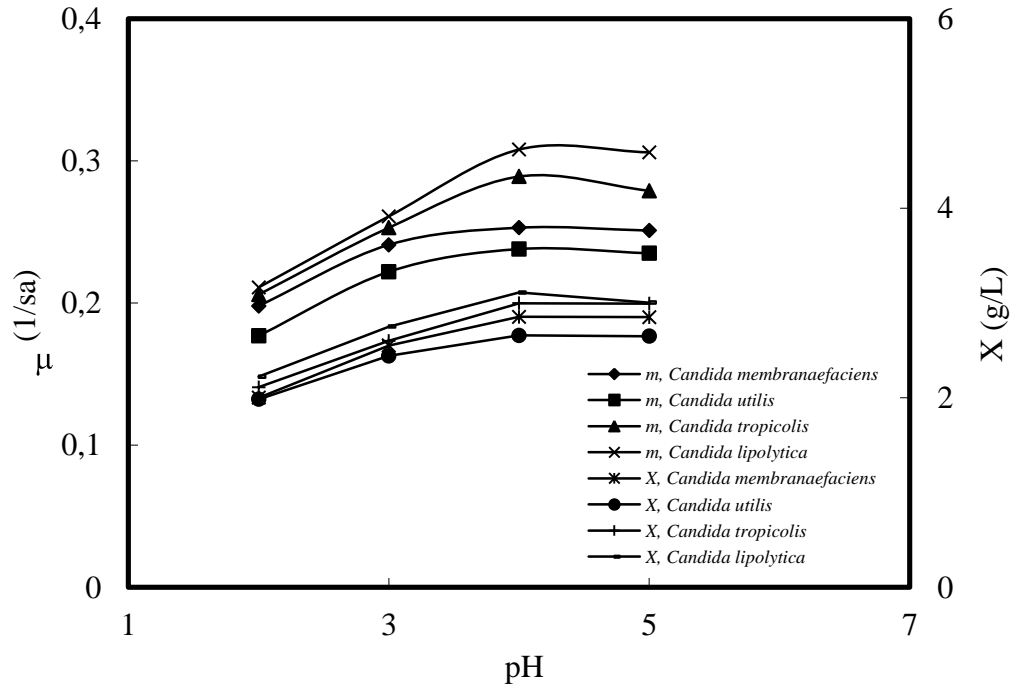
4. BULGULAR

4.1 Mikroorganizma üremesi

Candida lipolytica, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefeciens* mayalarıyla yapılan deneysel çalışmaların ilk kısmında normal besin ortamında mayaların üreme yeteneği incelenmiş ve mikroorganizmaların optimum üreme pH'ı belirlenmiştir. Mikroorganizmanın maksimum enzim aktivitesini ve metal tutma kapasitesini de maksimum ürettiği pH'da gösterdiği bulunmuş, enzim ve biyobirikim deneyleri de bu pH değerinde gerçekleştirilmiştir.

4.1.1 Başlangıç pH'ının etkisi

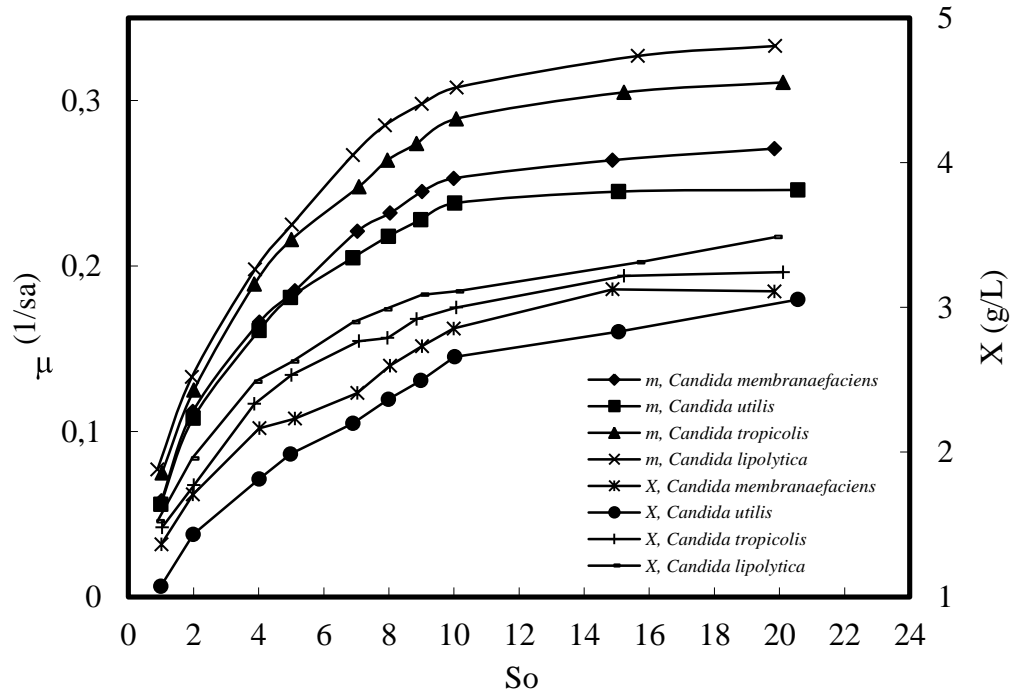
Ortam pH'ı mikroorganizma üremesi için en önemli parametrelerden biridir. Şekil 4.1'den 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde yapılan deneylerde başlangıç pH'ındaki artışın mikroorganizma üremesini bütün maya hücreleri için arttırdığı ve pH 4.0 değerinde maksimum üreme elde edildiği görülmektedir. En yüksek özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimi *Candida lipolytica* mayasında elde edilmiştir (pH 4.0'de özgül üreme hızı 0.253 1/sa, mikroorganizma derişimi 0.308 g/L).



Şekil 4.1 *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefeciens* mayaları için başlangıç pH'ının özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (S₀: 10 g/L; T: 25°C; KH: 150 rpm)

4.1.2 Başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi

Deneysel alışmalar boyunca melas sakkarozu ana karbon kaynağı olarak kullanılmış, başlangıç sakkaroz derişiminin üremeye etkisi 1-20 g/L derişim aralığında mayaların en yüksek üreme değerlerinin elde edildiği pH 4.0 değerinde incelendiğinde, başlangıç sakkaroz derişiminin artmasıyla üreyen mikroorganizma derişiminin mayaların özgöl üreme hızı ve maksimum üreyen miktarını arttırdığı görölmüştür (şekil 4.2).

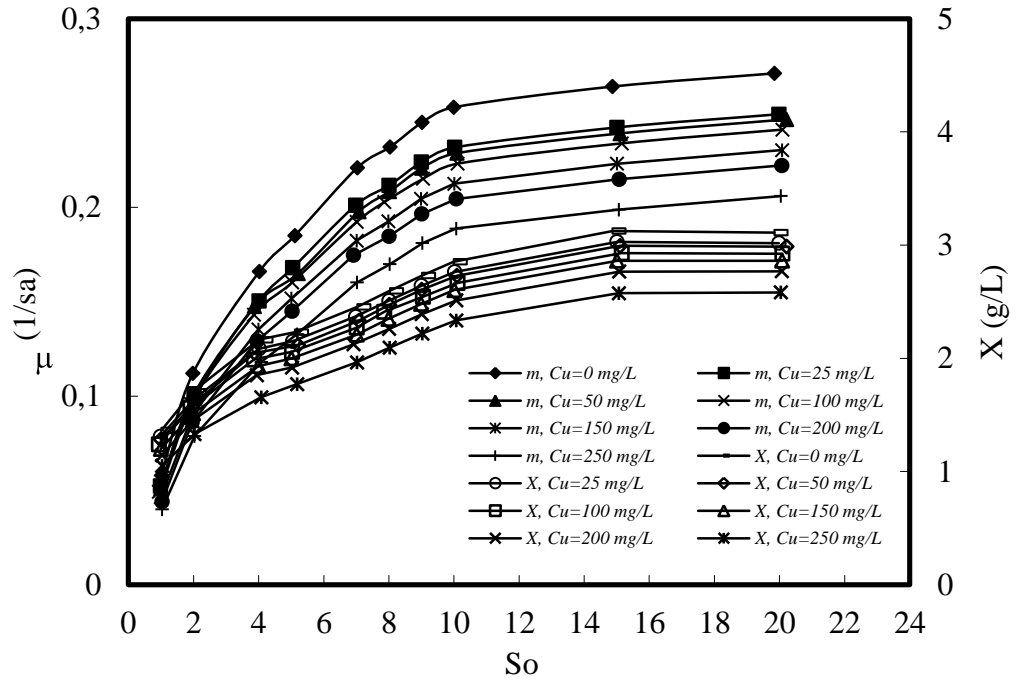


şekil 4.2 *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için başlangıç sakkaroz derişiminin özgöl üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4, T: 25°C; KH: 150 rpm)

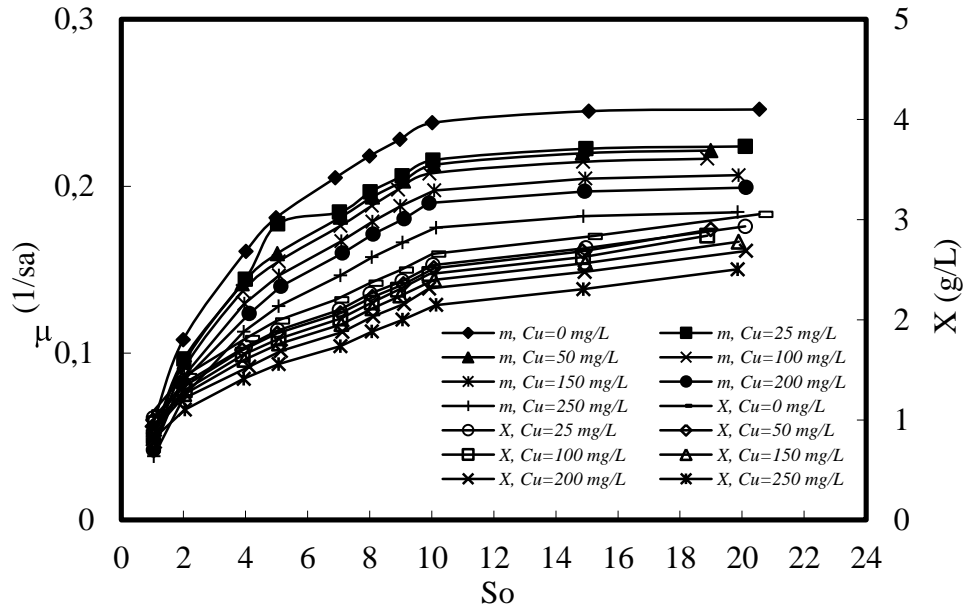
4.1.3 Başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin etkisi

Başlangıç metal iyonlarının bulunduğu ortamda bu iyonların mikroorganizma üremesi ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimlerine etkisi *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için, başlangıç sakkaroz derişimi 1-20 g/L aralığında, tekli başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimleri ise 0-250.0 mg/L aralığında değiştirilerek incelenmiştir. Başlangıç sakkaroz derişimine karşı başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin mikroorganizma özgöl üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimine etkileri bütün maya hücreleri için şekil 4.3, şekil 4.4, şekil 4.5, şekil 4.6, şekil 4.7,

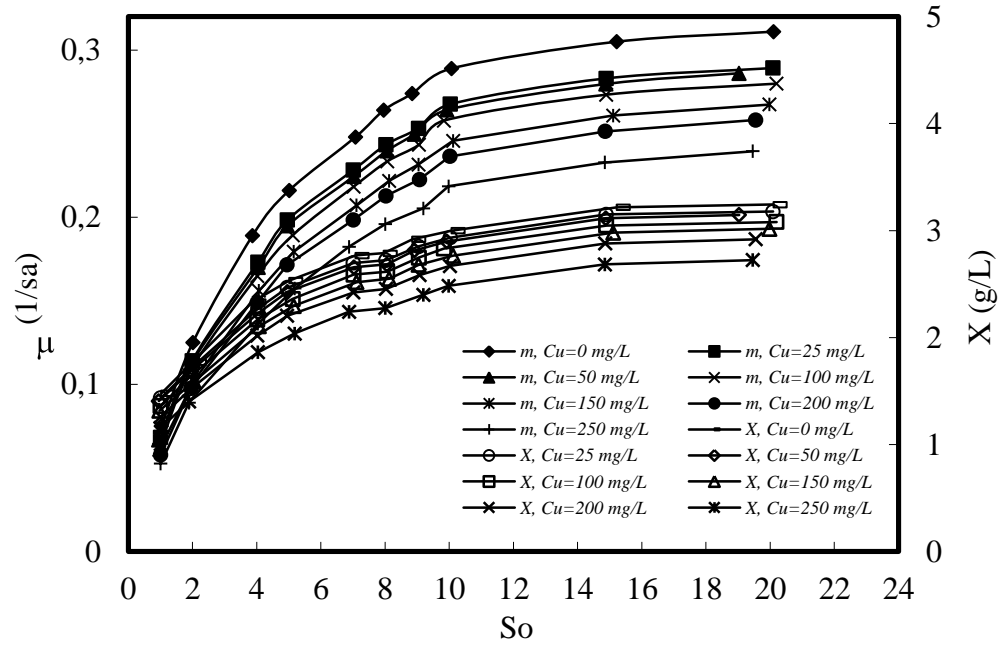
Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11’de verilmiştir. Şekillerden başlangıç sakkaroz derişiminin artmasıyla mikroorganizma özgül üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimlerinin arttığı, ortamda artan bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin ise mikroorganizma özgül üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimlerini düşürdüğü, nikel(II) iyonlarının mikroorganizma üremesi değerlerini azaltıcı etkisinin bakır(II) iyonlarından daha yüksek olduğu görülmektedir. Örneğin 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda metal iyonları bulunmazken mikroorganizma özgül üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimi sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 0,253 sa⁻¹ ve 2,854 g/L, *Candida utilis* için 0,238 sa⁻¹ ve 2,658 g/L, *Candida tropicalis* için 0,289 sa⁻¹ ve 2,999 g/L, *Candida lypolitica* için de 0,308 sa⁻¹ ve 3,111 g/L iken, 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde başlangıç bakır(II) derişimi 100.0 mg/L iken mikroorganizma özgül üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimi sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 0,223 sa⁻¹ ve 2,666 g/L, *Candida utilis* için 0,207 sa⁻¹ ve 2,460 g/L, *Candida tropicalis* için 0,257 sa⁻¹ ve 2,831 g/L, *Candida lypolitica* için 0,277 sa⁻¹ ve 2,968 g/L ve 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde başlangıç nikel(II) derişimi 100.0 mg/L iken mikroorganizma özgül üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişimi sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 0,215 sa⁻¹ ve 2,574 g/L, *Candida utilis* için 0,199 sa⁻¹ ve 2,371 g/L, *Candida tropicalis* için 0,248 sa⁻¹ ve 2,735 g/L, *Candida lypolitica* için de 0,267 sa⁻¹ ve 2,868 g/L olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar mayalar arasında en verimli üremeyi *Candida lypolitica*’nın gösterdiğini, ortamdaki bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının mayaların üremesini inhibe ettiğini, nikel(II) iyonlarının mayaların üremesine inhibisyon etkisinin bakır(II) iyonlarına göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.



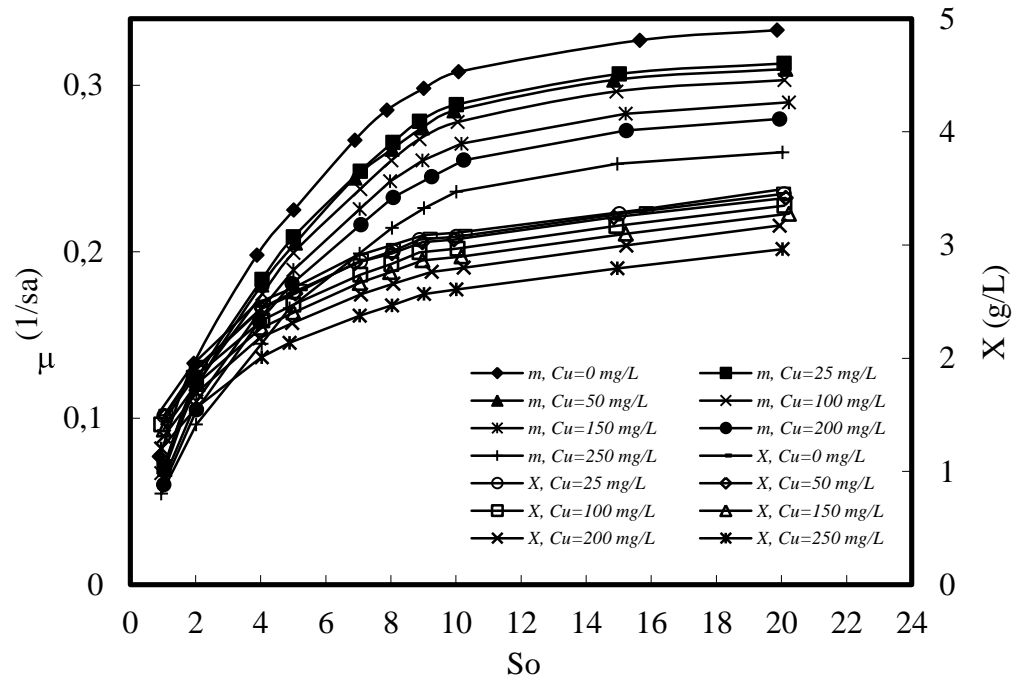
Şekil 4.3 *Candida membranaefaciens* mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



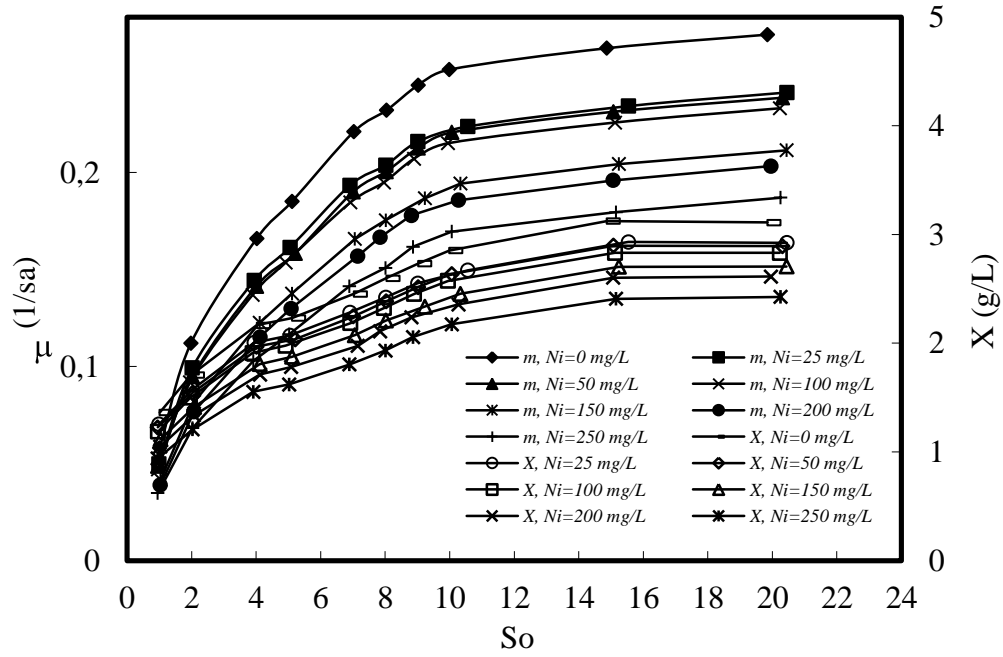
Şekil 4.4 *Candida utilis* mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



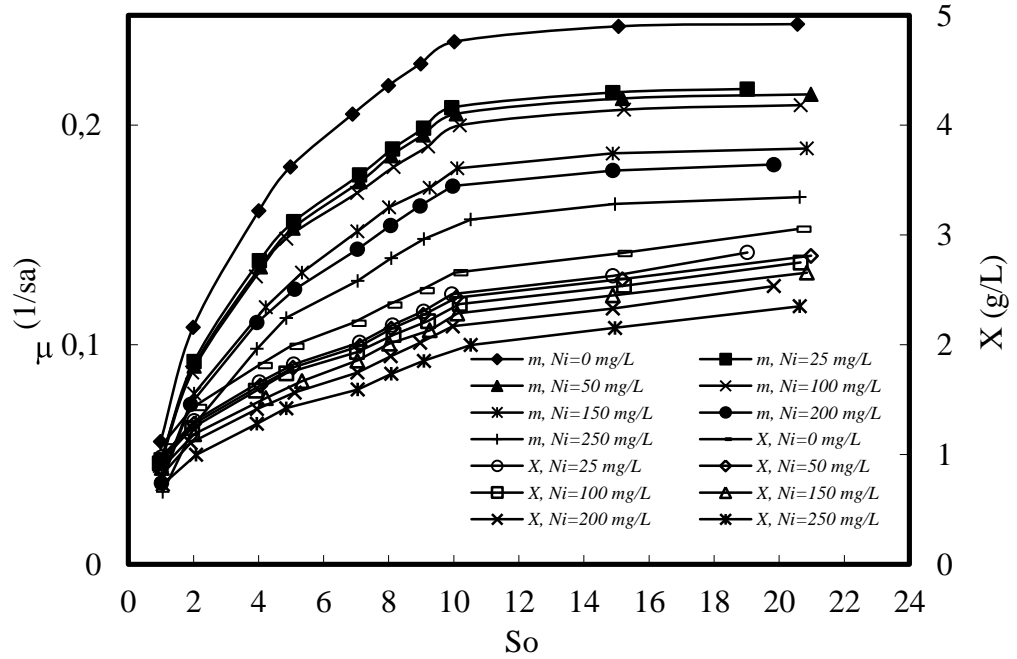
Şekil 4.5 *Candida tropicalis* mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



