

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**

**SUCUL ORTAMLARDA SİMAZİNİN BİYODÖNÜŞÜMÜNDE
COPRİNUS PLİCATİLİS HÜCRELERİNİN KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYTEN TOKMAK

DENİZLİ, OCAK - 2020

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**SUCUL ORTAMLARDA SİMAZİNİN BİYODÖNÜŞÜMÜNDE
COPRİNUS PLİCATİLİS HÜCRELERİNİN KULLANIMI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYTEN TOKMAK

DENİZLİ, OCAK - 2020

KABUL VE ONAY SAYFASI

Ayten Tokmak tarafından hazırlanan “Sucul Ortamlarda, Simazinin Biyodönüşümünde *Coprinus plicatilis* Hücrelerinin Kullanımı” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 10.01.2020 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Aslıhan ARSLAN KARTAL
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ



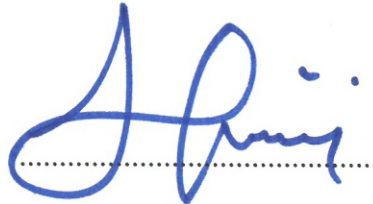
Üye
Doç.Dr. Abdullah AKDOĞAN
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ



Üye
Doç. Dr. Nesrin HORZUM POLAT
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ



Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun
22/01/2020 tarih ve 04/14..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.



Prof. Dr. Uğur YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğine beyan ederim.

Ayten TOKMAK



ÖZET

SUCUL ORTAMLARDA SİMAZİNİN BİYODÖNÜŞÜMÜNDE *COPRINUS Plicatilis* HÜCRELERİNİN KULLANIMI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

AYTEN TOKMAK

PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ASLIHAN ARSLAN KARTAL)

DENİZLİ, OCAK - 2020

Bu çalışmada kaolin kili ve akrilamit kullanılarak, 6 farklı poliakrilamit/kaolin (PAAm/kaolin) kompozit malzeme sentezlenmiştir. Hazırlanan kompozitler üzerine beyaz çürükçül mantar olan *Coprinus plicatilis* hücreleri immobilize edilmiştir. Bu tez çalışmasında sulu ortamlarda bulunan simazinin biyodönüşümü araştırılmıştır. Biyodönüşüm deneyleri önce organizmanın serbest formuyla daha sonra immobilize formuyla çalışılarak gerçekleştirilmiştir. Biyodönüşüm takibi 10 gün süreyle 1-9 mg L⁻¹ aralığında beş farklı simazin derişimi için yapılmıştır. Biyodönüşümü değerlendirmek için sulu ortamda lakkaz, mangan peroksidaz (MnP) enzim aktiviteleri ve yüzde biyodönüşüm değerleri hesaplanmıştır. Serbest hücrelerle simazinin 9 mg L⁻¹ derişiminin biyodönüşümde lakkaz enzim aktivitesi 3. günde 90000 U/L, MnP enzim aktivitesi 6. günde 1.4 U/L maksimum değerlerine ulaşmıştır. Kompozitlere immobilize edilen hücrelerin lakkaz ve MnP enzim aktiviteleri incelendiğinde, lakkaz 9 mg L⁻¹ derişimde 8. gün 160000 U/L, MnP 2.5 U/L ile 4. kompozitte en yüksek enzim aktivite değerine ulaşmıştır. Genel olarak immobilize hücreler için enzim aktivitelerindeki artışlar, serbest hücreye göre fazla olmuştur. Yüzde biyodönüşüm değerleri 1 mg L⁻¹ simazin, 0. ve 9. gün için; serbest ve kompozit malzeme 1, 2, 3, 4, 5 ve 6'ya immobilize hücreleri için sırasıyla; 0.74, 5.47, 1.53, 1.47, 0.52, 0.57 ve 0.52 olarak bulunmuştur. Sentezlenen PAAm/kaolin immobilize *Coprinus plicatilis* hücrelerinin sulu ortamda simazinin biyodönüşümünde etkin rol aldığı ortaya konulmuştur.