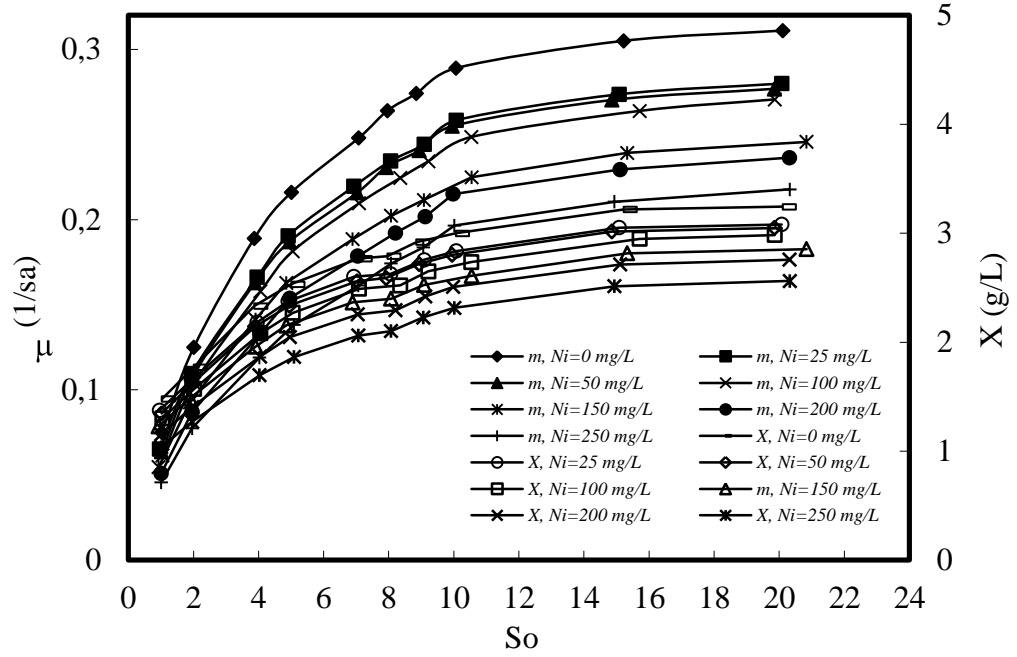
Şekil 4.6 *Candida lipolytica* mayası için farklı başlangıç bakır(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



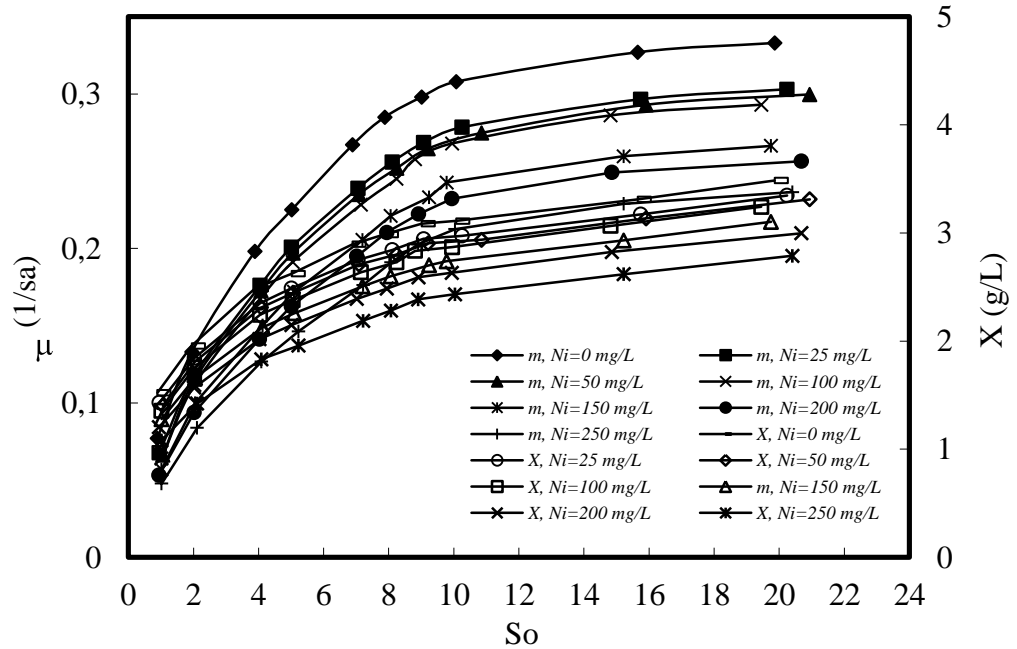
Şekil 4.7 *Candida membranaefaciens* mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.8 *Candida utilis* mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

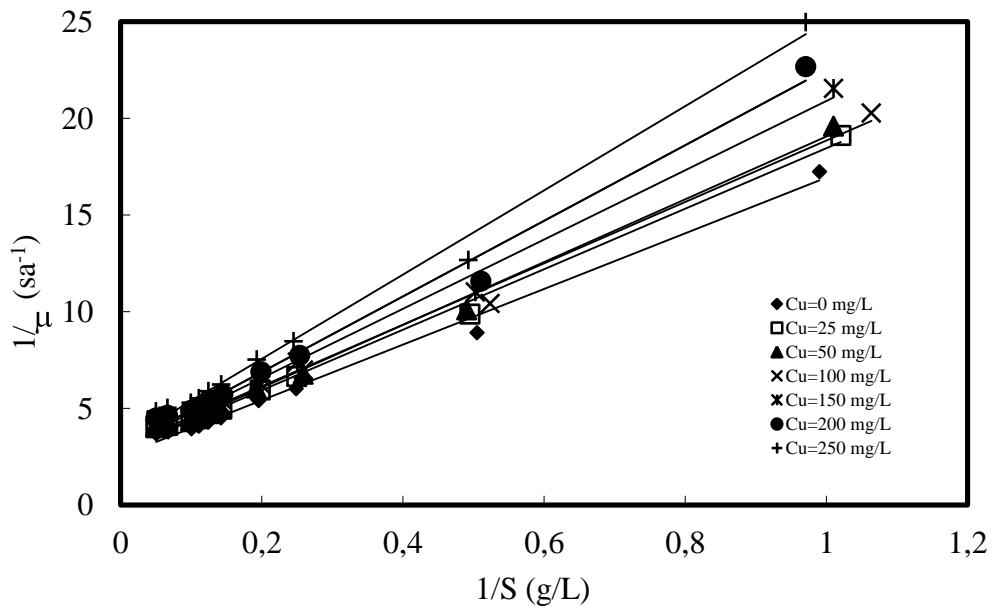


Şekil 4.9 *Candida tropicalis* mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

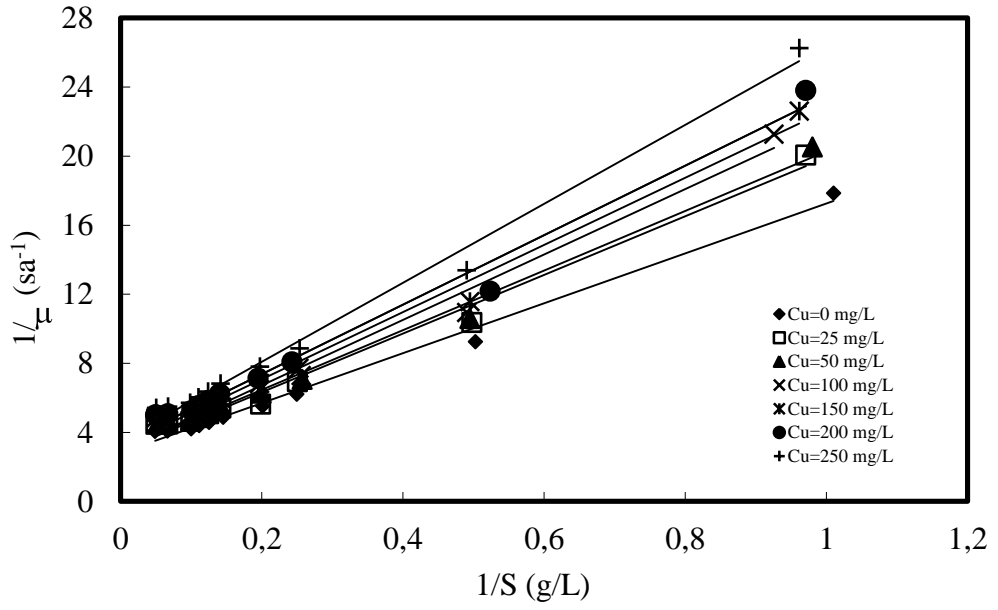


Şekil 4.10 *Candida lipolytica* mayası için farklı başlangıç nikel(II) iyon derişimlerinde başlangıç sakkaroz derişiminin özgül üreme hızı ve üreyen mikroorganizma derişimine etkisi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

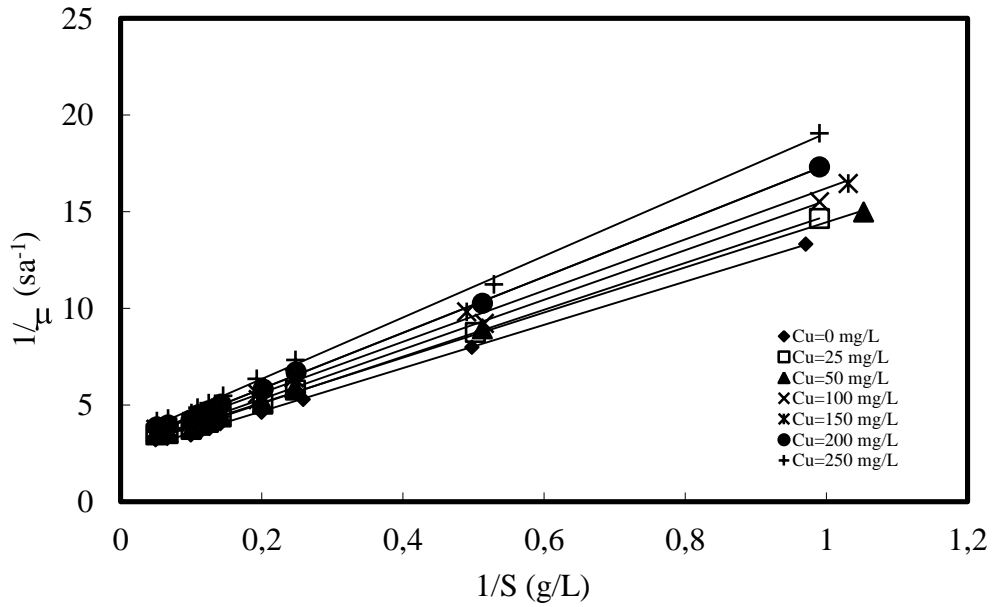
Candida lipolytica, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için farklı başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimlerinde Monod eşitliğine göre çizilen $1/\mu$ - $1/S$ (Şekil 4.11, Şekil 4.12, Şekil 4.13, Şekil 4.14, Şekil 4.15, Şekil 4.16, Şekil 4.17 ve Şekil 4.18,) izotermelerinden bulunan kinetik sabitler olan maksimum özgül üreme hızı (μ_{max}) ve doygunluk sabiti (K_s) değerleri Çizelge 4.1'de sunulmuştur.



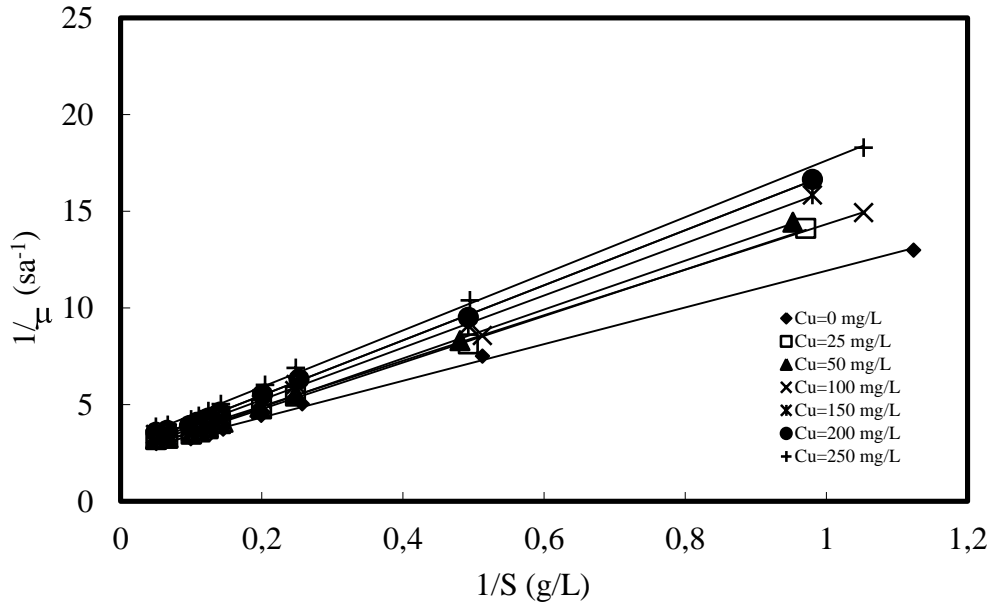
Şekil 4.11 *Candida membranaefaciens* için bakır(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4,0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



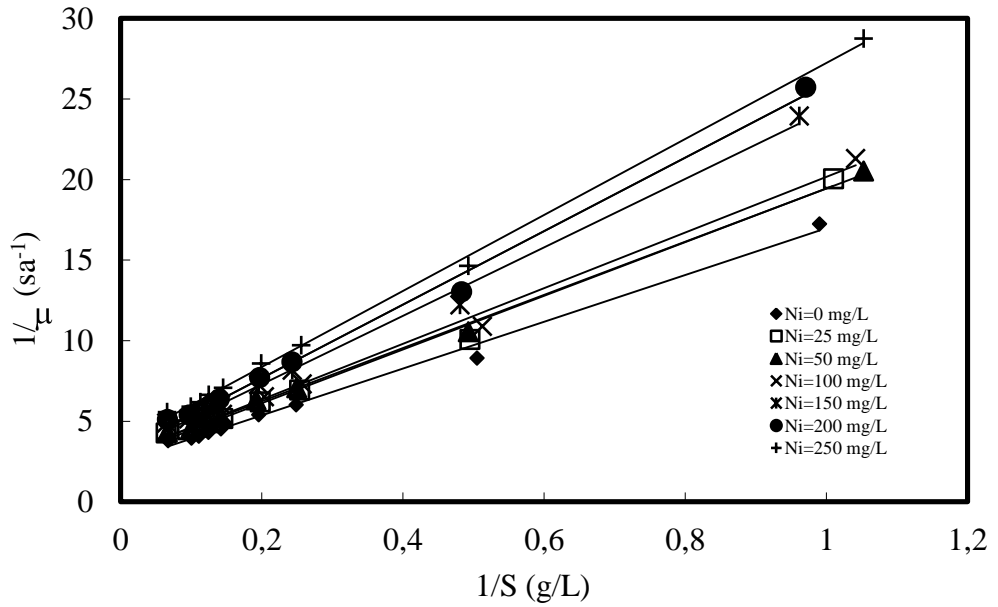
Şekil 4.12 *Candida utilis* için bakır(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



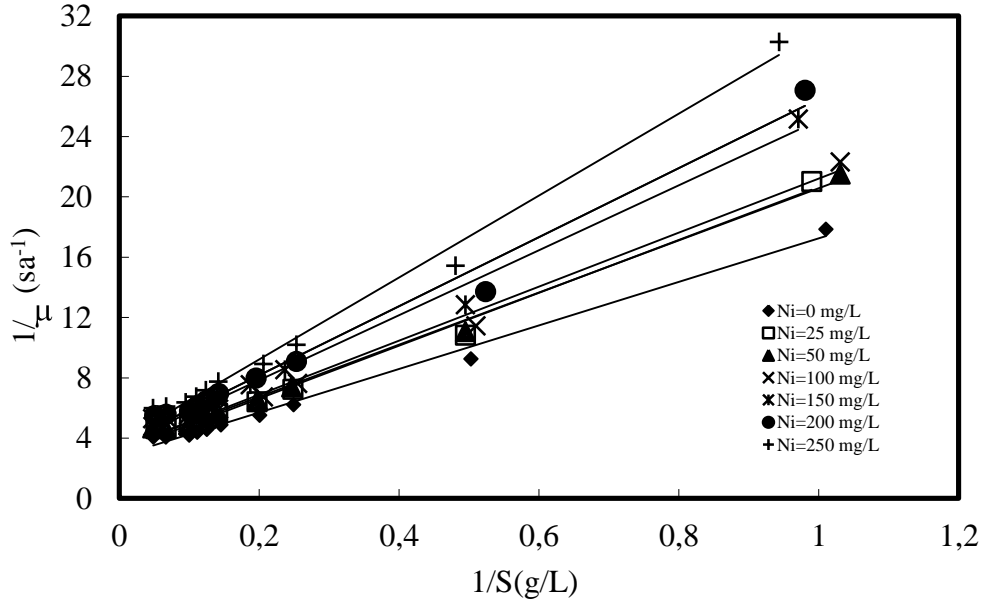
Şekil 4.13 *Candida tropicalis* için bakır(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



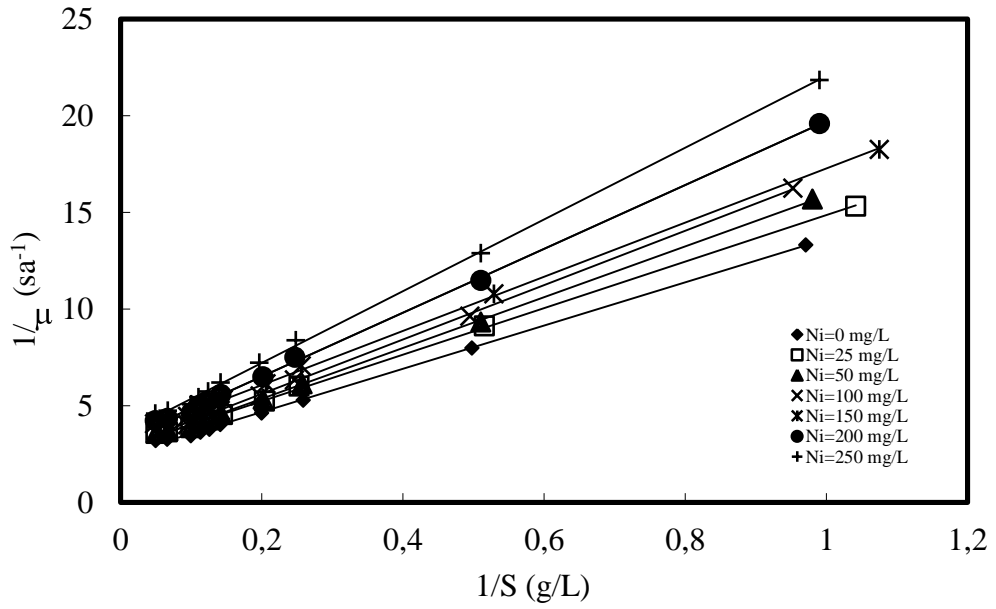
Şekil 4.14 *Candida lypolytica* için bakır(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



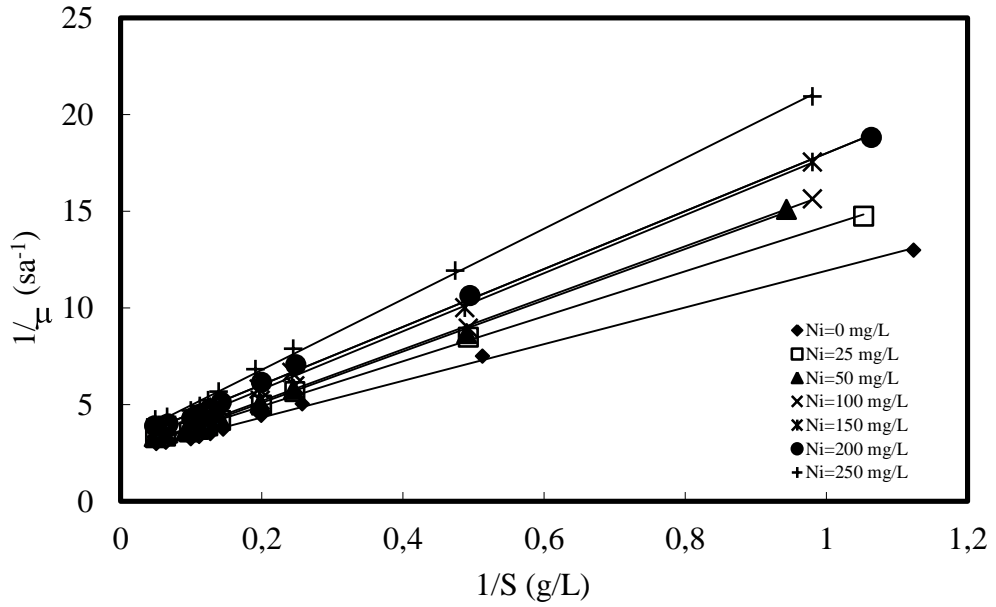
Şekil 4.15 *Candida membranaefaciens* için nikel(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.16 *Candida utilis* için nikel(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.17 *Candida tropicalis* için nikel(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.18 *Candida lypolytica* için nikel(II) içeren ortamda $1/\mu$ - $1/S$ grafiği (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

Çizelge 4.1 Farklı başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyonu derişimlerinde ve 1-20 g/L aralığında başlangıç sakkaroz derişimi içeren ortamlarda Monod eşitliğine göre bulunan maksimum özgül üreme hızı ve doygunluk sabiti değerleri

| Metal İyonu | | <i>Candida membranefeciens</i> | | <i>Candida utilis</i> | | <i>Candida tropicalis</i> | | <i>Candida lypolytica</i> | |
|-------------|-----------|--------------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------------------|--------|---------------------------|--------|
| C_{oCu} | C_{oNi} | μ_{max} | K_s | μ_{max} | K_s | μ_{max} | K_s | μ_{max} | K_s |
| mg/L | mg/L | sa ⁻¹ | g/L | sa ⁻¹ | g/L | sa ⁻¹ | g/L | sa ⁻¹ | g/L |
| 0,0 | 0,0 | 0,3923 | 5,6417 | 0,3562 | 5,1442 | 0,4080 | 4,5573 | 0,4096 | 3,8852 |
| 25,0 | 0,0 | 0,3542 | 5,3990 | 0,3415 | 5,8051 | 0,3743 | 4,555 | 0,4223 | 5,0800 |
| 50,0 | 0,0 | 0,3542 | 5,7532 | 0,3314 | 5,7232 | 0,3579 | 4,1755 | 0,4254 | 5,3688 |
| 100,0 | 0,0 | 0,3370 | 5,3540 | 0,3414 | 6,4721 | 0,3631 | 4,6773 | 0,3885 | 4,5681 |
| 150,0 | 0,0 | 0,3352 | 6,0040 | 0,3148 | 6,1285 | 0,3354 | 4,4410 | 0,3907 | 5,2713 |
| 200,0 | 0,0 | 0,3367 | 6,5868 | 0,2995 | 6,0334 | 0,3380 | 4,8870 | 0,3781 | 5,3783 |
| 250,0 | 0,0 | 0,3108 | 6,7714 | 0,2851 | 6,5197 | 0,3137 | 4,984 | 0,3358 | 4,9207 |
| 0,0 | 25,0 | 0,3468 | 5,7250 | 0,3196 | 5,600 | 0,3525 | 4,2434 | 0,3450 | 4,4736 |
| 0,0 | 50,0 | 0,3314 | 5,4340 | 0,3053 | 5,2806 | 0,3651 | 4,7962 | 0,4070 | 5,3946 |
| 0,0 | 100,0 | 0,3337 | 5,7184 | 0,3021 | 5,4083 | 0,3566 | 5,0135 | 0,3952 | 5,2681 |
| 0,0 | 150,0 | 0,3177 | 6,6938 | 0,2826 | 6,0892 | 0,3048 | 4,2690 | 0,3582 | 5,3844 |
| 0,0 | 200,0 | 0,3097 | 7,0040 | 0,2783 | 6,3743 | 0,3099 | 5,1117 | 0,3286 | 4,9181 |
| 0,0 | 250,0 | 0,2671 | 6,2658 | 0,2647 | 7,1964 | 0,2840 | 5,2692 | 0,3174 | 5,7960 |

Çizelge 4.1'den başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimi arttıkça mikroorganizma maksimum özgül üreme hızının azaldığı, doygunluk sabiti değerlerinin ise arttığı görülmektedir. Maksimum özgül üreme hızının metal iyonu derişimi arttıkça azalması, metal iyonlarının maya hücrelerinin

üremesini inhibe ettiğini, doygunluk sabiti değerlerinin artması ise artan metal iyonu derişimleriyle birlikte mayaların üreyebilmek için daha yüksek oranda karbon kaynağına ihtiyaç duyduğunu göstermektedir. Ayrıca çizelgeden nikel(II) iyonlarının maya hücrelerine inhibisyon etkisinin bakır(II)'ye göre daha fazla olduğu anlaşılmaktadır.

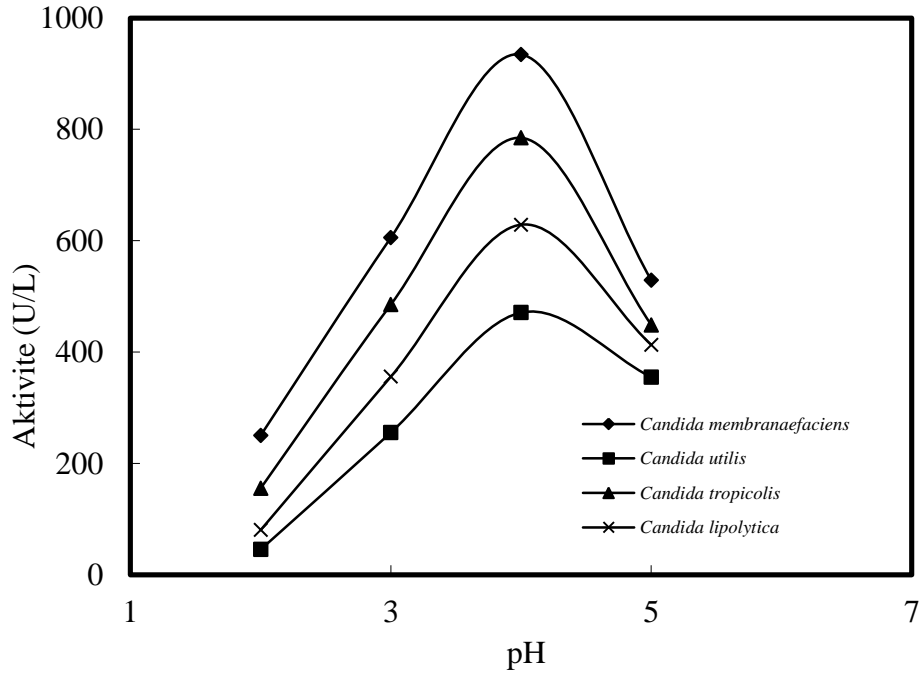
4.2 Enzim deneyleri

Candida lypolytica, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayalarıyla yapılan enzim üretim çalışmalarında başlangıç pH'ı, başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi, karışımdaki metal iyonunun türü ve derişimleri, lipaz enzimi üretim hız ve verimini etkileyen önemli parametreler olarak ele alınmıştır.

Mikroorganizmanın maksimum enzim aktivitesini de maksimum ürettiği pH'da gösterdiği bulunmuş ve enzim deneyleri de bu pH değerinde gerçekleştirilmiştir.

4.2.1 Başlangıç pH'ının etkisi

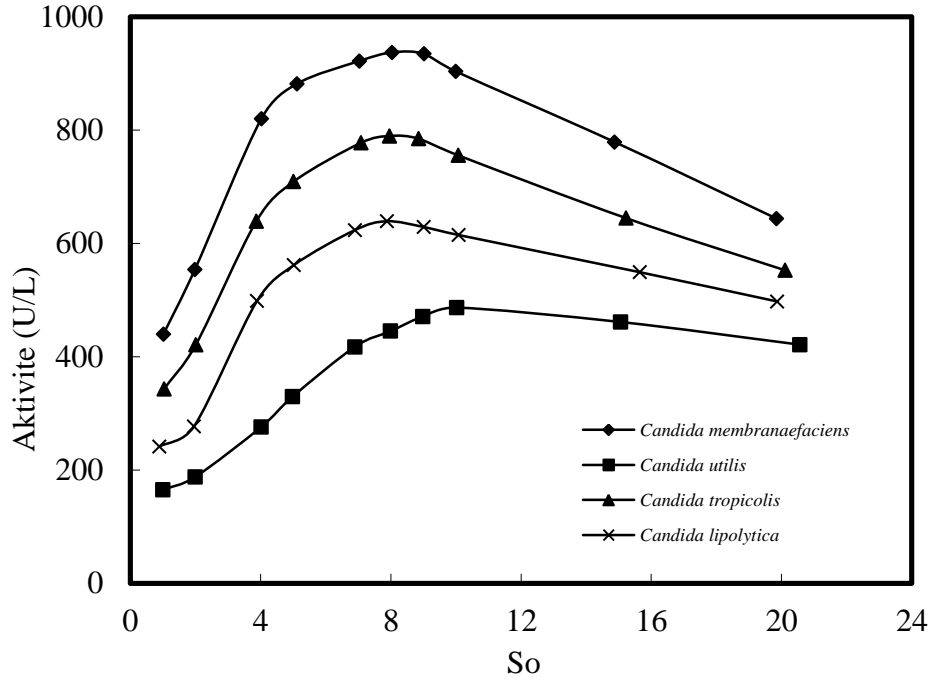
Ortam pH'ı mikroorganizmaların enzim aktivitesi için en önemli parametrelerden biridir. Şekil 4.19'dan 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde yapılan deneylerde başlangıç pH'ındaki artışın enzim aktivitesini bütün maya hücreleri için artırdığı ve pH 4.0 değerinde maksimum aktivite elde edildiği, en yüksek aktiviteyi *Candida membranaefaciens*'in, en düşüğünü ise *Candida utilis* mayasının gösterdiği görülmektedir (pH 4.0'de *Candida membranaefaciens*'in enzim aktivitesi 934.52 U/L, *Candida utilis*'in enzim aktivitesi 470.92 U/L).



Şekil 4.19 *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için başlangıç pH'nın lipaz enzimi aktivitesine etkisi (S_0 : 10 g/L; T: 25°C; KH: 150 rpm)

4.2.2 Başlangıç sakkaroz derişiminin etkisi

Deneysel çalışmalar boyunca melas sakkarozu ana karbon kaynağı olarak kullanılmış, başlangıç sakkaroz derişiminin enzim aktivitesine etkisi 1-20 g/L derişim aralığında ve mayaların en yüksek üreme değerlerinin elde edildiği pH 4.0 değerinde incelendiğinde, başlangıç sakkaroz derişiminin artmasıyla mayaların enzim aktivitelerinin bütün mayalar için 10 g/L sakkaroz derişimine kadar arttığı, bu değer üzerindeki başlangıç sakkaroz derişimlerinde ise enzim aktivitesinin azaldığı, en yüksek aktiviteyi *Candida membranaefaciens* mayasının, en düşük aktiviteyi ise *Candida utilis* mayasının gösterdiği bulunmuştur (Şekil 4.20). Enzim aktivitesindeki artışın mikroorganizma üremesiyle doğrudan ilgili olduğu ve mikroorganizma üremesi arttıkça üreyen mikroorganizmaların daha fazla enzim ürettiği anlaşılmaktadır. Ayrıca mayaların üremesinde en yüksek üremeyi gösteren maya olan *Candida lipolytica*'nın en yüksek enzim aktivitesini gösterememesi, enzim üretiminin maya üremesinden başka mikroorganizma yapısındaki farklılıklara da bağlı olduğunu göstermektedir.

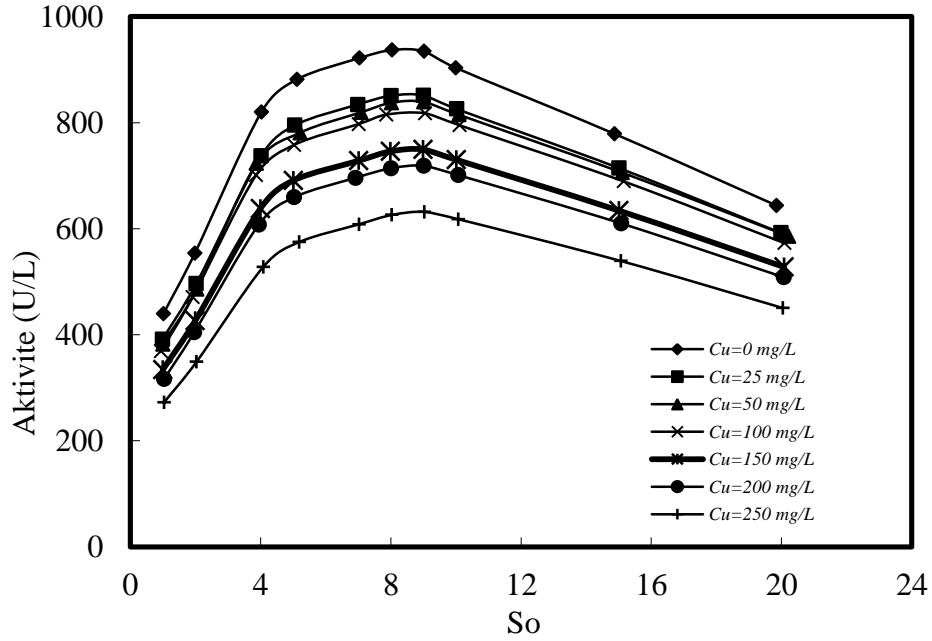


Şekil 4.20 *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için başlangıç sakkaroz derişiminin mayaların enzim aktivitesine etkisi (pH:4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

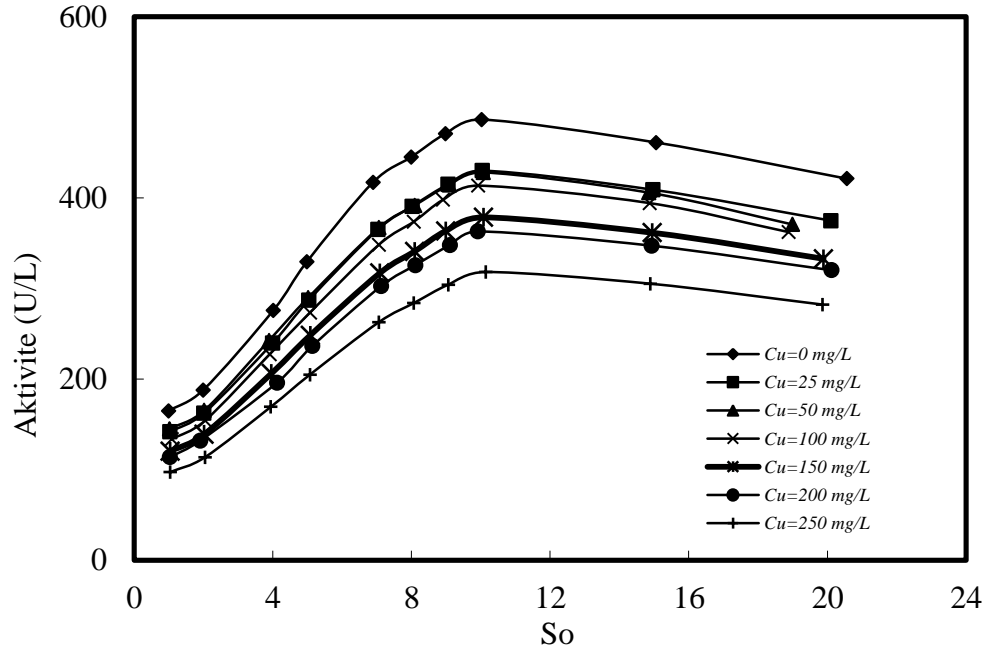
4.2.3 Başlangıç bakır(II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin etkisi

Ortama 25-250 mg/L derişim aralığında tekli bakır(II) ve nikel(II) iyonu eklenirken başlangıç sakkaroz derişimi de 1-20 g/L aralığında değiştirilmiş, tekli bakır(II), nikel(II) iyonları ve sakkarozun lipaz enzimi aktivitesi üzerine etkileri araştırılmıştır. *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için 25-250 mg/L derişim aralığında tekli bakır(II) ve nikel(II) içeren ortamlarda, farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde mayaların gösterdiği lipaz aktiviteleri Şekil 4.21, Şekil 4.22, Şekil 4.23, Şekil 4.24, Şekil 4.25, Şekil 4.26, Şekil 4.27 ve Şekil 4.28’de sunulmuştur. Şekillerden ortamdaki başlangıç sakkaroz derişimi artışının lipaz enzimi aktivitesini arttırdığı ancak ortamdaki bakır(II) ve nikel(II) iyonları derişimi artışının ise lipaz enzimi aktivitesini önemli oranda azalttığı grlmektedir. Enzim aktivitesindeki metal iyonları derişiminin artışıyla görülen azalışın mikroorganizma üremesiyle doğrudan ilgili olduğu ve mikroorganizma üremesi azaldıkça üreyen mikroorganizmaların daha az enzim ürettiği anlaşılmaktadır. Örneğin 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda metal iyonları bulunmazken mayaların enzim aktivitesi sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 903,4 U/L, *Candida utilis* için 486,5 U/L, *Candida tropicalis* için 755,2 U/L, *Candida lipolytica* için 614,7 U/L iken, 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde başlangıç bakır(II) derişimi 100.0 mg/L iken mayaların enzim aktivitesi sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 795,0 U/L, *Candida utilis*

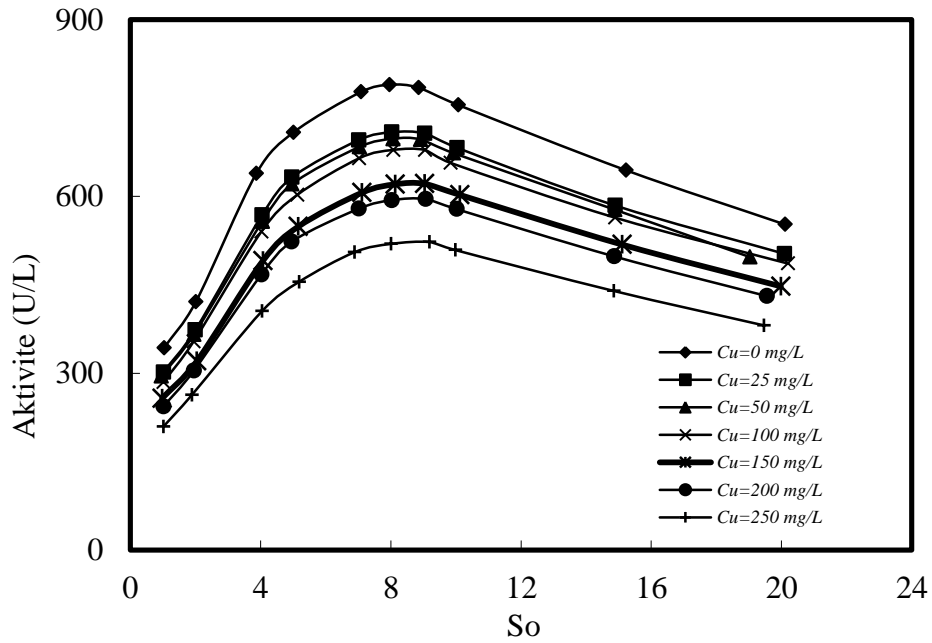
için 413,6 U/L, *Candida tropicalis* için 657,1 U/L, *Candida lipolytica* için 528,6 U/L ve 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde başlangıç nikel(II) derişimi 100.0 mg/L iken mayaların enzim aktivitesi sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 766,1 U/L, *Candida utilis* için 397,9 U/L, *Candida tropicalis* için 632,9 U/L, *Candida lipolytica* için de 508,9 U/L olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar ortamdaki bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının mayaların enzim aktivitesini düşürdüğünü, nikel(II) iyonlarının aktiviteyi azaltma etkisinin bakır(II) iyonlarına göre daha yüksek olduğunu göstermektedir.



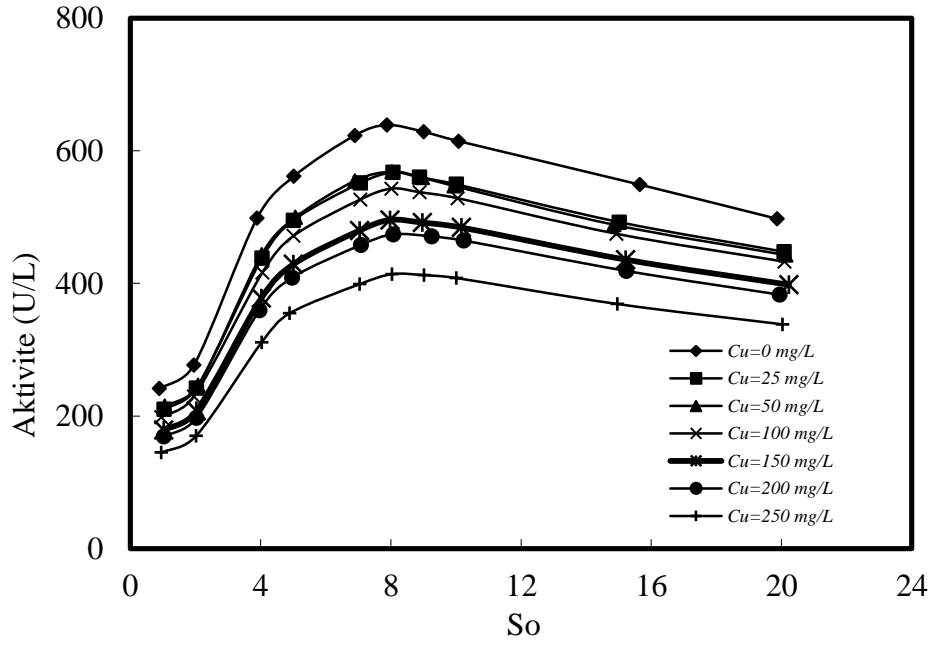
Şekil 4.21 *Candida membranaefaciens* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



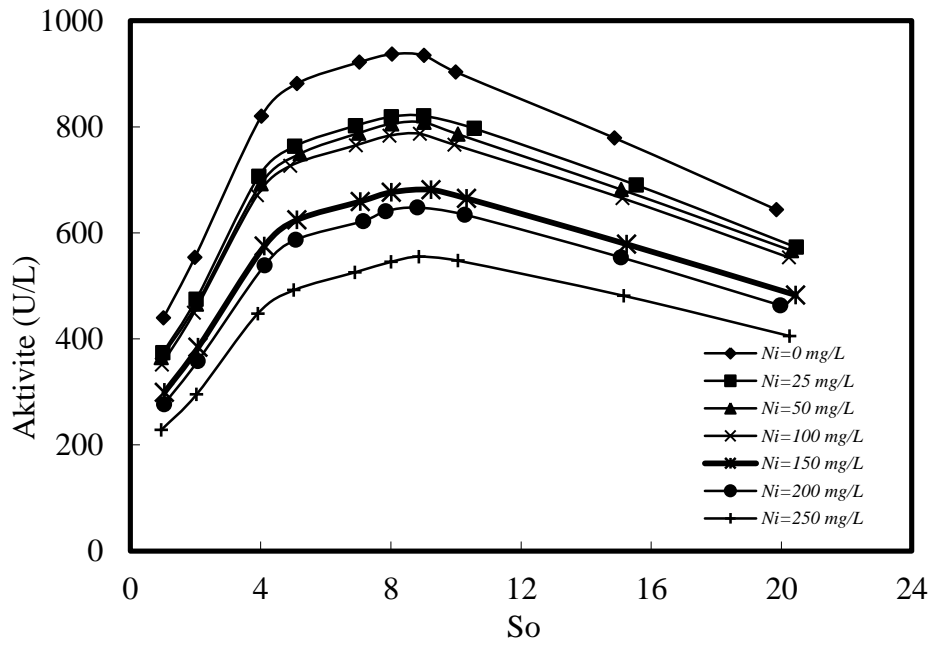
Şekil 4.22 *Candida utilis* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



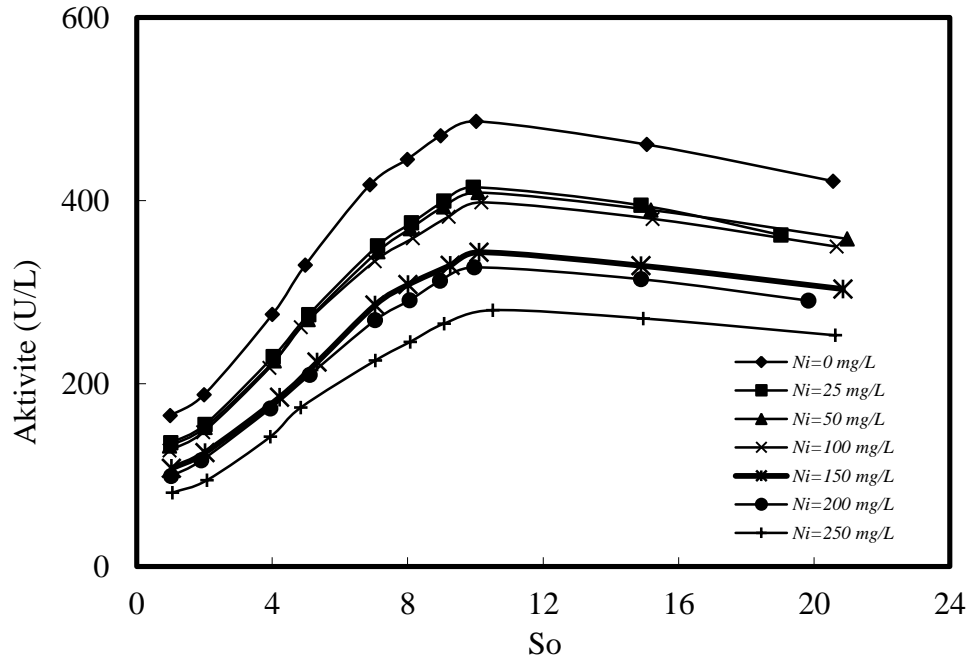
Şekil 4.23 *Candida tropicalis* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