ANAHTAR KELİMELER: *Coprinus plicatilis*, İmmobilizasyon, Simazin, PAAm/kaolin, Biyolojik İyileştirme.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE USE OF *COPRINUS PLICATILIS* CELLS IN SIMAZINE BIOTRANSFORMATION IN AQUATIC ENVIRONMENTS

MSC THESIS

AYTEN TOKMAK

PAMUKKALE UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR: ASSOC. DOC. DR. ASLIHAN ARSLAN KARTAL)

DENİZLİ, DECEMBER 2019

In this study, 6 different polyacrylamide / kaolin (PAAm / kaolin) composite materials were synthesized using kaolin clay and acrylamide. *Coprinus plicatilis* cells, which are white rot fungi, were immobilized on the composites. In this thesis, biotransformation of simazine in aqueous media was investigated. Biotransformation experiments were carried out first by working with the free form of the organism and then by immobilized form. Biotransformation monitoring was performed for five different concentrations of simazine in the range of 1-9 mg L⁻¹ for 10 days. To evaluate the biotransformation, laccase, mangan peroxidase enzyme activities and percent bioconversion values were calculated in the aqueous medium. Laccase and MnP enzyme activities in biotransformation of 9 mg L⁻¹ concentration of simazine with free cells reached a maximum value of 90000 U / L on the 3th day, and 1.4 U / L on the 6th day. When the laccase and MnP enzyme activities of the cells immobilized to the composites were examined, the laccase and MnP reached the highest enzyme activity value at the 8th day at 160000 and 2.5 U / L at the 4th day with a concentration of 9 mg L⁻¹. Overall, increases in enzyme activities for immobilized cells were higher than in free cells. The biotransformation percentage values for 1 mg L⁻¹ simazine, 0th and 9th days; for free and composite material 1, 2, 3, 4, 5 and 6 immobilized cells, respectively; it was found to be 0.74, 5.47, 1.53, 1.47, 0.52, 0.57 and 0.52. It has been demonstrated that the synthesized PAAm / kaolin immobilized *Coprinus plicatilis* cells play an active role in the biotransformation of simazine in the aqueous medium.

KEYWORDS: *Coprinus plicatilis*, Immobilization, Simazine, PAAm/kaolin, Biotransformation

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
İÇİNDEKİLER.....	iii
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vii
KISALTMALAR LİSTESİ.....	viii
ÖNSÖZ.....	ix
1. GİRİŞ.....	1
2. FUNGUSLAR.....	4
2.1 Beyaz Çürükçül Funguslar.....	4
2.1.1 <i>Coprinus plicatilis</i>	5
2.2 Ligninolitik Enzimler.....	7
2.2.1 Peroksidaz Sistemi.....	7
2.2.1.1 Lignin Peroksidaz.....	7
2.2.1.2 Mangan Peroksidaz.....	8
2.2.2 Lakkaz Sistemi.....	9
3. İMMOBİLİZASYON.....	12
3.1 İmmobilizasyon Yöntemleri.....	13
3.1.1 Adsorpsiyon.....	14
3.1.2 Bir Yüzeye Bağlanma.....	14
3.1.3 Gözenekli Matrikste Tutulma.....	14
3.1.4 Kapsülleme.....	15
3.2 Polimerler.....	15
3.2.1 Doğal polimerler.....	15
3.2.1.1 Aljinat.....	16
3.2.1.2 Karregenan.....	16
3.2.1.3 Kolejen.....	16
3.2.1.4 Jelatin.....	17
3.2.2 Sentetik Polimerler.....	17
3.2.2.1 Poliakrilamid.....	17
3.2.2.2 Metakrilat.....	18
3.2.2.3 Polivinil alkol.....	18
3.2.3 Katı Destek Malzemeleri.....	18
3.3 Kaolin Kili.....	19
4. PESTİSİTLER.....	20
4.1 Herbisitler ve Sınıflandırılması.....	20
4.1.1 Herbisitlerin Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması.....	21
4.1.2 Herbisitlerin Translokasyona Göre Sınıflandırılması.....	21
4.1.3 Herbisitlerin Kullanım Zamanına Göre Sınıflandırılması.....	21
4.1.4 Herbisitlerin Kullanım Yerine Göre Sınıflandırılması.....	22
4.1.5 Herbisitlerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması.....	22
4.2 Simazin Yapısı ve Çevreye Etkileri.....	24
4.3 Herbisitlerin Giderimi Literatür Bilgileri.....	25
5. METARYEL VE YÖNTEM.....	29
5.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler.....	29