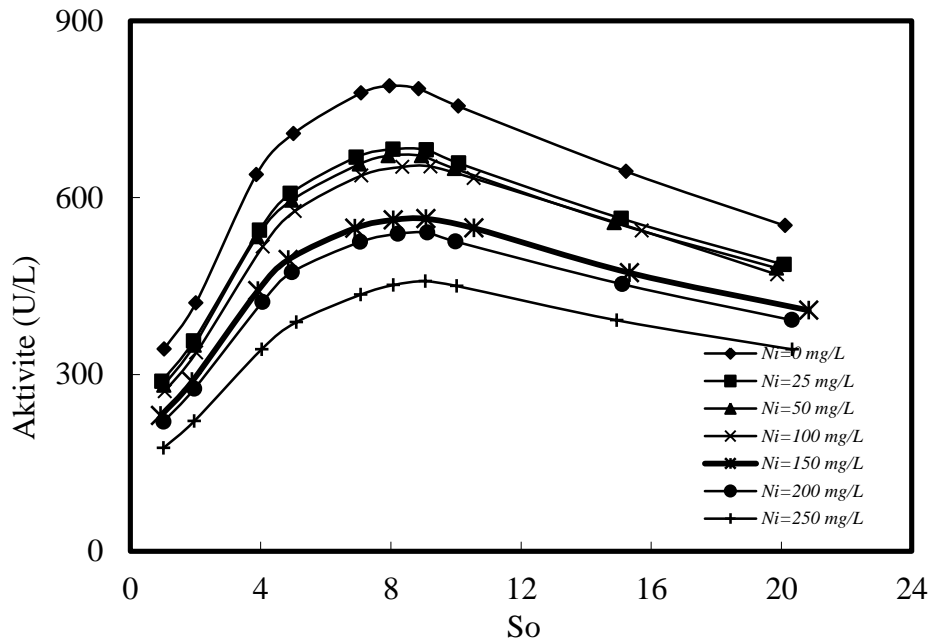
Şekil 4.24 *Candida lipolytica* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki bakır(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



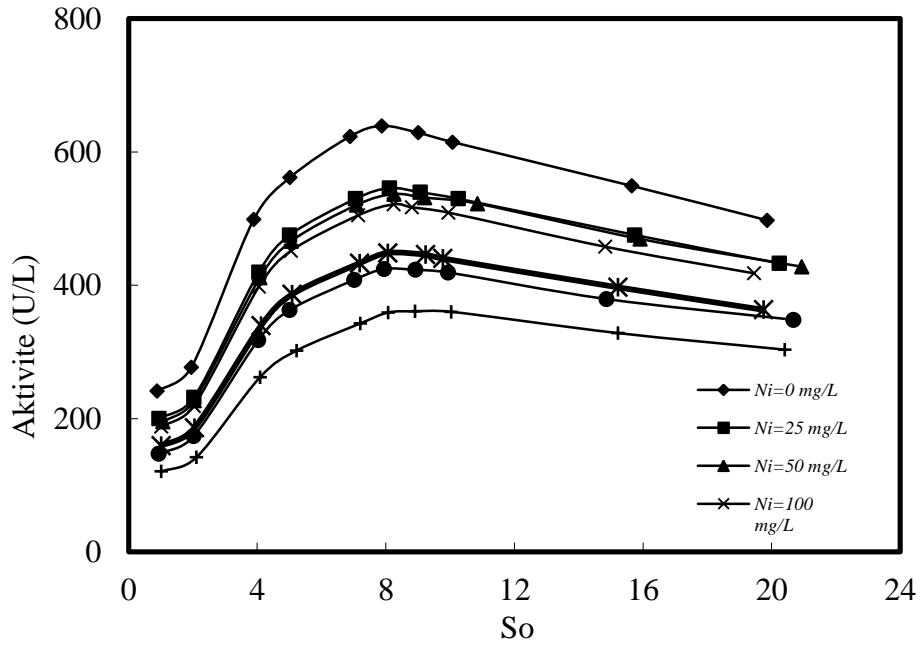
Şekil 4.25 *Candida membranaefaciens* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.26 *Candida utilis* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.27 *Candida tropicalis* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



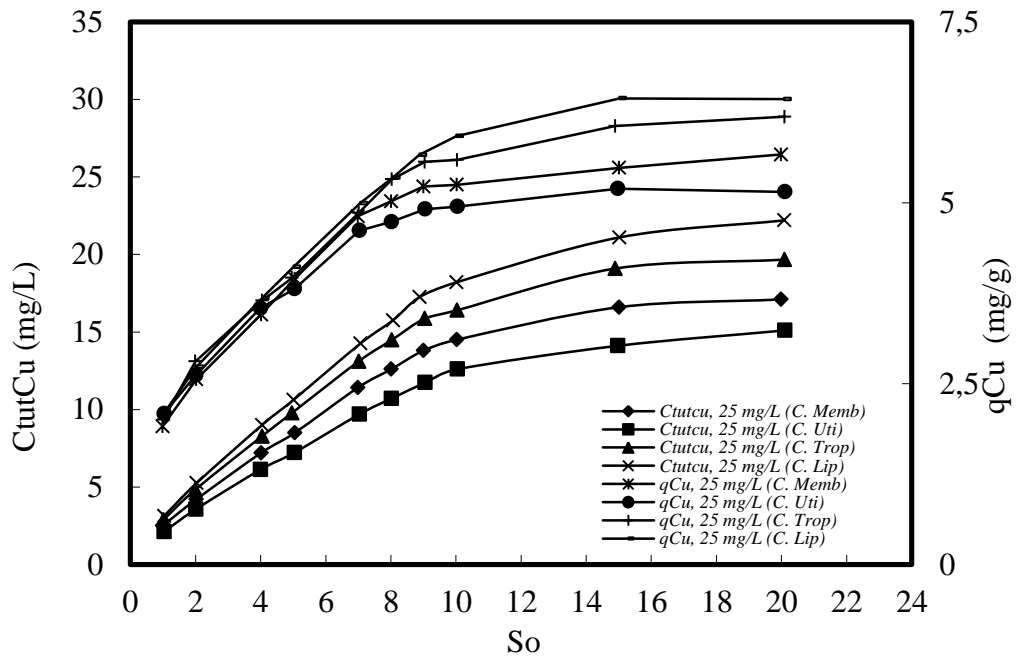
Şekil 4.28 *Candida lipolytica* için lipaz enzimi aktivitesinin farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde farklı derişimlerdeki nikel(II) ile değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

Ayrıca şekillerden nikel(II) iyonlarının mayaların gösterdiği lipaz enzimi aktivitesini azaltıcı etkisinin bakır(II)'ye göre daha fazla olduğu, başlangıç sakkaroz derişimi artışının da özellikle de nikel(II) derişimi artıkça lipaz üretmede daha etkin olduğu anlaşılmaktadır. Bakır(II) ve nikel(II) içeren ortamlarda da metallsiz ortamdaki gibi en yüksek aktiviteyi *Candida membranaefaciens* mayasının en düşük aktiviteyi ise *Candida utilis* mayasının gösterdiği bulunmuştur.

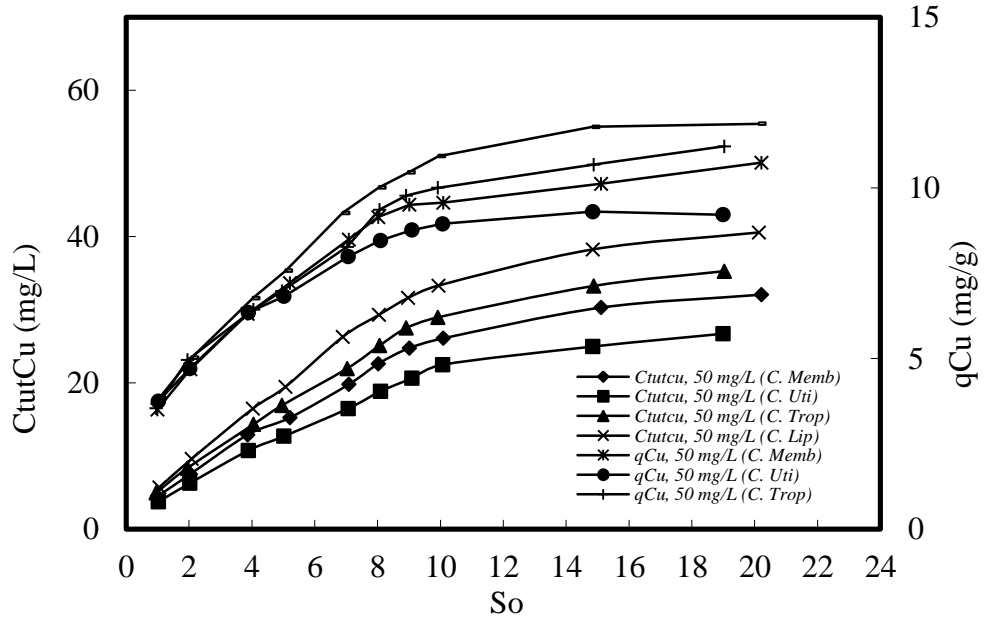
4.3 Biyobirikim deneyleri

Deneysel çalışmaların bu kısmında mayaların tekli bakır(II) ve nikel(II) iyonlarına karşı gösterdiği direnci ve biyobirikim kapasitesini araştırmak üzere 1-20 g/L aralığında değiştirilen başlangıç sakkaroz derişimleri içeren ortamda *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) ve nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) ve nikel(II) miktarının değişimi, başlangıç bakır(II) ve nikel(II) derişimi 25-250 mg/L derişim aralığındayken incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.29 ve Şekil 3.40'da ve Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3'te sunulmuştur. Şekillerden ve çizelgelerden bütün maya hücreleri için başlangıç sakkaroz derişimi artıkça mikroorganizma üremesinin artmasıyla beraber ortamdaki sabit derişimlerde bulunan bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının maksimum tutulan derişimlerinin ve birim kuru mikroorganizma kütlesi tarafından tutulan bakır(II) ve nikel(II) miktarlarının arttığı gözlenmektedir. Örneğin 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde başlangıç bakır(II)

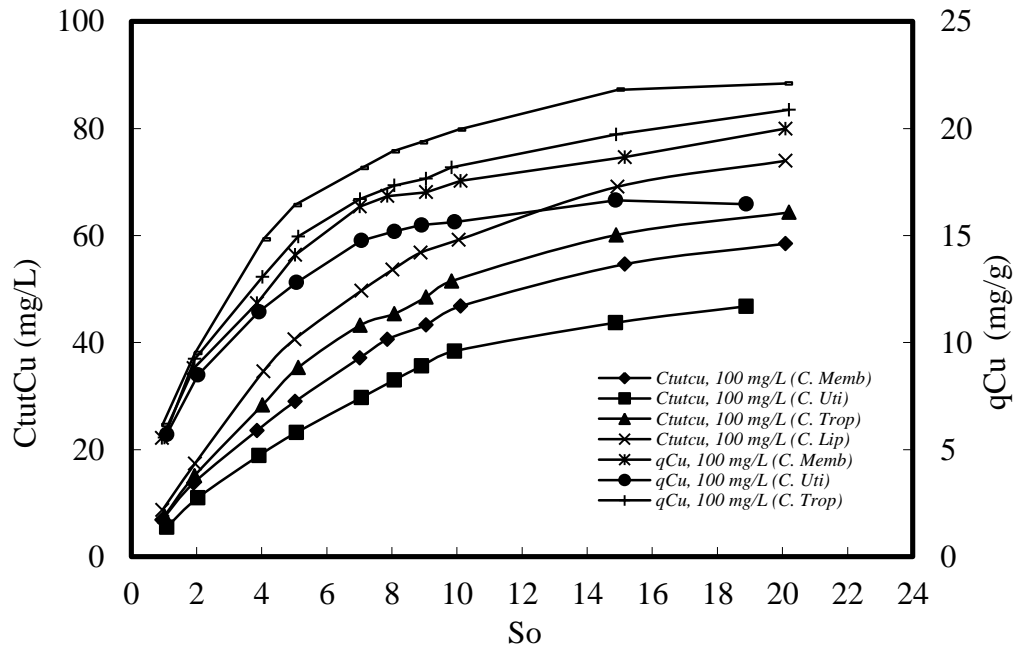
derişimi 100.0 mg/L iken maksimum tutulan bakır(II) derişimi, birim kuru mikroorganizma kütlesi tarafından tutulan bakır(II) miktarı sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 46,80 mg/L ve 17,56 mg/g, *Candida utilis* için 38,4 mg/L ve 15,64 mg/g, *Candida tropicalis* için 51,48 mg/L ve 18,18 mg/g, *Candida lypolitica* için de 53,60 mg/L ve 18,98 mg/g iken, 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde başlangıç nikel(II) derişimi 100.0 mg/L iken elde edilen maksimum tutulan bakır(II) derişimi, birim kuru mikroorganizma kütlesi tarafından tutulan nikel(II) miktarı sırasıyla *Candida membranaefaciens* için 37,70 mg/L ve 15,42 mg/g, *Candida utilis* için 31,20 mg/L ve 13,16 mg/g, *Candida tropicalis* için 44,30 mg/L ve 16,20 mg/g, *Candida lypolitica* için de 48,28 mg/L ve 17,04 mg/g olarak bulunmuştur. Bu değerler maya hücrelerinin bakır(II) iyonlarını nikel(II)'ye göre daha yüksek oranda tuttuğunu, *Candida lypolitica*'nın hem bakır(II) hem de nikel(II) içeren ortamda en yüksek tutma verimini gerçekleştirdiğini göstermektedir. Artan sakkaroz derişiminin mikroorganizmaların üreme ve metal tutma kapasitesini oldukça fazla arttırdığı da gözden kaçırılmamalıdır.



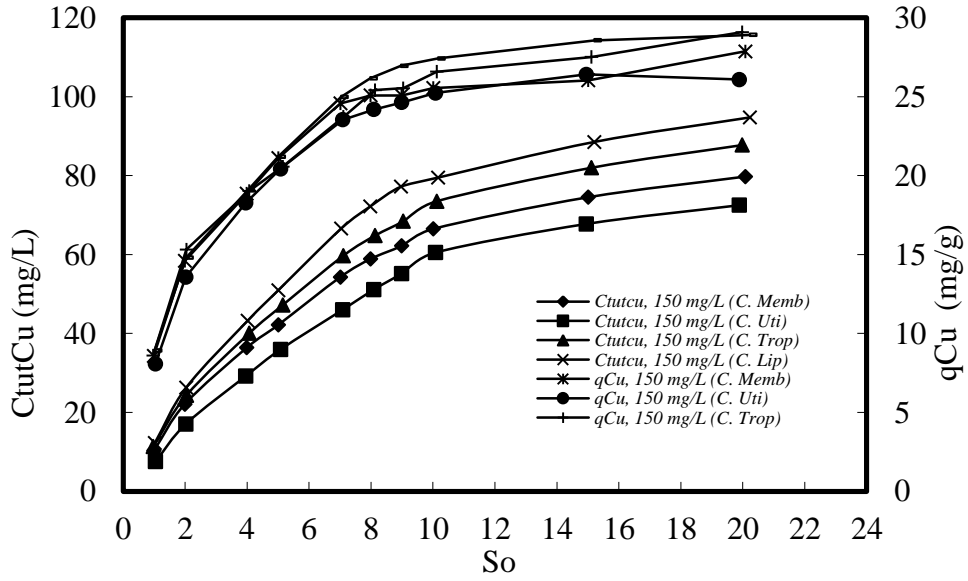
Şekil 4.29 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



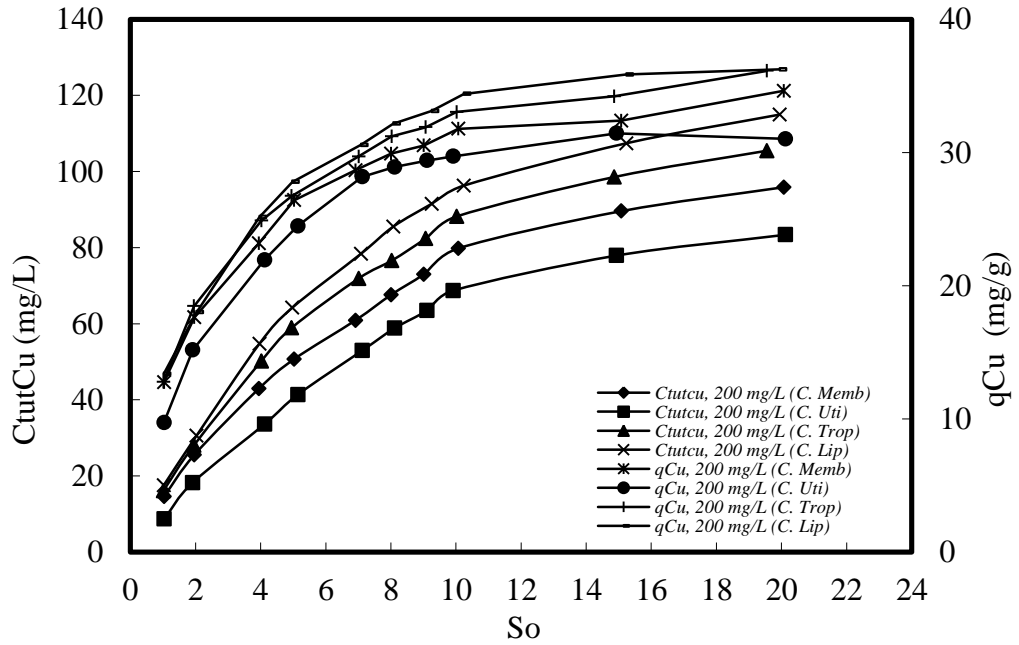
Şekil 4.30 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 50 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



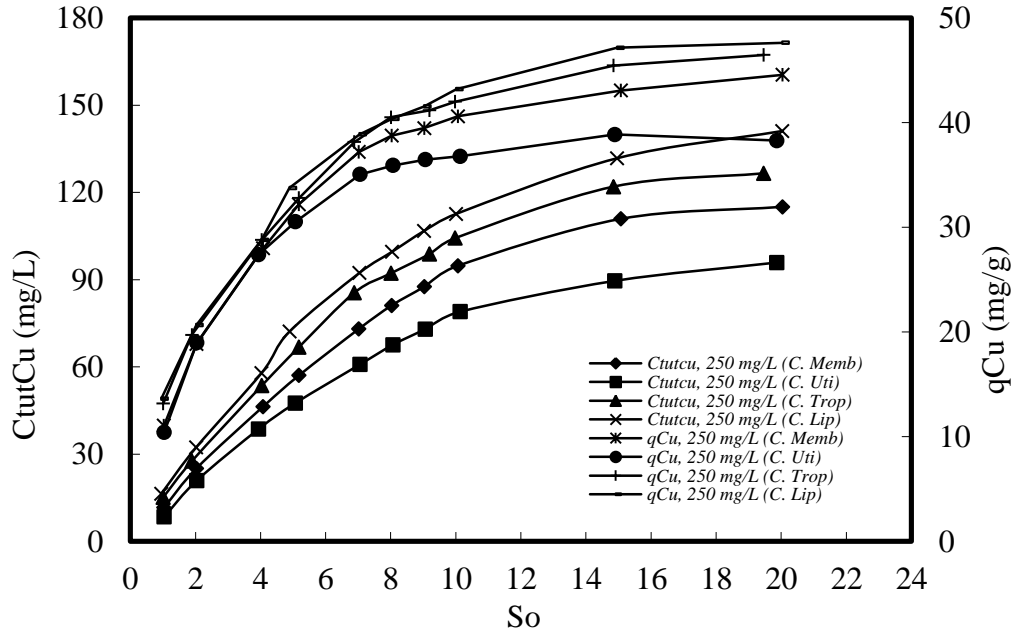
Şekil 4.31 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 100 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



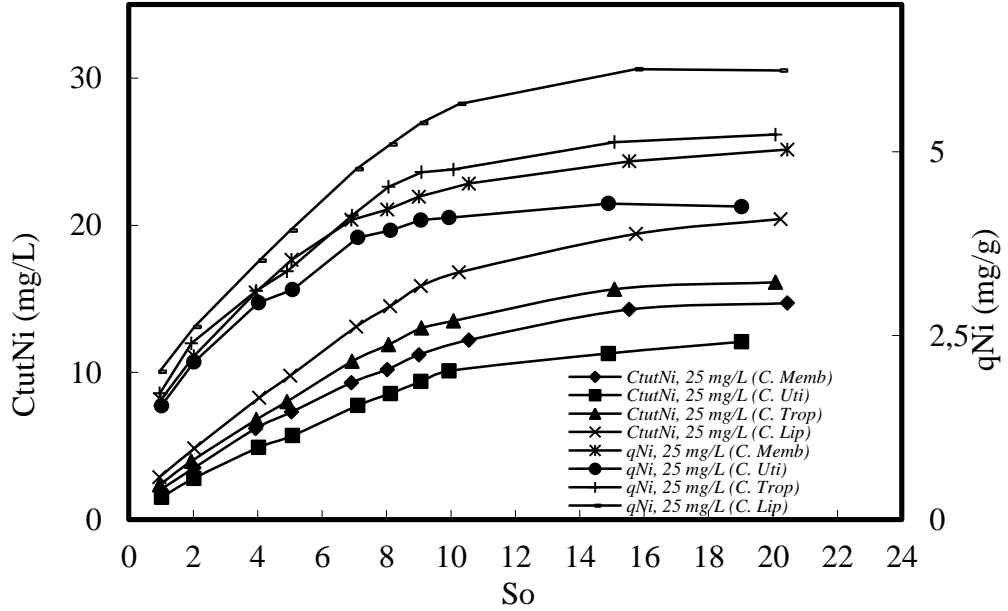
Şekil 4.32 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 150 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



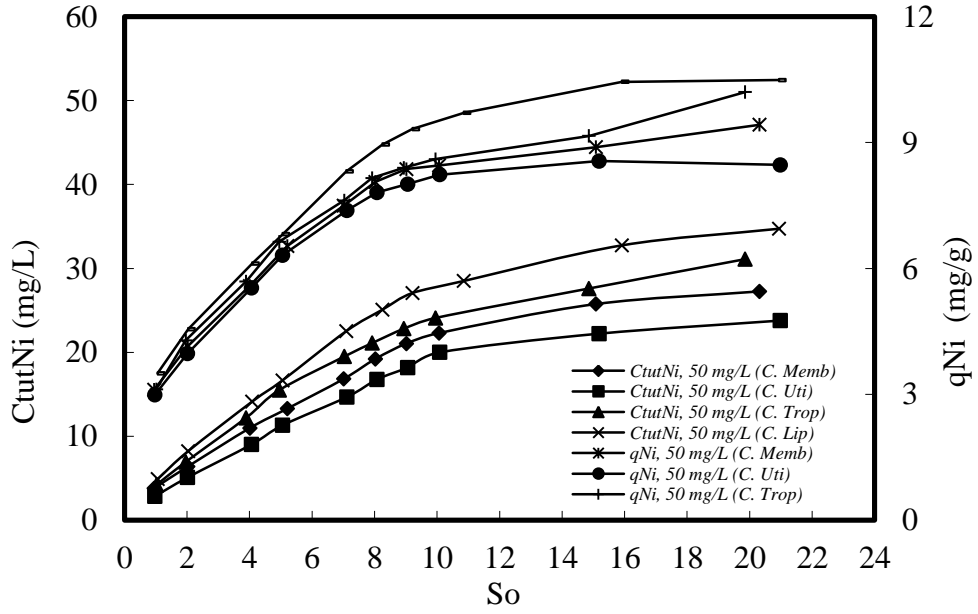
Şekil 4.33 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 200 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



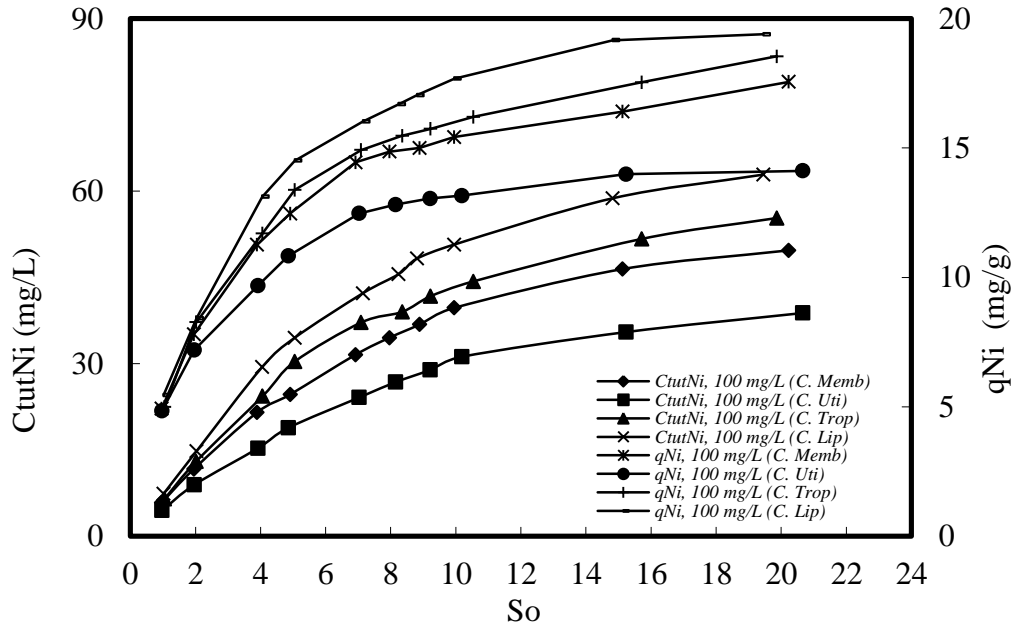
Şekil 4.34 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 250 mg/L sabit bakır(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



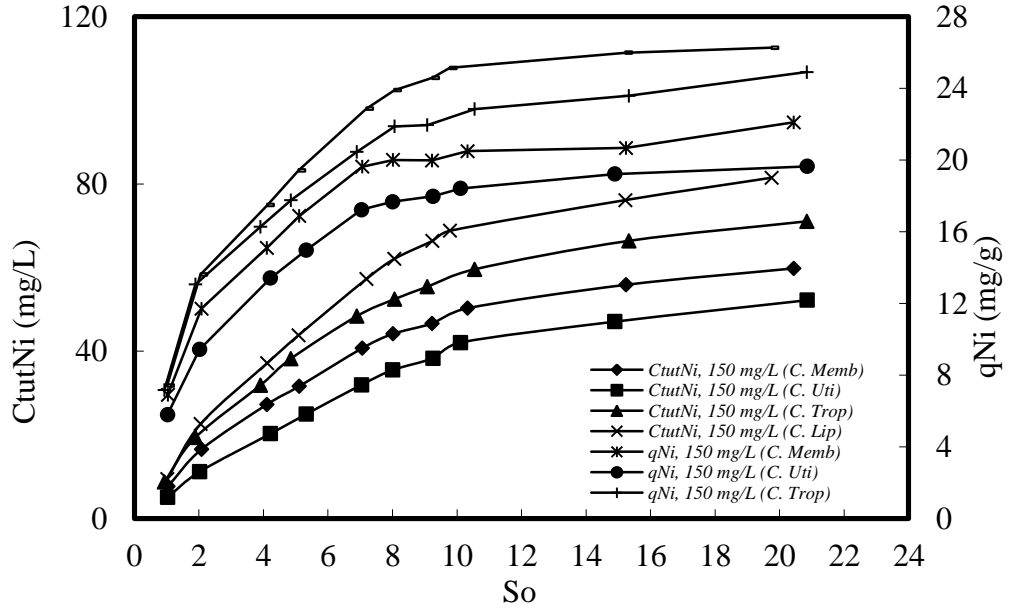
Şekil 4.35 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



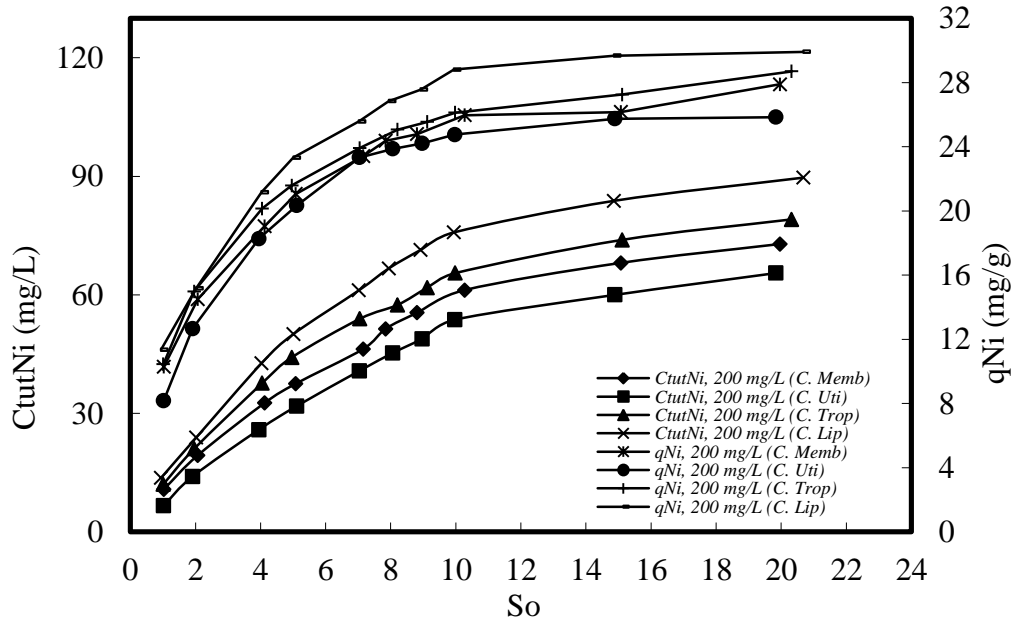
Şekil 4.36 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 50 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



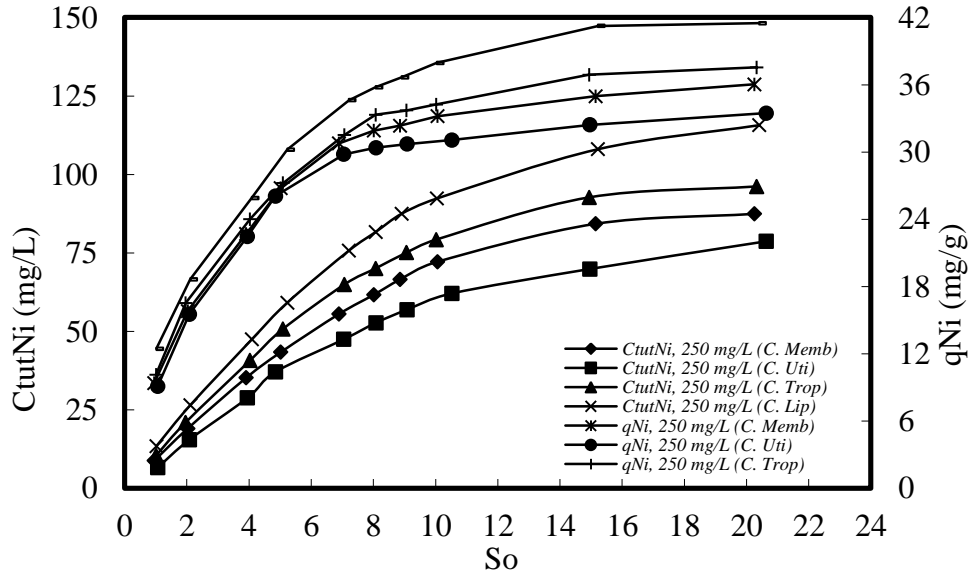
Şekil 4.37 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 100 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.38 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 150 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.39 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 200 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)



Şekil 4.40 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 250 mg/L sabit nikel(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lipolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

Çizelge 4.2 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25-250 mg/L aralığında bakır(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan bakır(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan bakır(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

| Maya Hücresi | So | C _{tutCu} | q _{Cu} | C _{tutCu} | q _{Cu} | C _{tutCu} | q _{Cu} | C _{tutCu} | q _{Cu} | C _{tutCu} | q _{Cu} | C _{tutCu} | q _{Cu} |
|-----------------|------|---------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|
| | g/L | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g |
| | | C _{oCu} =25 mg/L | | C _{oCu} =50 mg/L | | C _{oCu} =100 mg/L | | C _{oCu} =150 mg/L | | C _{oCu} =200 mg/L | | C _{oCu} =250 mg/L | |
| <i>C. memb.</i> | 1,0 | 2,50 | 1,91 | 4,49 | 3,50 | 6,88 | 5,54 | 10,30 | 8,59 | 14,60 | 12,75 | 11,60 | 11,05 |
| | 2,0 | 4,20 | 2,56 | 7,54 | 4,68 | 13,74 | 8,80 | 22,10 | 14,60 | 25,50 | 17,62 | 25,12 | 18,86 |
| | 4,0 | 7,20 | 3,45 | 12,93 | 6,31 | 23,56 | 11,84 | 36,40 | 18,85 | 42,90 | 23,18 | 46,37 | 28,00 |
| | 5,0 | 8,50 | 3,95 | 15,26 | 7,21 | 29,00 | 14,09 | 42,20 | 21,10 | 50,70 | 26,41 | 57,07 | 32,20 |
| | 7,0 | 11,40 | 4,81 | 19,80 | 8,49 | 37,13 | 16,35 | 54,30 | 24,58 | 60,88 | 28,67 | 73,06 | 37,20 |
| | 8,0 | 12,60 | 5,02 | 22,62 | 9,15 | 40,60 | 16,84 | 58,90 | 25,08 | 67,62 | 29,92 | 81,14 | 38,75 |
| | 9,0 | 13,80 | 5,22 | 24,77 | 9,51 | 43,30 | 17,02 | 62,20 | 25,07 | 72,98 | 30,53 | 87,57 | 39,47 |
| | 10,0 | 14,50 | 5,25 | 26,10 | 9,57 | 46,80 | 17,56 | 66,50 | 25,55 | 79,80 | 31,77 | 94,81 | 40,61 |
| | 15,0 | 16,60 | 5,48 | 30,30 | 10,12 | 54,63 | 18,66 | 74,52 | 26,03 | 89,59 | 32,39 | 110,90 | 43,07 |
| | 20,0 | 17,10 | 5,67 | 32,07 | 10,74 | 58,47 | 19,99 | 79,75 | 27,86 | 95,88 | 34,63 | 115,05 | 44,56 |
| <i>C. uti.</i> | 1,0 | 2,13 | 2,09 | 3,74 | 3,75 | 5,50 | 5,70 | 7,52 | 8,06 | 8,65 | 9,72 | 8,50 | 10,43 |
| | 2,0 | 3,57 | 2,62 | 6,28 | 4,70 | 11,00 | 8,48 | 17,04 | 13,57 | 18,20 | 15,17 | 20,93 | 18,98 |
| | 4,0 | 6,12 | 3,54 | 10,77 | 6,35 | 18,85 | 11,44 | 29,22 | 18,27 | 33,60 | 21,93 | 38,64 | 27,39 |
| | 5,0 | 7,23 | 3,81 | 12,72 | 6,82 | 23,20 | 12,80 | 35,96 | 20,43 | 41,35 | 24,49 | 47,56 | 30,53 |
| | 7,0 | 9,69 | 4,62 | 16,50 | 7,99 | 29,70 | 14,77 | 46,04 | 23,53 | 52,94 | 28,17 | 60,88 | 35,06 |
| | 8,0 | 10,71 | 4,74 | 18,85 | 8,46 | 32,99 | 15,19 | 51,13 | 24,18 | 58,80 | 28,91 | 67,62 | 35,92 |
| | 9,0 | 11,73 | 4,91 | 20,64 | 8,77 | 35,60 | 15,49 | 55,18 | 24,63 | 63,46 | 29,40 | 72,98 | 36,47 |
| | 10,0 | 12,60 | 4,95 | 22,50 | 8,95 | 38,40 | 15,64 | 60,50 | 25,23 | 68,70 | 29,71 | 79,01 | 36,79 |
| | 15,0 | 14,11 | 5,20 | 24,97 | 9,30 | 43,71 | 16,65 | 67,74 | 26,40 | 77,91 | 31,44 | 89,59 | 38,86 |
| | 20,0 | 15,10 | 5,15 | 26,73 | 9,21 | 46,77 | 16,47 | 72,50 | 26,09 | 83,37 | 31,02 | 95,88 | 38,29 |
| <i>C. tro.</i> | 1,0 | 2,88 | 2,00 | 4,98 | 3,55 | 7,56 | 5,56 | 11,33 | 8,61 | 16,06 | 12,77 | 15,20 | 13,18 |
| | 2,0 | 4,83 | 2,81 | 8,37 | 4,96 | 15,12 | 9,23 | 24,31 | 15,32 | 28,05 | 18,46 | 27,63 | 19,72 |
| | 4,0 | 8,28 | 3,65 | 14,35 | 6,43 | 28,30 | 13,06 | 40,04 | 19,03 | 50,20 | 24,88 | 53,60 | 28,79 |
| | 5,0 | 9,78 | 3,96 | 16,94 | 6,98 | 35,30 | 14,95 | 47,20 | 20,57 | 58,90 | 26,73 | 66,80 | 32,80 |
| | 7,0 | 13,11 | 4,86 | 21,98 | 8,27 | 43,20 | 16,70 | 59,73 | 23,72 | 71,90 | 29,70 | 85,50 | 38,15 |
| | 8,0 | 14,49 | 5,32 | 25,11 | 9,36 | 45,36 | 17,34 | 64,79 | 25,42 | 76,60 | 31,21 | 92,20 | 40,51 |
| | 9,0 | 15,87 | 5,56 | 27,50 | 9,77 | 48,50 | 17,66 | 68,42 | 25,53 | 82,40 | 31,90 | 98,80 | 41,18 |
| | 10,0 | 16,40 | 5,59 | 28,97 | 10,00 | 51,48 | 18,18 | 73,50 | 26,58 | 88,20 | 33,04 | 104,29 | 42,00 |
| | 15,0 | 19,09 | 6,06 | 33,27 | 10,68 | 60,10 | 19,72 | 81,97 | 27,51 | 98,55 | 34,22 | 121,99 | 45,45 |
| | 20,0 | 19,67 | 6,19 | 35,28 | 11,22 | 64,31 | 20,87 | 87,72 | 29,09 | 105,46 | 36,13 | 126,56 | 46,46 |
| <i>C. lyp.</i> | 1,0 | 3,13 | 2,09 | 5,73 | 3,84 | 8,70 | 6,14 | 12,24 | 8,93 | 17,51 | 13,37 | 16,42 | 13,64 |
| | 2,0 | 5,25 | 2,73 | 9,62 | 5,02 | 17,39 | 9,51 | 26,25 | 14,80 | 30,57 | 18,01 | 32,33 | 20,66 |
| | 4,0 | 9,00 | 3,68 | 16,50 | 6,77 | 34,60 | 14,82 | 43,24 | 19,07 | 54,72 | 25,14 | 57,89 | 28,81 |
| | 5,0 | 10,63 | 4,11 | 19,48 | 7,57 | 40,60 | 16,42 | 50,98 | 21,20 | 64,20 | 27,79 | 72,14 | 33,76 |
| | 7,0 | 14,25 | 4,99 | 26,30 | 9,26 | 49,68 | 18,15 | 66,60 | 24,99 | 78,37 | 30,57 | 92,34 | 38,87 |
| | 8,0 | 15,75 | 5,35 | 29,30 | 10,01 | 53,60 | 18,93 | 72,20 | 26,16 | 85,50 | 32,16 | 99,58 | 40,36 |
| | 9,0 | 17,25 | 5,66 | 31,62 | 10,45 | 56,80 | 19,35 | 77,20 | 26,95 | 91,50 | 33,12 | 106,70 | 41,55 |
| | 10,0 | 18,20 | 5,92 | 33,32 | 10,93 | 59,20 | 19,95 | 79,50 | 27,42 | 96,30 | 34,39 | 112,60 | 43,19 |
| | 15,0 | 21,10 | 6,44 | 38,26 | 11,79 | 69,11 | 21,81 | 88,53 | 28,57 | 107,42 | 35,85 | 131,75 | 47,15 |
| | 20,0 | 22,20 | 6,43 | 40,57 | 11,88 | 73,96 | 22,10 | 94,74 | 28,91 | 114,96 | 36,24 | 141,10 | 47,62 |

Çizelge 4.3 Farklı başlangıç sakkaroz derişimleri ve 25-250 mg/L aralığında nikel(II) derişimi bulunan ortamda *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mayaları için tutulan nikel(II) derişiminin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan nikel(II) miktarının değişimi (pH: 4.0, T: 25°C; KH: 150 rpm)

| Maya Hücresi | So | C _{tutNi} | q _{Ni} | C _{tutNi} | q _{Ni} | C _{tutNi} | q _{Ni} | C _{tutNi} | q _{Ni} | C _{tutNi} | q _{Ni} | C _{tutNi} | q _{Ni} |
|-----------------|------|---------------------------|-----------------|---------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|
| | g/L | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g | mg/L | mg/g |
| | | C _{oNi} =25 mg/L | | C _{oNi} =50 mg/L | | C _{oNi} =100 mg/L | | C _{oNi} =150 mg/L | | C _{oNi} =200 mg/L | | C _{oNi} =250 mg/L | |
| <i>C. memb.</i> | 1,0 | 2,04 | 1,63 | 3,81 | 3,11 | 5,84 | 4,93 | 7,73 | 6,91 | 10,80 | 10,29 | 8,82 | 9,37 |
| | 2,0 | 3,50 | 2,22 | 6,41 | 4,15 | 11,68 | 7,80 | 16,58 | 11,71 | 19,38 | 14,50 | 19,09 | 15,82 |
| | 4,0 | 6,19 | 3,09 | 10,99 | 5,58 | 21,50 | 11,26 | 27,30 | 15,10 | 32,60 | 19,04 | 35,24 | 22,70 |
| | 5,0 | 7,31 | 3,53 | 13,30 | 6,53 | 24,65 | 12,46 | 31,65 | 16,88 | 37,50 | 21,05 | 43,37 | 26,77 |
| | 7,0 | 9,30 | 4,07 | 16,83 | 7,49 | 31,56 | 14,44 | 40,73 | 19,63 | 46,27 | 23,41 | 55,52 | 30,77 |
| | 8,0 | 10,20 | 4,21 | 19,23 | 8,06 | 34,51 | 14,86 | 44,18 | 20,00 | 51,39 | 24,36 | 61,67 | 31,90 |
| | 9,0 | 11,20 | 4,39 | 21,06 | 8,37 | 36,81 | 15,00 | 46,65 | 19,97 | 55,46 | 24,79 | 66,55 | 32,35 |
| | 10,0 | 12,20 | 4,57 | 22,30 | 8,46 | 39,70 | 15,42 | 50,30 | 20,49 | 61,20 | 25,96 | 72,20 | 33,20 |
| | 15,0 | 14,28 | 4,87 | 25,76 | 8,89 | 46,44 | 16,40 | 55,89 | 20,68 | 68,09 | 26,16 | 84,28 | 34,98 |
| | 20,0 | 14,71 | 5,03 | 27,26 | 9,42 | 49,70 | 17,55 | 59,81 | 22,10 | 72,87 | 27,88 | 87,44 | 36,03 |
| <i>C. uti.</i> | 1,0 | 1,51 | 1,55 | 2,85 | 2,99 | 4,47 | 4,84 | 5,10 | 5,80 | 6,66 | 8,17 | 6,63 | 9,10 |
| | 2,0 | 2,80 | 2,14 | 5,10 | 3,97 | 8,93 | 7,19 | 11,20 | 9,43 | 14,01 | 12,66 | 15,50 | 15,53 |
| | 4,0 | 4,90 | 2,95 | 9,02 | 5,53 | 15,31 | 9,68 | 20,31 | 13,41 | 25,87 | 18,27 | 28,80 | 22,47 |
| | 5,0 | 5,70 | 3,12 | 11,32 | 6,31 | 18,84 | 10,82 | 24,99 | 14,97 | 31,84 | 20,34 | 37,09 | 26,07 |
| | 7,0 | 7,75 | 3,83 | 14,69 | 7,38 | 24,12 | 12,47 | 31,99 | 17,23 | 40,76 | 23,33 | 47,49 | 29,80 |
| | 8,0 | 8,57 | 3,93 | 16,78 | 7,81 | 26,79 | 12,81 | 35,54 | 17,68 | 45,28 | 23,87 | 52,74 | 30,38 |
| | 9,0 | 9,38 | 4,07 | 18,20 | 8,01 | 28,91 | 13,05 | 38,35 | 17,98 | 48,86 | 24,21 | 56,92 | 30,71 |
| | 10,0 | 10,10 | 4,10 | 20,00 | 8,23 | 31,20 | 13,16 | 42,10 | 18,42 | 53,70 | 24,76 | 62,10 | 31,07 |
| | 15,0 | 11,29 | 4,30 | 22,23 | 8,56 | 35,49 | 13,99 | 47,08 | 19,22 | 59,99 | 25,74 | 69,88 | 32,43 |
| | 20,0 | 12,08 | 4,25 | 23,79 | 8,47 | 38,80 | 14,12 | 52,20 | 19,65 | 65,50 | 25,84 | 78,70 | 33,47 |
| <i>C. tro.</i> | 1,0 | 2,36 | 1,71 | 4,20 | 3,12 | 6,50 | 5,00 | 8,80 | 7,17 | 12,05 | 10,44 | 10,50 | 10,14 |
| | 2,0 | 3,96 | 2,40 | 6,95 | 4,29 | 13,00 | 8,27 | 19,40 | 13,06 | 21,04 | 14,98 | 21,00 | 16,54 |
| | 4,0 | 6,79 | 3,11 | 12,20 | 5,69 | 24,34 | 11,70 | 31,90 | 16,28 | 37,65 | 20,15 | 40,74 | 24,02 |
| | 5,0 | 8,02 | 3,37 | 15,50 | 6,64 | 30,36 | 13,38 | 38,23 | 17,76 | 44,18 | 21,58 | 50,77 | 27,23 |
| | 7,0 | 10,75 | 4,13 | 19,50 | 7,62 | 37,15 | 14,92 | 48,38 | 20,45 | 53,93 | 23,91 | 64,98 | 31,52 |
| | 8,0 | 11,88 | 4,52 | 21,10 | 8,15 | 39,01 | 15,47 | 52,48 | 21,88 | 57,45 | 25,06 | 70,07 | 33,32 |
| | 9,0 | 13,01 | 4,72 | 22,82 | 8,40 | 41,71 | 15,74 | 55,42 | 21,95 | 61,80 | 25,54 | 75,09 | 33,71 |
| | 10,0 | 13,50 | 4,76 | 24,10 | 8,60 | 44,30 | 16,20 | 59,60 | 22,84 | 65,50 | 26,13 | 79,26 | 34,23 |
| | 15,0 | 15,65 | 5,13 | 27,61 | 9,16 | 51,68 | 17,53 | 66,40 | 23,58 | 73,91 | 27,25 | 92,71 | 36,89 |
| | 20,0 | 16,13 | 5,23 | 31,10 | 10,20 | 55,31 | 18,54 | 71,05 | 24,90 | 79,10 | 28,69 | 96,18 | 37,54 |
| <i>C. lyp.</i> | 1,0 | 2,88 | 2,01 | 4,90 | 3,50 | 7,39 | 5,45 | 9,50 | 7,43 | 13,65 | 11,35 | 13,46 | 12,45 |
| | 2,0 | 4,83 | 2,62 | 8,24 | 4,55 | 14,78 | 8,42 | 22,60 | 13,61 | 23,85 | 15,18 | 26,51 | 18,64 |
| | 4,0 | 8,28 | 3,52 | 14,12 | 6,11 | 29,41 | 13,11 | 37,19 | 17,49 | 42,68 | 21,16 | 47,47 | 25,90 |
| | 5,0 | 9,78 | 3,93 | 16,67 | 6,82 | 34,51 | 14,51 | 43,84 | 19,42 | 50,08 | 23,32 | 59,16 | 30,21 |
| | 7,0 | 13,11 | 4,76 | 22,51 | 8,31 | 42,23 | 16,02 | 57,28 | 22,86 | 61,13 | 25,58 | 75,72 | 34,62 |
| | 8,0 | 14,49 | 5,10 | 25,08 | 8,95 | 45,56 | 16,69 | 62,09 | 23,89 | 66,69 | 26,84 | 81,65 | 35,78 |
| | 9,0 | 15,87 | 5,39 | 27,07 | 9,32 | 48,28 | 17,04 | 66,39 | 24,58 | 71,37 | 27,56 | 87,50 | 36,67 |
| | 10,0 | 16,80 | 5,65 | 28,50 | 9,70 | 50,70 | 17,68 | 68,80 | 25,13 | 75,80 | 28,80 | 92,33 | 37,95 |
| | 15,0 | 19,41 | 6,12 | 32,75 | 10,44 | 58,74 | 19,16 | 76,13 | 25,98 | 83,79 | 29,67 | 108,03 | 41,25 |
| | 20,0 | 20,42 | 6,10 | 34,73 | 10,49 | 62,86 | 19,39 | 81,48 | 26,26 | 89,67 | 29,91 | 115,70 | 41,49 |