5.2 Cihazlar.....	30
5.3 Hücrede Enzim Üretim Ortamının Hazırlanması	31
5.4 Hücre Ortamının Hazırlanışı.....	31
5.5 Hücre Süspansiyonunun Hazırlanması.....	31
5.6 Serbest Hücrelerle Simazin Biyodönüşümü.....	32
5.7 Kompozit Sentezi ve İmmobilize Hücrelerle Simazin Biyodönüşümü.....	32
5.7.1 Poliakrilamid (PAAm)/Kaolin kompozitlerin Polimerizasyon Yöntemiyle Sentezi:.....	32
5.7.2 İmmobilize Hücrelerle Simazin Biyodönüşümü ve Enzim Aktiviteleri...	33
5.8 Enzim Aktivite Ölçümleri.....	33
5.8.1 Lakkaz Aktivitesi.....	33
5.8.2 Mangan Peroksidaz (MnP) Aktivitesi.....	34
5.9 FT-IR ve SEM Analizi.....	34
5.10 SEM Analizi.....	34
6. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	35
6.1 <i>Coprinus Pilikatilis</i> Serbest Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	35
6.2 Sentezlenen PAAm/kaolin Kompozitlerin SEM Görüntüleri.....	37
6.3 PAAm/kaolin Kompozit Malzemelerine İmmobilize Edilen <i>Coprinus plicatilis</i> Hücrelerinin Simazin Biyodönüşümü Sırasındaki Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	38
6.3.1 PAAm/kaolin Kompozit 1 Malzemesine İmmobilize Edilen <i>Coprinus plicatilis</i> Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	38
6.3.2 PAAm/kaolin Kompozit 2 Malzemesine İmmobilize Edilen <i>Coprinus plicatilis</i> Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	39
6.3.3 PAAm/kaolin Kompozit 3 Malzemesine İmmobilize Edilen <i>Coprinus plicatilis</i> Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	41
6.3.4 PAAm/kaolin Kompozit 4 Malzesine İmmobilize Edilen <i>Coprinus plicatilis</i> Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	42
6.3.5 PAAm/kaolin Kompozit 5 Malzemesine İmmobilize Edilen <i>Coprinus plicatilis</i> Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	44
6.3.6 PAAm/kaolin Kompozit 6 Malzemesine İmmobilize Edilen <i>Coprinus plicatilis</i> Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi.....	45
6.4 FT-IR Analizleri ve Spektrum Taraması.....	46
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
8. KAYNAKLAR.....	55
9. ÖZGEÇMİŞ.....	65

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1	LiP katalitik reaksiyon şeması.....	8
Şekil 2.2	MnP katalitik reaksiyon şeması.....	9
Şekil 2.3	Lakkaz oksidasyon mekanizması.....	10
Şekil 3.1	İmmobilizasyon teknikleri.....	13
Şekil 5.1	Simazinin yapı formülü.....	29
Şekil 6.1	Serbest formdaki <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümü sırasındaki lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi	35
Şekil 6.2	Serbest formdaki <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümü sırasındaki MnP enzim aktivitelerinin değişimi	36
Şekil 6.3	PAAm/kaolin kompozit SEM görüntüleri:SEM 1 (PAAm/kaolin 1), SEM 2 (PAAm/kaolin 2), SEM 3 (PAAm/kaolin 3), SEM 4 (PAAm/kaolin 4),SEM 5 (PAAm/kaolin 5), SEM 6 (PAAm/kaolin 6).....	37
Şekil 6.4	PAAm/kaolin kompozit 1 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi.....	38
Şekil 6.5	PAAm/kaolin kompozit 1 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi	39
Şekil 6.6	PAAm/kaolin kompozit 2 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi	40
Şekil 6.7	PAAm/kaolin kompozit 2 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitesi değişimi.....	41
Şekil 6.8	PAAm/kaolin kompozit 3 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi.....	41
Şekil 6.9	PAAm/kaolin kompozit 3 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi	42
Şekil 6.10	PAAm/kaolin kompozit 4 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi.....	43
Şekil 6.11	PAAm/kaolin kompozit 4 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi	43
Şekil 6.12	PAAm/kaolin kompozit 5 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi.....	44
Şekil 6.13	PAAm/kaolin kompozit 5 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin	

	biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi.....	45
Şekil 6.14	PAAm/kaolin kompozit 6' e malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi	46
Şekil 6.15	PAAm/kaolin kompozit 6 malzemesine immobilize edilen <i>C. plicatilis</i> fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi.....	46
Şekil 6.16	Simazin, MeOH ve serbest hücre, FT-IR spektrumları (1 mg L ⁻¹ , 0. ve 9. gün).....	47
Şekil 6.17	PAAm/kaolin kompozit (1-2) malzemesine immobilize <i>C. plicatilis</i> fungus hücreleri ile simazinin biyodönüşüm sonrası FT-IR spektrumları (1 mg L ⁻¹ , 0. ve 9. gün)	48
Şekil 6.18	PAAm/kaolin kompozit (3-4) malzemesine immobilize <i>C. plicatilis</i> fungus hücreleri ile simazinin biyodönüşüm sonrası FT-IR spektrumları (1 mg L ⁻¹ , 0. ve 9. gün).....	49
Şekil 6.19	PAAm/kaolin kompozit (5-6) malzemesine immobilize <i>C. plicatilis</i> fungus hücreleri ile simazinin biyodönüşüm sonrası FT-IR spektrumları (1 mg L ⁻¹ , 0. ve 9. gün).....	50

RESİM LİSTESİ

Resim 2.1	<i>Coprinus plicatilis</i> resmi.....	6
Resim 2.2	Beyaz çürükçül mantar <i>Trametes versicolor</i> ' dan elde edilen lakkaz enziminin üç boyutlu yapısı.....	10

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1 Organik kirleticiler ve beyaz çürükçül mantarlar tarafından parçalanmış bileşikler.....	5
Tablo 2.2 Lignin biyobozunmasında beyaz çürükçül mantarlar tarafından üretilen lignoselülolitik enzimlerin grupları ve etkileri.....	6
Tablo 3.1 İmmobilizasyonda kullanılan taşıyıcı destek materyalleri.....	12
Tablo 4.1 Pestisit türleri ve kullanım alanları.....	20
Tablo 5.1 Kullanılan kimyasallar ve temin edilen firmalar.....	29
Tablo 5.2 Deneyde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları.....	30
Tablo 5.3 Deneysel çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları....	30
Tablo 5.4 Enzim üretim ortamı.....	31
Tablo 5.5 Sentezlenen kompozitte kullanılan maddeler ve miktarları.....	33
Tablo 6.1 Serbest hücre ve PAAM/kaolin kompozit (1, 2, 3, 4, 5, 6) malzemesine immobilize <i>C. plicatilis</i> fungus hücreleri ile simazinin biyodönüşüm sonrası yüzde geçirgenlik (2988 cm^{-1} , 1 mg L^{-1} , 0. ve 9. gün) ve biyodönüşüm verileri.....	51

KISALTMALAR LİSTESİ

LiP	: Lignin proksidaz
MnP	: Manganez proksidaz
PAH	: Poliaromatik hidrokarbonlar
PhAC	: Farmasötik olarak aktif kimyasallar
TNT	: 2,4,6-trinitrotoluen
CCl₄	: Karbon tetraklorür
IAA	: İndol asetik asit
PVA	: Polivinil Alkol
PCB	: Poliklorlu bifeniller
EDC	: Endokrin bozucu kimyasallar
VEA	: Veratril alkol
UV	: Morötesi
% T	: Yüzde geçirgenlik (IR spektrumunda)
ABTS	: 2,2'-azinobis-(3)-etilbenzotiazolin-6-sülfat
FT-IR	: Fourier dönüşümü kızılötesi (Fourier-transform infrared)
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskop (Scanning Electron Microscope)
PAAm	: Poliakrilamit
µm	: Mikro metre
ppm	: Milyonda parça (parts per million)
nm	: Nanometre
w/v	: Hacimsel ağırlık
WRF (White Rot Fungi)	: Beyaz Çürükçül Mantar