5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

Yapılan tez çalışmasında maya türleri *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranaefaciens* mikroorganizmalarının üremesi ve lipaz enzimi aktivitesi tekli bakır(II) ve nikel(II) içeren ve içermeyen ortamlarda ve ortamdaki bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının maya hücreleri tarafından biyobirikimi kesikli düzende çalışan karıştırılmalı kapta başlangıç pH'nın, başlangıç melas sakkarozu derişiminin ve ortamdaki metal iyonları derişiminin fonksiyonu olarak incelenmiştir. Lipaz enzimi aktivite deneylerinde sıcaklık 25°C olarak seçilmiştir. Deneysel sonuçlar lipaz enzimi aktivitesi (U/L), mikroorganizma özgül üreme hızı, μ (sa^{-1}), doyunluk sabiti K_s , (g/L), maksimum mikroorganizma derişimi, X (g/L), tutulan metal iyonu derişimi (mg/L) ve kuru mikroorganizma başına tutulan metal miktarı (mg/g) cinsinden hesaplanmış ve karşılaştırılmıştır.

Deneysel çalışmaların ilk kısmında mikroorganizma üremesi için ortam optimum pH'nın ve başlangıç sakkaroz derişiminin etkileri araştırılmış ve mikroorganizma üremesi için kinetik sabitler belirlenmiştir. Başlangıç pH'nın ve mikroorganizmanın ana karbon kaynağı olan sakkarozun mikroorganizma üremesini doğrudan etkileyen bir parametre olduğu görülmüştür. pH 4.0 değerinde maksimum üreme gözlenirken, başlangıç sakkaroz derişiminin de artmasıyla üremenin arttığı bulunmuştur. Ortamda artan tekli bakır(II) ve nikel(II) derişimlerinin ise mayaların üremesini düşürdüğü yani üremeyi bütün maya hücreleri için inhibisyona uğrattığı da deneysel sonuçlardan görülmektedir. Çizelge 5.1 ve 5.2' de sakkaroz derişiminin sabit 10 g/L olduğu durumda, 100 ve 250 mg/L bakır(II) ve nikel(II) derişimlerinde metal içeren ortamlarda mikroorganizma özgül üreme hızı ve maksimum üreyen mikroorganizma derişiminin metal iyonu içermeyen ortama göre kıyaslaması ve metal iyonlarının varlığı sonucu üremedeki azalış yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 5.1 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken elde edilen mikroorganizma özgül üreme hızının metal içermeyen ortamlarla karşılaştırılması

| Metal İyonu | | <i>Candida membranaefaciens</i> | | <i>Candida utilis</i> | | <i>Candida tropicalis</i> | | <i>Candida lypolytica</i> | |
|-----------------|-----------------|---------------------------------|--------|-----------------------|--------|---------------------------|--------|---------------------------|--------|
| C_{Cu} | C_{Ni} | μ_{max} | Azalış | μ_{max} | Azalış | μ_{max} | Azalış | μ_{max} | Azalış |
| mg/L | mg/L | sa^{-1} | %'si | sa^{-1} | %'si | sa^{-1} | %'si | sa^{-1} | %'si |
| 0,0 | 0,0 | 0,245 | 0,0 | 0,238 | 0,0 | 0,289 | 0,0 | 0,308 | 0,0 |
| 100,0 | 0,0 | 0,223 | 9,0 | 0,207 | 13,0 | 0,258 | 10,7 | 0,278 | 9,7 |
| 250,0 | 0,0 | 0,189 | 22,9 | 0,175 | 26,5 | 0,218 | 24,6 | 0,236 | 23,4 |
| 0,0 | 100,0 | 0,215 | 12,2 | 0,199 | 16,4 | 0,249 | 13,8 | 0,268 | 13,0 |
| 0,0 | 250,0 | 0,170 | 30,6 | 0,157 | 34,0 | 0,197 | 31,8 | 0,215 | 30,2 |

Çizelge 5.2 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken elde edilen maksimum üreyen mikroorganizma derişiminin metal içermeyen ortamlarla karşılaştırılması

| Metal İyonu | | <i>Candida membranefeciens</i> | | <i>Candida utilis</i> | | <i>Candida tropicalis</i> | | <i>Candida lypolytica</i> | |
|-------------------|-------------------|--------------------------------|-------------|-----------------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| C ₀ Cu | C ₀ Ni | X | Azalış %'si | X | Azalış %'si | X | Azalış %'si | X | Azalış %'si |
| mg/L | mg/L | g/L | | g/L | | g/L | | g/L | |
| 0,0 | 0,0 | 2,732 | 0,0 | 2,658 | 0,0 | 2,999 | 0,0 | 3,111 | 0,0 |
| 100,0 | 0,0 | 2,666 | 2,4 | 2,456 | 7,6 | 2,831 | 5,6 | 2,968 | 4,6 |
| 250,0 | 0,0 | 2,335 | 14,5 | 2,148 | 19,2 | 2,483 | 17,2 | 2,607 | 16,2 |
| 0,0 | 100,0 | 2,574 | 5,8 | 2,371 | 10,8 | 2,735 | 8,8 | 2,868 | 7,8 |
| 0,0 | 250,0 | 2,175 | 20,4 | 1,199 | 54,9 | 2,315 | 22,8 | 2,432 | 21,8 |

Çizelgelerden nikel(II) iyonlarının mayaların üremesini inhibe etme etkisinin bakır(II)'ye göre daha yüksek olduğu, ayrıca mikroorganizma özgül üreme hızlarındaki azalmanın, maksimum üreyen maya derişimlerine göre daha fazla olduğu görülmektedir.

Deneysel çalışmaların ikinci kısmında mayaların lipaz enzimi aktivitesi mikroorganizmaların maksimum üreme gösterdikleri pH 4,0 değerinde metal iyonu içeren ve içermeyen ortamlarda incelenmiştir. Başlangıç sakkaroz derişiminin artmasıyla mayaların gösterdiği lipaz aktivitesinin arttığı, 25-250 mg/L derişim aralığında ortama eklenen tekli bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının ise enzim aktivitesini düşürdüğü deneysel sonuçlardan görülmüştür. Çizelge 5.3'de sakkaroz derişiminin sabit 10 g/L olduğu durumda, 100 ve 250 mg/L bakır(II) ve nikel(II) derişimlerinde metal iyonu içeren ortamlarda mayaların enzim aktivitesinin metal iyonu içermeyen ortama göre kıyaslaması ve metal iyonlarının varlığı sonucu aktivitedeki azalış yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 5.3 10 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken elde edilen enzim aktivitesinin metal içermeyen ortamlarla karşılaştırılması

| Metal İyonu | | <i>Candida membranefeciens</i> | | <i>Candida utilis</i> | | <i>Candida tropicalis</i> | | <i>Candida lypolytica</i> | |
|-------------------|-------------------|--------------------------------|-------------|-----------------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| C ₀ Cu | C ₀ Ni | Aktivite | Azalış %'si | Aktivite | Azalış %'si | Aktivite | Azalış %'si | Aktivite | Azalış %'si |
| mg/L | mg/L | U/L | | U/L | | U/L | | U/L | |
| 0,0 | 0,0 | 903,41 | 0,0 | 486,54 | 0,0 | 755,25 | 0,0 | 614,68 | 0,0 |
| 100,0 | 0,0 | 795,00 | 12,0 | 413,56 | 15,0 | 657,07 | 13,0 | 528,63 | 14,0 |
| 250,0 | 0,0 | 617,93 | 31,6 | 318,19 | 34,6 | 509,04 | 32,6 | 408,15 | 33,6 |
| 0,0 | 100,0 | 766,09 | 15,2 | 397,98 | 18,2 | 632,89 | 16,2 | 508,96 | 17,2 |
| 0,0 | 250,0 | 547,47 | 39,4 | 280,24 | 42,4 | 450,13 | 40,4 | 360,20 | 41,4 |

Çizelge 5.3'den hem bakır(II) hem de nikel(II) iyonlarının mayaların enzim aktivitesini düşürdüğü, nikel(II) iyonlarının aktiviteyi düşürücü etkisinin bakır(II)'ye göre daha yüksek olduğu açıkça görülmektedir.

Kamini vd.(2000), *Cryptococcus sp.* S-2'nin hücre dışı lipaz üretimini etkileyen bir dizi faktör araştırmıştır. Nitrojen, karbon kaynakları ve indükleyicilerin ard arda yapılan optimizasyonu ile

lipaz aktivitesi arttırılmış ve optimizasyon koşulları altında, pH=5,6, 25⁰C ve 120 saat, kültür ortamındaki lipaz aktivitesi 65,7 U/mL olarak hesaplanmıştır (Kamini, N. R., Fujii, T., Kuruso, T., 2000).

Edwinoliver vd. (2010), tarımsal artıklar (Buğday kepeği, hindistan cevizi küspesi, vb.) ile *Aspergillus niger*'den (MTCC 2594) lipaz üretimi için, yeni bir üç substratlı (TSF) (Tri-substrate fermentation) prosesi kullanmışlardır. Lipaz aktivitesi 30 ⁰C ve 96 saatte yaklaşık 628,7 U/g kuru substrat olarak belirlenmiştir. Mikrobiyal gelişim çalışmalarında buğday küspesinin ortama eklenmesiyle biyokütle miktarının ve lipaz üretiminin arttığı tespit edilmiştir (Edwinoliver, N. G., Thirunavukarasu, K. , Naidu, R. B. , Gowthaman, M. K. , Nakajima, T., K., Kamini, N. R., 2010). Bu sonuçlarla karşılaştırıldığında enzim aktivitesi için hesaplanan değerler literatürle uyumluluk göstermiştir.

Deneysel çalışmaların son kısmında mayaların ortama eklenen tekli bakır(II) ve nikel(II) iyonlarını biyobirikirme (tutma) kapasiteleri araştırılmıştır. Biyobirikim çalışmaları da mayaların maksimum üreme gösterdikleri pH 4,0 değerinde ve farklı başlangıç sakkaroz derişimlerinde incelenmiştir. Ortama 25-250 mg/L derişim aralığında eklenen bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının başlangıç derişimlerinin artmasıyla tutulan bakır(II) ve nikel(II) derişimlerinin ve gram kuru mikroorganizma başına tutulan miktarlarının arttığı deneysel sonuçlardan görülmüştür. Çizelge 5.4 ve 5.5'de sakkaroz derişiminin sabit 10 g/L ve 20 g/L olduğu durumda, 100 ve 250 mg/L bakır(II) ve nikel(II) derişimlerinde metal iyonu içeren ortamlarda mayaların tuttuğu metal derişimleri ve gram kuru mikroorganizma başına tuttuğu miktarların kıyaslaması ve bu değerlerin metal iyonu ve sakkaroz derişiminin artışıyla artış yüzdeleri verilmiştir.

Çizelge 5.4 10 ve 20 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken tutulan metal derişimleri ve metal iyonu ve sakkaroz derişimi arttıkça tutulan derişimdeki artış yüzdeleri

| S ₀ | Metal İyonu | | <i>Candida membranefeciens</i> | | <i>Candida utilis</i> | | <i>Candida tropicalis</i> | | <i>Candida lypolytica</i> | |
|----------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|------------|-----------------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------------------|------------|
| | C _{oCu} mg/L | C _{oNi} mg/L | Ctut mg/L | Artış %'si | Ctut mg/L | Artış %'si | Ctut mg/L | Artış %'si | Ctut mg/L | Artış %'si |
| 10,0 | 100,0 | 0,0 | 46,80 | 0,0 | 38,40 | 0,0 | 51,48 | 0,0 | 59,20 | 0,0 |
| | 250,0 | 0,0 | 94,81 | 102,6 | 79,00 | 105,7 | 104,29 | 102,6 | 112,60 | 103,7 |
| 20,0 | 100,0 | 0,0 | 58,47 | 24,9-0,0 | 46,47 | 21,0-0,0 | 64,31 | 24,9-0,0 | 73,96 | 28,7-0,0 |
| | 250,0 | 0,0 | 115,05 | 145,8-96,8 | 95,88 | 149,7-120,9 | 126,56 | 145,2-120,9 | 141,10 | 159,1-90,8 |
| 10,0 | 0,0 | 100,0 | 39,7 | 0,0 | 31,2 | 0,0 | 44,3 | 0,0 | 50,7 | 0,0 |
| | 0,0 | 250,0 | 77,2 | 94,5 | 62,1 | 99,0 | 79,26 | 78,9 | 92,33 | 82,1 |
| 20,0 | 0,0 | 100,0 | 46,69 | 17,6-0,0 | 38,80 | 24,4-0,0 | 55,31 | 24,9-0,0 | 62,86 | 24,0-0,0 |
| | 0,0 | 250,0 | 87,44 | 120,3-87,1 | 78,70 | 152,2-102,8 | 96,18 | 117,1-73,9 | 115,70 | 128,2-84,1 |

Çizelge 5.5 10 ve 20 g/L sabit sakkaroz derişiminde ortamda 100 ve 250 mg/L derişimlerinde bakır(II) ve nikel(II) varken gram kuru mikroorganizma başına tutulan metal miktarları ve metal iyonu ve sakkaroz derişimi arttıkça tutulan miktardaki artış yüzdeleri

| S ₀ | Metal İyonu | | <i>Candida membranefeciens</i> | | <i>Candida utilis</i> | | <i>Candida tropicalis</i> | | <i>Candida lypolytica</i> | |
|----------------|-------------------|-------------------|--------------------------------|-------------|-----------------------|-------------|---------------------------|-------------|---------------------------|-------------|
| | C ₀ Cu | C ₀ Ni | q | Artış %'si | q | Artış %'si | q | Artış %'si | q | Artış %'si |
| g/L | mg/L | mg/L | mg/g | | mg/g | | mg/g | | mg/g | |
| 10,0 | 100,0 | 0,0 | 17,56 | 0,0 | 15,64 | 0,0 | 18,18 | 0,0 | 19,94 | 0,0 |
| | 250,0 | 0,0 | 40,61 | 131,3 | 36,78 | 135,2 | 41,99 | 131,0 | 43,12 | 116,2 |
| 20,0 | 100,0 | 0,0 | 19,99 | 13,8-0,0 | 16,47 | 5,3-0,0 | 20,87 | 14,8-0,0 | 22,10 | 10,8-0,0 |
| | 250,0 | 0,0 | 44,56 | 153,8-122,9 | 38,28 | 144,8-132,4 | 46,46 | 155,6-122,6 | 47,62 | 138,8-115,5 |
| 10,0 | 0,0 | 100,0 | 15,42 | 0,0 | 13,16 | 0,0 | 16,20 | 0,0 | 17,68 | 0,0 |
| | 0,0 | 250,0 | 33,20 | 115,3 | 31,07 | 136,1 | 34,23 | 111,3 | 37,95 | 114,6 |
| 20,0 | 0,0 | 100,0 | 17,55 | 13,8-0,0 | 14,12 | 7,3-0,0 | 18,54 | 14,4-0,0 | 19,39 | 9,7-0,0 |
| | 0,0 | 250,0 | 36,03 | 133,7-39,5 | 33,47 | 154,3-137,0 | 37,54 | 131,7-102,5 | 41,49 | 134,7-114,0 |

Çizelge 5.4 ve 5.5'den başlangıç sakkaroz ve metal derişimi arttıkça tutulan metal derişimleri ve miktarlarının önemli ölçüde arttığı, maya hücrelerinin bakır(II) iyonlarını nikel(II) iyonlarına kıyasla daha fazla tuttuğu açıkça görülmektedir.

Dursun ve arkadaşları (2002), tarafından yapılan bir çalışmada Cu(II), Pb(II) ve Cr(VI) iyonlarının *Aspergillus niger*'in üremesi ve biyobirikimi üzerine başlangıç pH'ı ve başlangıç metal iyon derişiminin etkilerini araştırmışlar ve çalıştıkları tüm metal iyonu derişimlerinde *A. niger*'in üremesi üzerine metal iyonlarının inhibisyonunu gözlemelerine karşın, 100.0 mg/L'lik başlangıç Cu(II) ve Pb(II) derişimlerinde sırasıyla 15.6 ve 34.4 mg/g olan maksimum giderim kapasiteleri elde etmişlerdir. Araştırmacılar çok düşük Cr(VI) derişimlerinin bile *A. niger*'in üremesini inhibe ettiğini de gözlemişlerdir.

Aksu ve Dönmez (2001), metal iyonlarına alıştırmış canlı *Candida sp.* mayasıyla bakır(II) ve nikel(II) iyonlarının biyobirikimini başlangıç pH'ı ve başlangıç metal iyon derişiminin fonksiyonu olarak incelemişler ve 783.6 mg/L başlangıç bakır(II) derişiminde 36.9 mg/g; 321.5 mg/L başlangıç nikel(II) derişiminde ise 46.8 mg/g özgül giderim kapasitesi değerleri elde etmişlerdir. Bu sonuçlarla karşılaştırıldığında deneysel sonuçların literatür çalışmalarındaki sonuçlardan daha yüksek olduğu söylenebilir.

6. KAYNAKLAR

Açıkel, Ü., Alp, T., 2009, *Rhizopus delemar* kullanılarak Cu(II) ve Ni(II) iyonlarının biyobirikiminin inhibisyon kinetikleri üzerine bir çalışma.

Ahluwalia, S. S., Goyal, D., 2005, Microbial and plant derived biomass for removal of heavy metals from wastewater.

Akhtar, K., Akhtar, M., Khalid, A. M., 2007, Removal and recovery of zirconium from its aqueous solution by *Candida tropicalis*.

Akpınar, D., 1998, Endüstriyel atık sularındaki fenol ve ağır metal iyon karışımlarının adsorpsiyon / biyosorpsiyonunun karşılaştırmalı incelenmesi, Yüksek mühendislik tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

Aksu, Z., 1988, Atık sularındaki ağır metal iyonlarının yeşil alglerden *Chlorella vulgaris*'e adsorpsiyonunun kesikli düzende karşılaştırmalı ve akışkan yatak tepkime kaplarında incelenmesi, Doktora tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.

Aksu, Z., 1998, Biosorption of heavy metals by microalgae in batch and continuous systems, in wastewater treatment with algae, Landes Bioscience Publishers, Germany.

Aksu, Z., 2001, Equilibrium and kinetic modelling of cadmium(II) biosorption by *C. vulgaris* in a batch system: effect of temperature, Process Biochem., 36, 431-439.

Aksu, Z., Dönmez, G., 2000, The use of molasses copper(II) containing wastewaters effects on growth and bioaccumulation properties of *Kluyveromyces marxianus* Process Biochem., 36, 2000, 451-458.

Aksu, Z., Dönmez, G., 2001, Bioaccumulation of copper(II) and nickel(II) by the non-adapted and adapted growing *Candida Sp.*, Wat. Res., 15 (6), 1425-1434.

Aksu, Z., Dönmez, G., 2001, Bioaccumulation of copper(II) and nickel(II) by the non-adapted and adapted growing *Candida Sp.*, Wat. Res., 15 (6), 1425-1434.

Atımtay, A., Yetiş, Ü., 1992, Atık su özellikleri ve analizleri, Endüstriyel atık su arıtım kitabı içinden, (Editörler; Tanyolaç, A., Çelebi, S.), TMMOB Kimya Mühendisleri Odası Yayınları, Bölüm 3, 67-83, Ankara.

Baillargeon, M. W., Bistline, R. G., Sonnet, P. E., 1989, Evaluation of strains of *Geotrichum candidum* for lipase production and fatty acid specificity, Appl. Microbiol. Biotechnol., 30, 92-96.