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tez çalışmamda destek ve katkı sağlayan danışmanım Doç. Dr. Aslıhan Arslan Kartal'a teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmalarımda bana yardımcı olan Doç. Dr. Hatice Ardağ Akdoğan hocama, laboratuvarında çalışma arkadaşlarım Aidai Duishemambet Kyzy, Kassım Mayanja ve Buğra Dayı'ya teşekkür ederim. Ayrıca kimya bölümünde çalışmalarına destek veren tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Toprakların, akarsuların ve havanın toksik kimyasallarla kirlenmesi dünyanın karşılaştığı en önemli çevresel sorunlardan biridir. Yoğun sanayileşme, çeşitli alanlarda kullanılan kimyasallar, tarımda kullanılan tarım ilaçları çevresel kirliliğe neden olmaktadır. Toprağa ve sulara karışan toksik kimyasallar tarımsal üretimlerde yetiştirilen mahsüllerde birikmesine neden olmak ve aynı zamanda doğal ortama zarar vererek olumsuz olarak etkilemektedir. Bu kimyasalların sadece %10'u güvenli bir şekilde bertaraf edilebilmektedir. Kirliliğe neden olan kaynaklar ve kimyasallar; endüstriyel atık sulardan oluşan fenoller, plastikler, hidrokarbonlar, boyalar, farmasötikler, endokrin bozucular ve pestisitlerdir (Ellouze ve Sayadi 2016). Dünyada 2500'den fazla pestisit türü kullanılmakta olup bunların 150'den fazla çeşidini herbisitler oluşturmaktadır. Gelişmiş ülkelerde kullanılan pestisitlerin %45'i herbisitler, %35'i böcek öldürücüler ve %15'i mantar ilaçlarıdır (Singh 2006). Pestisitlerin oluşturduğu kirlilik kaynakları; pestisit üretim tesisleri, sebze yıkama tesisleri, tarımda aşırı kullanılan pestisitler, ilaçlama ekipmanlarından ve ekipmanların yıkanması sırasında oluşan kirliliklerdir (Hai ve diğ. 2012). Pestisitler, toksik kanserojen, mutajenik ve teratojenik potansiyellerin yanı sıra, çevresel kalıcılık (Cupul ve diğ. 2014) ve hareketlilik (toprak, su ve hava) yoluyla dağılmakta büyük bir kısmı hiçbir zaman hedef organizmalara ulaşmamaktadır (Morillo ve Villaverde 2017). Bunların küçük bir kısmının hedef zararlılara ulaştığı, geri kalanının çevreye yayıldığı tahmin edilmektedir (Morgante ve diğ. 2012). Doğal ortama yayılan pestisitler, balık ve su organizmaları, kuşlar, insanlar ve memeliler için toksiktirler. Besin zincirindeki beslenme basamakları trofik düzeyler olarak adlandırılır. Toprağa karışan herbisitler, birinci trofik düzey basamağı bitkiler (ana üreticiler) tarafından alınarak ikinci trofik düzey herbivorlar (birincil tüketiciler), sonra üçüncül trofik düzey etoburlar (ikincil tüketiciler) aldığı besinlerle bünyelerine geçerek canlılarda biyobirikime neden olur. Herbisitlerin trofik zincir basamaklarına transferi, herbisitlerin tipine, pH, sıcaklık, topraktaki nem, organik içeriğe, hayvanların türüne ve büyüme aşamalarına bağlıdır. Bu nedenle pestisitlerin biyobirikimin trofik piramidin tepesindeki organizmalar için tehlikeli olduğu düşünülmektedir. Bu trofik zincirdeki biyolojik birikim, kanser riskinin artmasına ve endokrin sistemi bozukluklarına neden olmaktadır (Baranowska

ve diğ. 2008). Çevre ve canlılara etkileri göz önüne alındığında, kirletici bileşikleri sulardan gidermek önem arz etmektedir. Sulardaki bu kirliliği gidermek için birçok yöntem uygulanmıştır. Bunlar; fotokatalitik bozunma, flokülasyon, pıhtılaşma, ozonlama ve fenton oksidasyonu gibi fiziksel veya kimyasal yöntemleri kullanarak yapılan giderimlerde atık sulardaki organik kirleticilerin parçalanması zaman alıcı, maliyetli ve aynı zamanda büyük ölçüde etkisizdir. Flokülasyon, pıhtılaşma ve ozonlama ile giderimde, atık sulardaki aromatik bileşiklerin tamamen giderilememektedir. Bu yöntemlerden fenton oksidasyonu yönteminde, organik kirletici maddelerin transformasyonunda etkili ancak maliyetli ve atık su arıtımında katalizör eklenmesi gerektiğinden ikincil kirliliğe neden olmaktadır (Zeng ve diğ. 2017). Bu sebeplerden dolayı kirleticilerde tam mineralizasyon gerçekleştirilmesi, çevre dostu ve düşük maliyetli olmalarından dolayı biyolojik giderim alanında araştırmalara yoğun ilgi artmıştır. Biyolojik giderimlerde genellikle mikroorganizmalar; mantar, alg ve bakteriler kullanılmakta, bunlar arasında özellikle beyaz çürük mantarların spesifik olmayan hücre dışı oksidatif (lakkazlar, lignin peroksidazlar, mangan peroksidazlar) (Arikan ve diğ. 2019) enzimlerinden dolayı etkili olduğu kabul edilmektedir (Mir-Tutusaş ve diğ. 2018). Bu enzimler endokrin bozucu kimyasallar (EDC'ler), farmasötik olarak aktif kimyasal maddeler (PhAC'ler), pestisitler (Ji ve diğ. 2017), polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), klorlu fenoller, poliklorlu bifeniller (PCB'ler), dioksinler, organofosfor bileşikleri, nitrotoluenler, kloroanilin, boyar maddeler ve diğer kirletici bileşikler dahil olmak üzere çeşitli ksenobiyotik bileşikler dönüşürebilmektedir (Torres-Duarte ve diğ. 2009).