Barnett, J. A., Payne, R. W., Yarrow, D., 1990, Yeasts: Characteristics and Identification, Cambridge University Press

Baş, L., Demet, Ö., 1992, Çevresel toksikoloji yönünden bazı ağır metaller, Ekoloji dergisi, sayı:5

Bilgehan, H., 1989, Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, Ankara

- Brozzoli, V., Crognale, S., Sampedro, I., Federici, F., Annibale, A. D., Fetruccidi, M., 2009, Assessment of olive-mill wastewater as a growth medium for lipase production by *Candida cylindracea* in bench-top reactor.
- Bussamara, R., Meneghello, A. F., vd., 2009, Isolation of lipase secreting yeast for enzyme production in a pilot-plant scale batch fermentation.
- Cheremisinoff, Paul N., Ellerbusch, Fred, 1978, Carbon adsorption handbook, Ann Arbor Science, Michigan.
- Clark, W. J., Viessman, W., Hanmer, M. J., 1971, Water supply and pollution control, International Textbook Company, 2nd ed., 285-566.
- Dalmau, E., Mantesinos, J. L., Lotti, M., 1999, Effect of different carbon sources on lipase production by *Candida rugosa*.
- Deng, X., Hu, Z. L., Yi, X. E., 2007, Continious treatment process of mercury removal from aqueous solution by growing recombinant *E. coli* cells and modelling study.
- Diamadopoulas, E., Samaras, P., Sakellaropoulas, G. P., 1972, The effect of activated carbon properties on the adsorption of toxic substances, Water Science and Technology., 25, 153-160.
- Dönmez, G., 2001, Bioaccumulation of reactive textile dyes by *Candida tropicalis* growing in molasses medium.
- Drzymala, J., Kapusniak, J., Tomasik, P., 2003, Removal of lead minerals from copper industrial flotation concentrates by xanthate flotation in the presence of dextrin, Int. J. Miner. Process. 70, 147-155.
- Dursun, A. Y., Uslu, G., Cuci, Y., Aksu, Z., 2002, Bioaccumulation of copper(II), lead(II) and chromium(VI) by growing *Aspergillus niger*, Process Biochem., in press.
- Eylar, E. H., 1964, "On the biological role of glycoproteins", J. Theoret. Biol., 10, 89 (1965). M.R. Pollock, "Exoenzymes", in "The Bacteria," I. C. Gunasalus and R. Y. Stanier, Eds., Academic Press, England, pp. 121-178.
- Eckenfelder, W. W., 1966, Industrial water pollution control, Mc Graw Hill, USA, 100-118.
- Edwinoliver, N. G., Thirunavukarasu, K., Naidu, R. B., Gowthaman, M. K., Nakajima, T. K., Kamini, N. R., 2010, Scale up of a novel tri-substrate fermentation for enhanced production of *Aspergillus niger* lipase for tallow hydrolysis.
- Elibol, M., Mavituna, F., 1997, Characteristics of antibiotic production in multiphase system.
- Erdal, E., 2004, Enzimatik tepkimeye ait kinetik parametrelerin tek kesikli çalışmada Lambert W fonksiyonu kullanılarak bulunması, Yüksek lisans tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara.
- Ertuğrul, S., San, N. O., Dönmez, G., 2008, Treatment of dye (Remozal Blue) and heavy metals using yeast cells with purpose of maneging polluted textile waste waters.
- Fersht, A., (1985), Enzyme structure and mechanism, W H Freeman & co, New York, p50-52.

- Forouchi, E., Gunn, D. J., 1983, Some effects on metal ions on the estimation of reducing sugars in biological media, *Biotech. Bioeng.* 25, 1905-1911.
- Frausto Da Silva, J. J. R., Williams R. J. P., 1976, The uptake of elements by biological systems, *Struct. Bonding*, 29, 67-102
- Goodyear, K. L., Mc Neill, S., 1999, Bioaccumulation of heavy metals by aquatic macro-invertebrates of different feeding guilds: a review, *The Science of the Total Environment*, 229, 1-19.
- Gönenç, I. E., 1991, Endüstriyel atık suların ön arıtması, Su Kirlenmesi Araştırmaları Türk Milli Komitesi Teknoloji İletimi Semineri No:1, İstanbul Sanayi Odası, 16-19.
- Gözükara, E., 1997, *Biyokimya 2*, Nobel Tıp Kitapevleri, 575-580.
- Groves, J.T., (1997), Artificial enzymes. The importance of being selective, *Nature* **389** (6649): 329-30.
- Gupta, N., Rathi, P., 2002, Simplified para-nitrophenyl palmitate assay for lipases and esterases, *India*
- Gurnham, C. F., 1965, *Industrial waste water control*, Academic Press, USA, 168-199, 221-285, 339-357.
- Haas, M. J., Cichowicz, D. J., Bailey, D. G., 1992, Purification and characterization of an extracellular lipase from the fungus *Rhizopus delemar*, *Lipids*, 27, 571-576.
- Haas, M. J., *Compendium of methods for the microbiological examination of foods*, 1992.
- Haritonidis, S., Malea, P., 1999, Bioaccumulation of metals by the green alga *Ulva rigida* from thermaikos gulf, Greece, *Environ. Pollution*, 104, 365-372.
- İnal, M. E., 1996, *Biyokimya*, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları No: 489, 10, Eskişehir.
- Lampen, J. O., 1964, Secretion of enzymes by micro-organisms, in 15 th Symp. Soc. Gen. Microbiol., Cambridge University pres, England, pp. 115-133.
- Lampen, J. O., 1968, External enzymes of yeast: their nature and formation, *J. Microbial, Serol.*, 34, 1.
- Tkacz, J. S., Lampen, J. O., 1971, Cell wall replication in *Saccharomyces* species: Site of manan insertion as released by fluorescein-conjugated concanavalin A., *Bacteriol. Proc.*, p.61.
- Tsekova, K. V., Marinov, P. G., 1999, Copper accumulation by *Aspergillus awamori*
- Kahvecioğlu, Ö., Güven, A., Kartal, G., Timur, S., *Metallerin Çevresel Etkileri-I-II-III*, *Metallurji Dergisi*, sayı :136,137,138
- Kamini, N.R., Fujii, T., Kuruso, T., 2000, Production, purification and characterization of an extracellular lipase from the yeast, *Cryptococcus*.

- Kargı, F., 1993, Çevre mühendisliğinde biyoprosesler, D.E.Ü., Mühendislik Fakültesi Yayınları, No: 234, İzmir.
- Kılıç, N. K., Nielsen, J. L., Yüce, M., Dönmez, G., 2006, Characterization of a simple bacterial consortia for effective treatment of wastewaters with reactive dyes and Cr (VI).
- Kim, M. S., Hong, K.-M., Chung, J. G., 2003, Removal of Cu(II) from aqueous solutions by adsorption process with anatase-type titaniumdioxide, Water Research, 37, 3524-3529.
- Koçhisar, N., 1989, Endüstriyel atık sulardan fenol giderilmesi, Yüksek Mühendislik Tezi, Ondokuzmayıs Üniversitesi, Samsun.
- Koshland, D. E., 1958, Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis, Proc. Natl. Acad. Sci, 44 (2): 98-104.
- Lee, W. Y., Wang, W. X., 2001, Metal accumulation in the green macroalga *Ulva fasciata*: effects of nitrate, ammonium and phosphate, The Science of the Total Environment, 278, 11-22.
- Pollock, M. R., 1964, Enzymes Destroying Penicillin & Cephalosporin Antimicrobial agents & Chemotherapy, p. 292.
- Macaskie, L. E., 1997, Bioaccumulation of heavy metals, and application to the remediation of acid mine drainage water containing uranium, Bacterial interaction with heavy metals in the environment, Workshop-Follow-up, 528-530.
- Macaskie, L. E., Dean, A. C. R., 1989, Microbiol metabolism, desolubilization and deposition of heavy metals, metal uptake by immobilized cell and application to the detoxification of liquid wastes, in Biological Waste Treatment, Alan, R.Liss Inc., 159-210.
- McCarty, P., 1964, Anaerobic Waste Treatment Fundamentals, Part (III), Toxic Materials and Their Control Public Works., pp.91-94.
- Mejare, M., Bulow, L., 2001, Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals, Trends in Biotechnology, 19 (2), 67-73.
- Moore, B. A, Duncan, J. R., Burgess, J. E., 2007, Fungal bioaccumulation of copper, nickel, gold and platinumium.
- Nursito, A. I., Singh, B., Lees, E., 2009, Cadmium bioaccumulation in *proisotoma minuta* in relation to bioavailability in soils.
- Öncü, V., Tazegül, D., Aydın, N., 2007, Ağır metallerin solucanlarda biyolojik birikimi.
- Özata, A., Kutlu, M., 2000, Enzimoloji ders notları, T.C. Anadolu Üniversitesi Yayınları; no. 1254, Eskişehir, 30 – 38.
- Ellaiah, P., Prabhakar, T., Ramakrishna, B., Thaer T. A., 2001, Production of lipase by immobilized cells of *Aspergillus niger*.
- Patterson, J. W., 1977, Waste water treatment, Science Publishers Inc., U.S.A, 43-55, 59-67, 69-81.

- Pawlik-Skowronska, B., 2003, When adapted to high zinc concentrations the periphytic green alga *Stigeoclonium tenue* produces high amounts of novel phytochelatin-related peptides, *Aquatic Toxicology*, 62, 155-163.
- Pekin, B., 1983, *Biyokimya mühendisliği (Biyoteknoloji)*, 2. Kitap, E.Ü. Kim.Fak. Yayınları 4., İzmir, 409.
- Preetha, B., Viruthagiri, T., 2006, Bioaccumulation of chromium (VI), copper (II) and nickel (II) ions by growing *Rhizopus arrhizus*, *Biochemical Engineering Journal*, In Press, Accepted Manuscript, Available online 2.
- Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981, Phycology and heavy metal pollution, *Biol. Rev.* 56, pp. 99-15
- Rai, L.C., Gaur, J.P., Kumar, H.D., 1981, Phycology and heavy metal pollution. *Biol. Rev.* 56, pp. 101.
- Rajiv, K., Saxena, V. V., Daniel M. L., 2003, Evidence for lipopolysaccharide induced differentiation of RAW264.7 *Murine macrophage* cell line into dendritic like cells.
- Ralph, A. L., 1967, *Physiology and biochemistry of algae*, 3rd ed., Academic Press, USA.
- Rehman, A., Anjum, M. S., 2009, Cadmium uptake by yeast, *Candida tropicalis*, isolated from industrial effluents and it's potential use in wastewater clean-up operations.
- Rigo, E., Ninow, J. L., Luccio, M. D., 2010, Lipase production by solid fermentation of soybean meal with different supplements.
- Rybicki, E. P., 1990, The classification of organisms at the edge of life, or problems with virus systematics.
- Saxena, R. K., Sheoran, A., Giri, B., Sheba, D.W., 2003, Purification strategies for microbial lipases, *J. Microbiologic. Meth.*, 1-18.
- Sharma, R., Chisti, Y., Banerjee, U. C., 2001, Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnology Advances*, 19: 627-662.
- Shuler, M. L., Kargi, F., 2002, *Bioprocess Engineering*, 2nd ed. Prentice Hall PTR, USA.
- Sirianuntapiboon, S., Hangrisuwan, T., 2006, Removal of Zn²⁺ and Cu²⁺ by a sequencing batch reactor (SBR) system.
- Snell, F. D., Snell, C.T., 1959, *Colorimetric Methods of Analysis*, 3rd ed. Vol. 2, D. Van Nostrand Company, Canada, 1-46, 78-139, 279-337.
- So, C. M., 1999, Removal of copper ion (Cu²⁺) from industrial effluent by immobilized microbial cells, M. Phil. Thesis, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, p. 230.
- Su Kirliliği Yönetmeliği, 1988, Resmi Gazete, 4 Eylül, Sayı 19919.

- Şahinkaya, H., 1964, Metal iyonlarının mayanın çoğalması ve metabolizması üzerine yaptığı tesirler hakkında bir araştırma, Ankara
- Taştan, B. E., Ertuğru, S., Dönmez, G., 2009, Effective bioremoval of reactive dye and heavy metals by *Aspergillus visicolor*.
- Telefoncu, A., 1986, Temel ve Uygulamalı Enzimoloji. Biyokimya Lisansüstü Yaz Okulu. 22 Eylül-3 Ekim 1986. Çeşme, İzmir-Türkiye, 326 p.
- Ting, Y. P., Lawson, F., Prince, J. G., 1989, Uptake of cadmium and zinc by the alga *Chlorella vulgaris*; Part I. Individual ion species, Biotech. Bioeng., 34, 990-999.
- Tsekova, K. V., Marinov, P. G. , Tzekova, A. N., 1999, Copper accumulation by *Aspergillus awamori*.
- Tsekova, K., Petrov, G., 2003, Phosphatase production and activity in copper (II) accumulating *Rhizopus delemar*, Enzyme and Microbial Technology, Volume 33, Issue 7, 926-931.
- Tünay, O., 1996, Endüstriyel Kirlenme Kontrolü, İ.T.Ü. Yayınları, İstanbul.
- Uslu, O., Türkman, A., 1987, Su kirliliği ve kontrolü, TC. Başbakanlık Çevre Genel Müdürlüğü Yayınları 1, 331-333, 336, Ankara.
- Ustaçelebi, Ş., 1999, Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Güneş Kitapevi, Ankara, s. 1082.
- Walker, Graeme, M., 2000, Yeast physiology and biotechnology, Wiley and Sons, England.
- Wang, B., Hu, Y., Xie, L., Peng, K., 2007, Bioaccumulation of azo dye using immobilised beads of *Aspergillus fumigatus*.
- Weber, J. R., 1972, Physicochemical Processes for Water Quality Control, Willey Interscience, USA.
- Xin, B., Chen, G. , Zheng, W., 2010, Bioaccumulation of Cu-complex reactive dye by growing pellets of *Penicillium oxalicum* and its mechanism.
- Zhang, Z. S., Zheng, D.M., Wang, Q. C., 2009, Bioaccumulation of total and methyl mercury in three earthworm species (*Drawide sp.*, *Allolobophora sp.*, and *Limnodrillus sp.*)

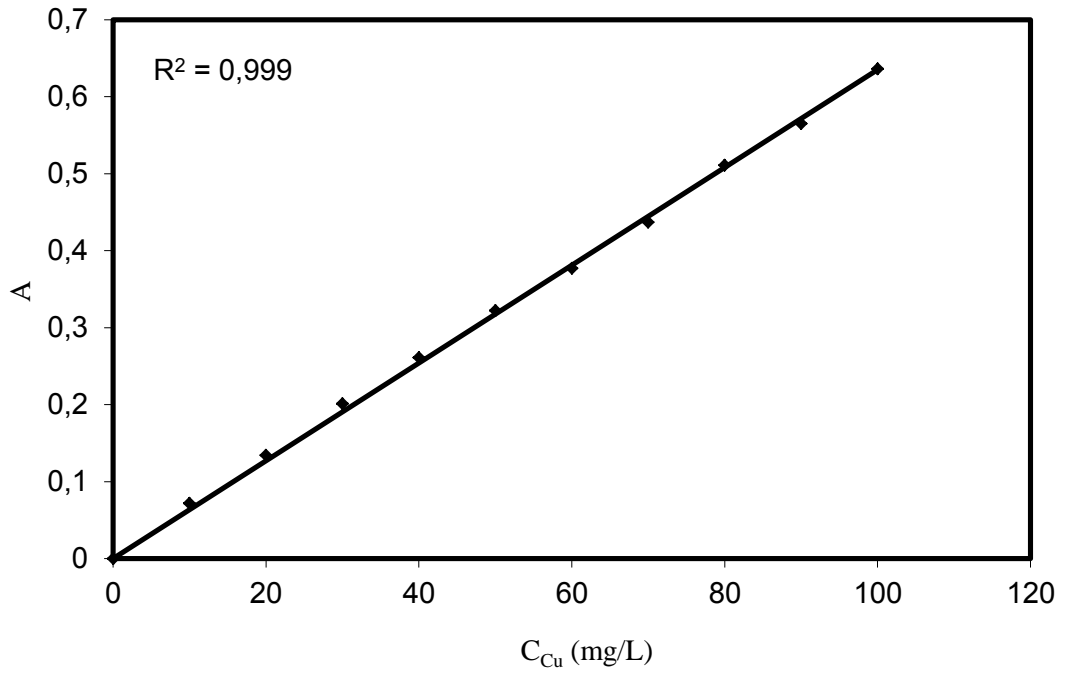
7. ÖZGEÇMİŞ

Gülşah Mersin 09.02.1983 tarihinde İzmir’de doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini İzmir’de tamamladı. 2003 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Kimya Mühendisliği Bölümünü kazandı ve 2007 yılında mezun oldu. 2007 yılında Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Proses ve Reaktör Tasarımı Anabilim Dalı’nda yüksek lisansa başladı. 2009 ağustos ayından bugüne Cumhuriyet Üniversitesi Eğitim Fakültesi’nde uzman olarak çalışmaktadır.

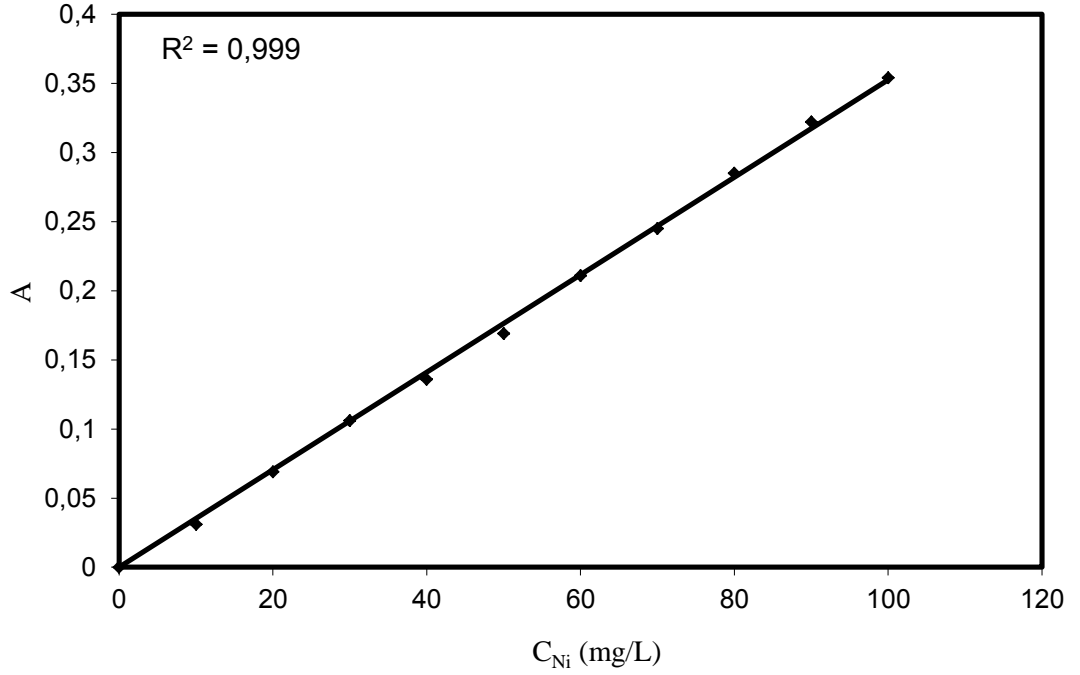
8. EKLER

Ek 1. Bakır (II) ve nikel(II) iyon derişimlerinin tayini

Ortamdaki serbest bakır(II) veya nikel(II) iyon derişiminin bulunması için aynı yöntem kullanılmış olup, bakır(II)/nikel(II)'nin sodyum dietil ditiyokarbomatla yaptığı sarı-kahveregi renkli kompleks yardımı ile spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Bakır(II) iyonunun sodyum dietil ditiyokarbomatla kompleks oluşturabilmesi ve kompleksin çökmemesi için ortam pH'mın 9.0'un üzerinde olması gerekmektedir. Çözelti 10.0-100.0 mg/L bakır(II) içerecek şekilde seyreltilir. Hazırlanmış örnekten 1 mL alınır ve sırasıyla 20 mL 1.5 N NH₃, 0.2 mL %1'lik sodyum dietil ditiyokarbomat eklenir, hacim damıtık su ile 25 mL'ye tamamlanır. Spektrofotometrede 460 nm'de absorbansı okunur, çalışma doğrusundan mg/L cinsinden bakır(II) derişimine geçilir (Snell, 1959; Sandell, 1961; Aksu, 1988). Bakır(II) ve nikel(II) iyon derişiminin tayini için kullanılan çalışma doğruları Şekil E.1 ve Şekil E.2'de verilmiştir.



Şekil E.1 Bakır(II) iyon derişiminin tayini için kullanılan çalışma doğrusu



Şekil E.2 Nikel(II) iyon derişiminin tayini için kullanılan çalışma doğrusu

Ek 2. Melas sakkarozu derişiminin tayini

Besin ortamdaki melas sakkarozunun derişimi, sakkarozun dinitrosalisilik asit ile yaptığı koyu turuncu renkli kompleks yardımı ile tayin edilir (Miller yöntemi). Bu yöntemde kullanılan analiz çözeltileri, hazırlama şekilleri ve analiz yöntemi aşağıda verilmiştir.

Analiz Çözeltileri:

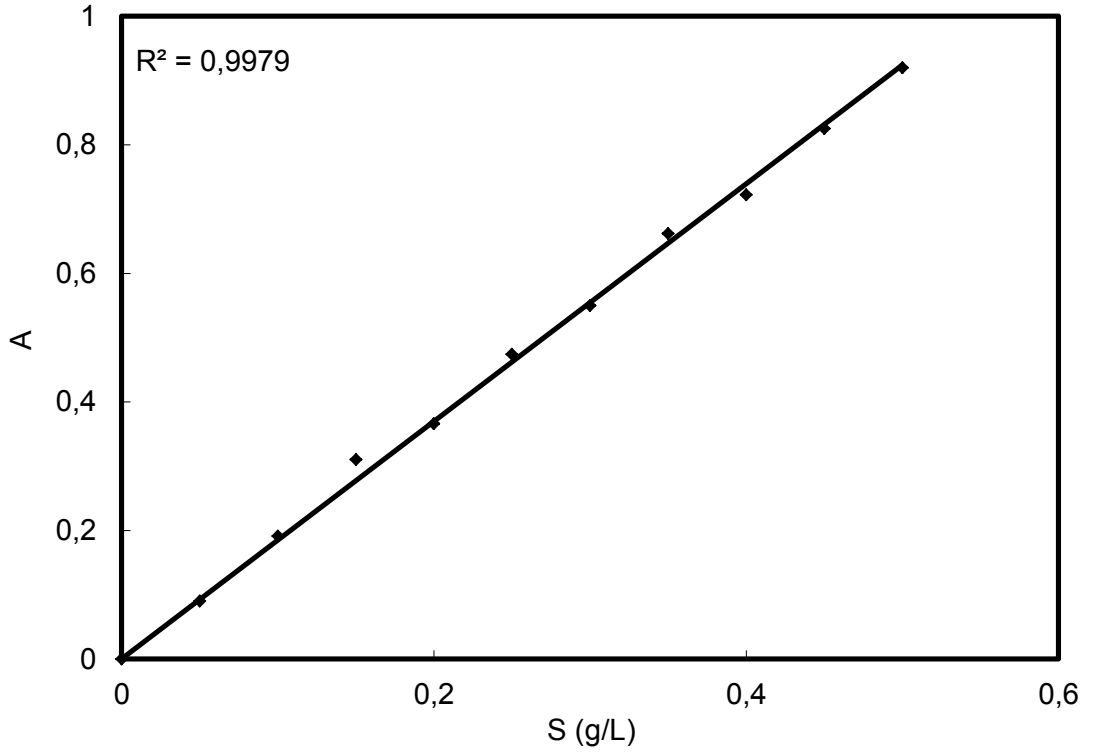
a-DNS Çözeltisi: 10 g dinitrosalisilik asit, 10 g sodyum hidroksit ve 1.6 g fenol 1 L damıtık suda çözülür (Bu çözeltiyi kullanmadan hemen önce 100 mL'sine 1 mL %10'luk sodyum sülfid ilave edilir).

b-Rochella Tuzu Çözeltisi: 400 g potasyum sodyum tartarat 1 L damıtık suda çözülür.

c-Sodyum sülfid çözeltisi: 1 g sodyum sülfid 100 mL damıtık suda çözülür.

Yöntem:

Besin ortamından alınan örnek santrifüjlenerek mikroorganizmadan ayrılır. Çözelti içerisindeki şeker derişimi 0-0.5 g/L aralığında olacak şekilde seyreltilir. Seyreltilen çözülden alınan 2 mL örnek bir deney tüpüne konur ve üzerine 2 mL DNS çözeltisi eklenerek kaynar suda 15 dk bekletilir. Kaynar su banyosundan alınan örneğin üzerine 1 mL Rochella tuzu çözeltisi konularak musluk suyunda soğutulur. Üzerine 5 mL damıtık su ilave edilerek 575 nm’de absorbansı ölçülür. Kör çözeltisi olarak 2 mL örnek yerine 2 mL damıtık su konulan ve aynı işlemlerden geçirilen çözelti kullanılır.



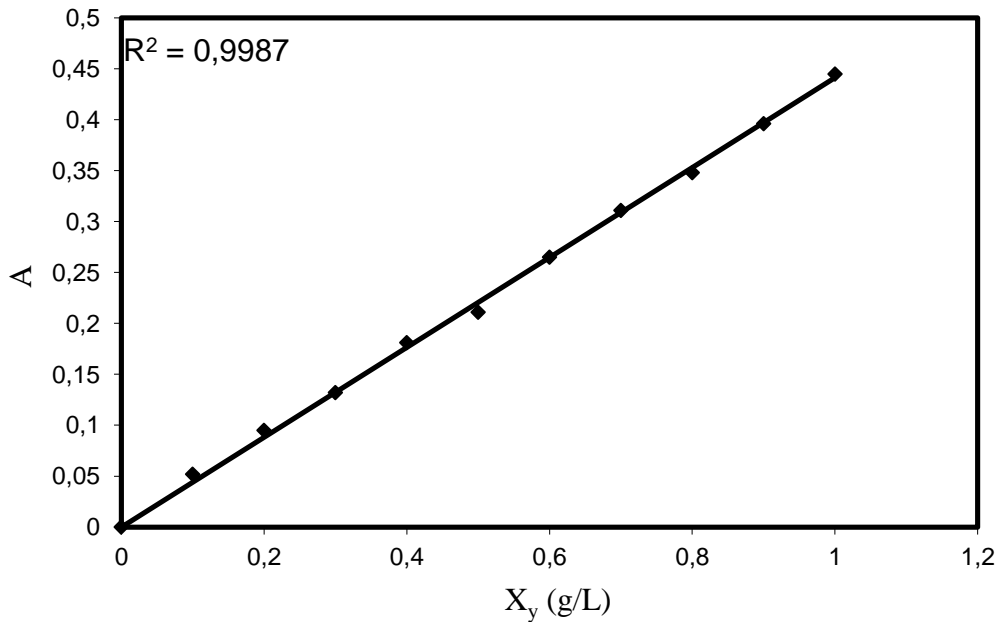
Şekil E.3 Melas sakkarozu derişiminin tayini için kullanılan çalışma doğrusu

Ek 3. Mikroorganizma derişimi tayini

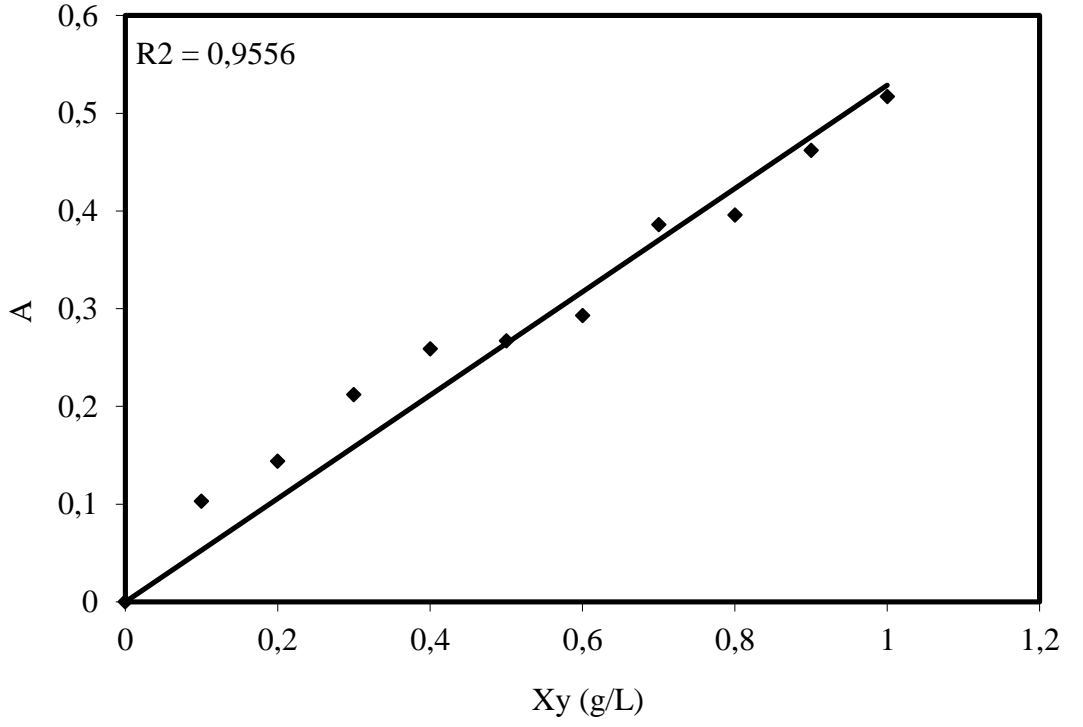
Mikroorganizma derişimi spektrofotometrik olarak tayin edilmiştir. Bunun için öncelikle 1 g/L'ye kadar farklı derişimlerde mikroorganizma içeren çözeltilerin, uygun dalga boyu olarak seçilen 360 nm'de absorbanslarının okunmasıyla *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranefeciens* mayaları için yaş mikroorganizma çalışma doğruları oluşturulmuştur (Şekil E.4, Şekil E.5).

Verilerin değerlendirilmesinde kuru mikroorganizma ağırlığı kullanıldığından, yaş ve kuru ağırlık arasındaki ilişkiyi belirlemek gerekmektedir. Bunun için mikroorganizma sıvı ortamda üretilip santrifüjlenerek ayrılmış, ayrılan mikroorganizmalar farklı ağırlıklarda tartılarak 50°C'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuş ve tekrar tartılarak kuru ağırlıkları belirlenmiştir (Açıkel, Ü. vd., 2009). Kuru ağırlığa karşı yaş mikroorganizma ağırlığı grafiğe geçirilerek *Candida lypolytica*, *Candida utilis*, *Candida tropicalis* ve *Candida membranefeciens* mayaları için yaş-kuru mikroorganizma çalışma doğruları elde edilmiştir (Şekil E.6, Şekil E.7).

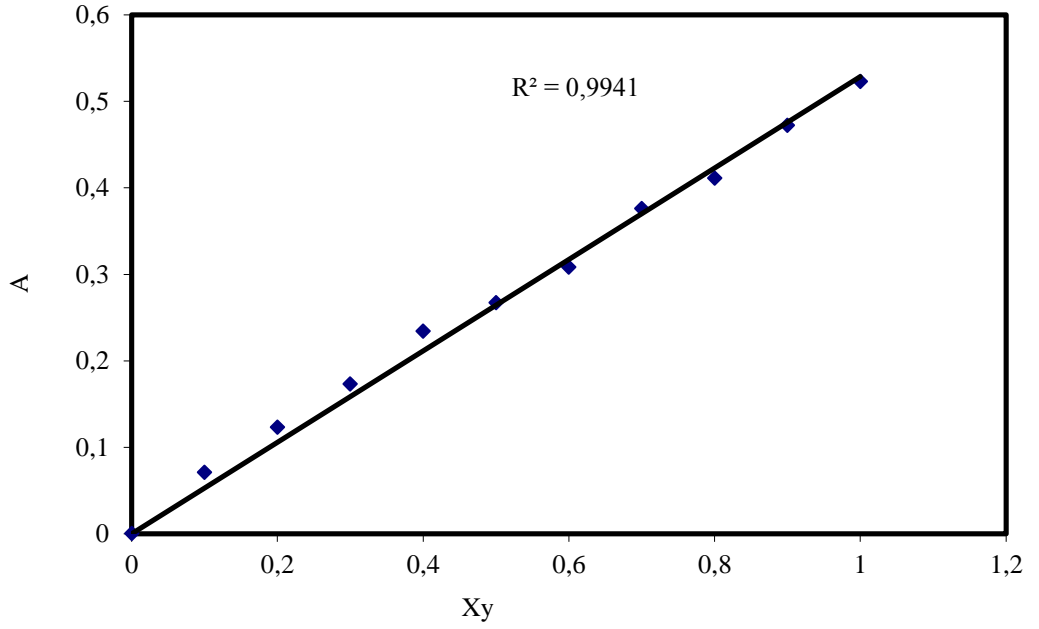
Analiz için besin ortamından alınan 5 mL örnek 5000 devirde 10 dk santrifüjlenmiş, tüpte kalan mikroorganizma kütlesi saf su ile tekrar 5 mL'ye seyreltilerek 360 nm'de suya (kör çözeltilisi) karşı absorbans okunmuş ve çalışma doğruları kullanılarak kuru mikroorganizma ağırlığı saptanmıştır.



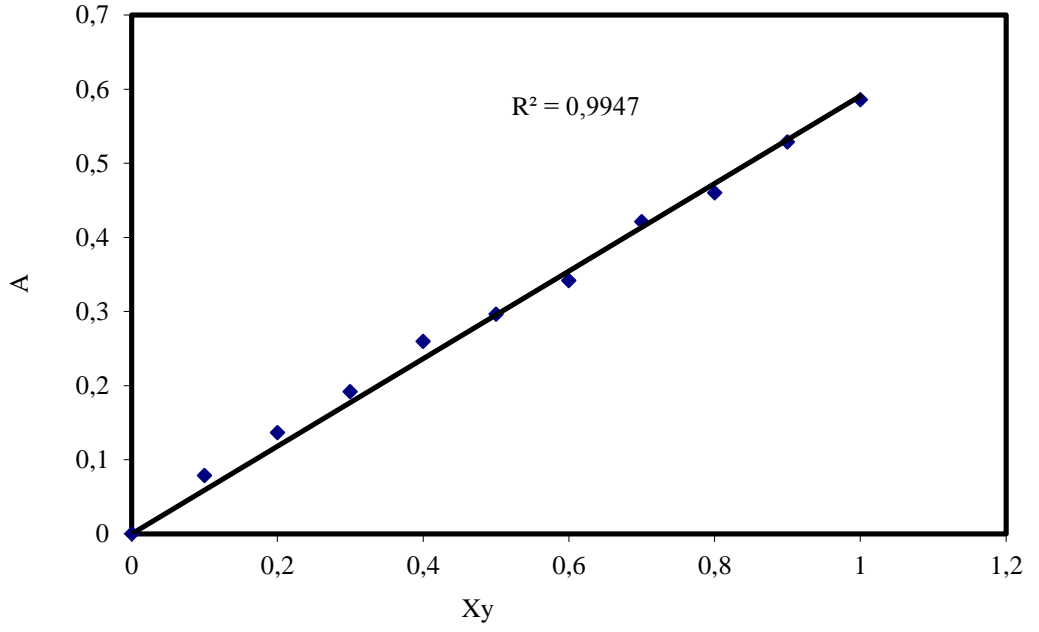
Şekil E.4 *Candida lypolytica* için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu



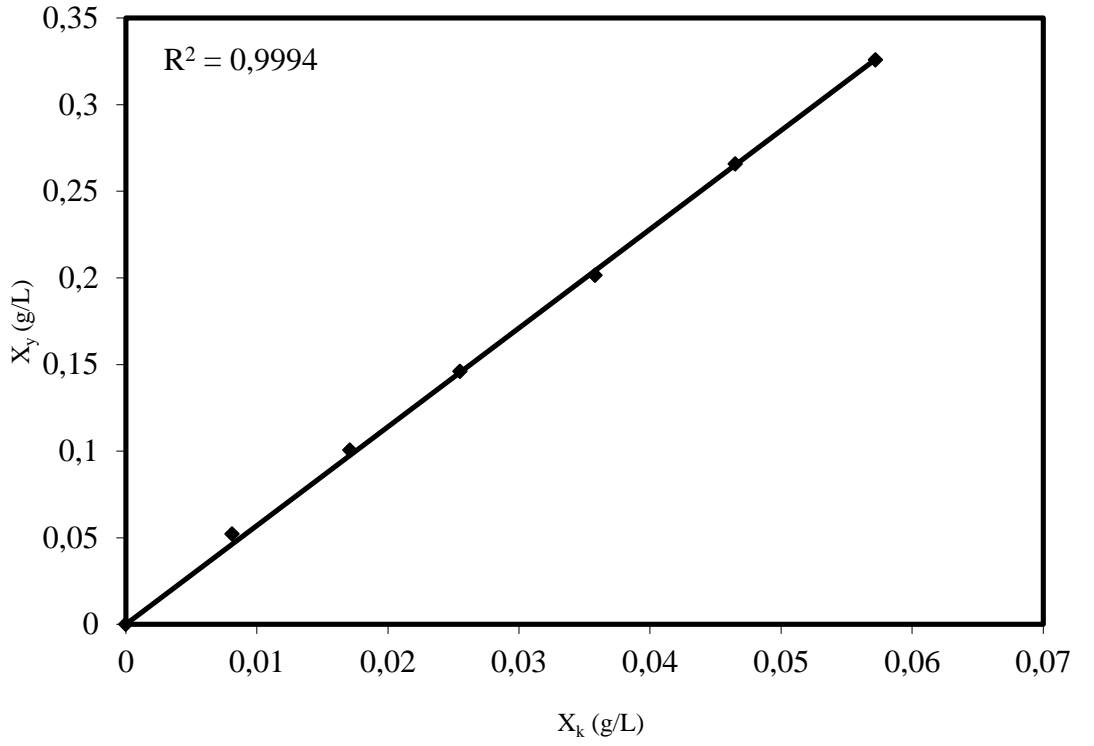
Şekil E.5 *Candida utilis* için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu



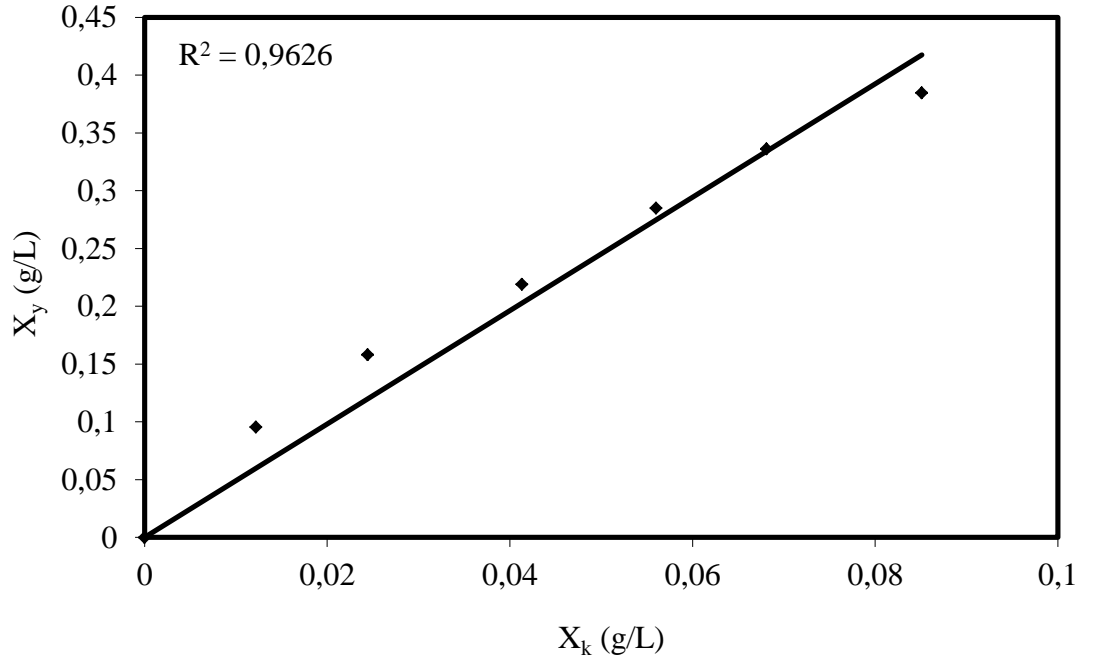
Şekil E.6 *Candida tropicalis* için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu



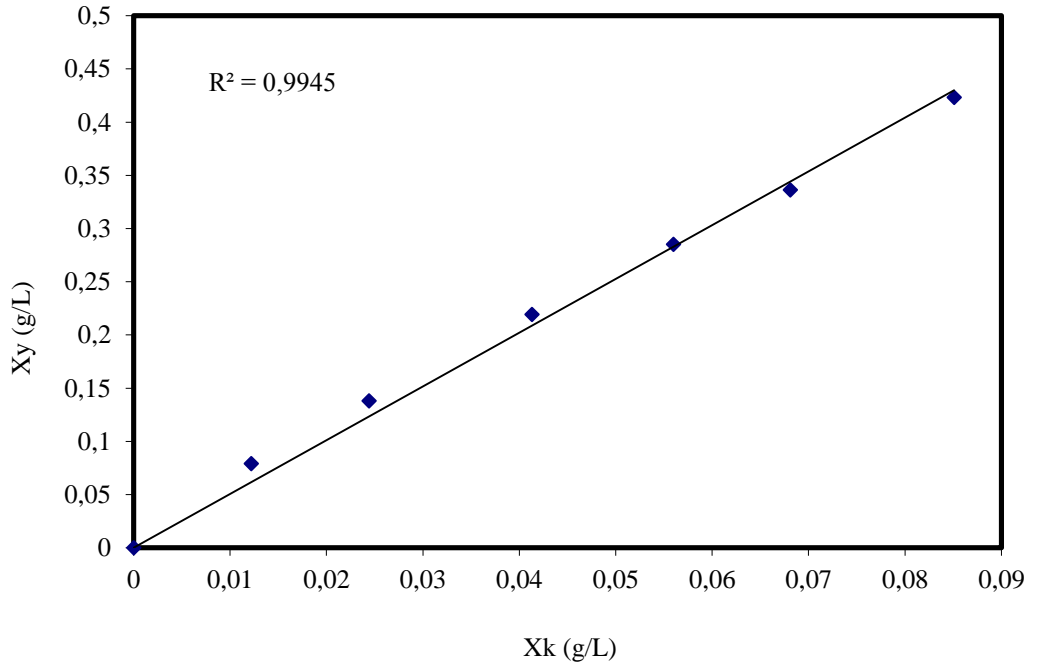
Şekil E.7 *Candida membranaefaciens* için yaş mikroorganizma çalışma doğrusu



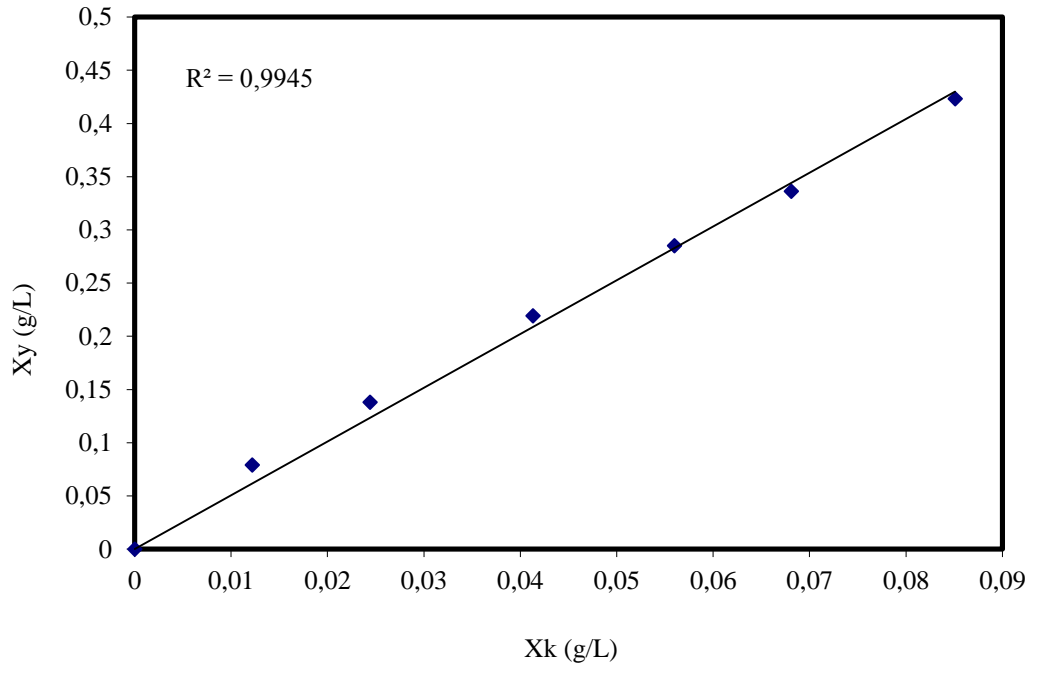
Şekil E.8 *Candida lypolytica* için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu



Şekil E.9 *Candida utilis* için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu



Şekil E.10 *Candida tropicalis* için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu



Şekil E.11 *Candida membranaefaciens* için yaş ağırlık-kuru ağırlık çalışma doğrusu