Bununla birlikte, biyolojik giderimde beyaz çürükçül mantarların serbest formları kullanıldığında endüstri atıksu arıtımında düşük pH değerlerinin gerekliliği, hücrelerin uzun sürede büyüme fazı, giderimin olabilmesi için uzun hidrolik tutma süresi ve büyük reaktör boyutu gibi bazı sınırlamalara sahiptir. Kirletici bileşiklerin biyogideriminde bu sınırlamaların üstesinden gelmek için, kolay uygulama, yeniden kullanılabilirlik ve ekonomik avantajları nedeniyle mantarın immobilizasyonu son yıllarda kullanılmaktadır (Arikan ve diğ. 2019). Fungal biyokütlenin pellet formlarının farklı desteklere immobilizasyonu, fungal hücreleri toksik maddelerin yüksek konsantrasyonlardaki etkilerden koruyarak daha fazla enzimin salgılanmasını ve yüksek verim elde edilmesini sağlar. Immobilizasyonla mikroorganizmaya geniş bir yüzey alanı sağlayarak fungal biyoküttele artışla birlikte kütle transfer sınırlamalarını

azaltır ve kirleticiye kolay erişimi sağlar. Ayrıca immobilizasyonla sistemin tekrar tekrar kullanılmasına ve sıvı-katı ortamların ayrılmasını kolaylaştırmasıyla tıkanma durumlarını ortadan kaldırmaktadır (Przystas ve diğ. 2018). Böylelikle çalışmaların kesintisiz devam etmesini ve işletme maliyetlerini düşürerek endüstriyel uygulamalarda kolaylık sağlanmaktadır (Naghdi ve diğ. 2018).

Bu çalışmada, bir herbisit olan simazinin beyaz çürükçül fungus olan *Coprinus plicatilis* kullanılarak, biyolojik dönüşümü araştırılmıştır. Önce organizmanın serbest formuyla, sonra 6 farklı oranlarda hazırlanmış PAAm/kaolin kompozitlere immobilize formu ile biyodönüşümü ve seçilen ligninolitik enzimlerin değişimi değerlendirilmiştir. Kompozit malzemelerine immobilizasyon işleminin olup olmadığını tespit etmek için taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü alınmıştır. Serbest ve immobilize hücrelerde simazin dönüşümünü takip etmek için spektrum taraması, FT-IR analizleri ve lakkaz, MnP enzim aktivitelerinin rolleri araştırılmıştır.

2. FUNGUSLAR

2.1 Beyaz çürükçül mantarlar

Basidiomycetes grubu olan beyaz çürükçül mantarlar, hücre dışı enzimlerle lignin bozunmasından sonra beyaz renkli selülozik ve hemiselülozik odun kalıntıları oluşturmasından dolayı beyaz çürükçül mantarlar olarak adlandırılırlar. Yapılan birçok çalışmalar, beyaz çürükçül mantarların metabolik enerjisinin bir kısmını, çeşitli hücre dışı lignoselüloolitik enzimler üreterek lignini ve bitki bileşenlerini parçalayarak elde ettiğini göstermiştir (Voberkov ve diğ. 2018). Beyaz çürükçül mantarlar tarafından üretilen ligninolitik enzimler; lakkaz, mangan peroksidazlar ve lignin peroksidazlardır. Mantarlardan salgılanan ligninolitik enzimler mantar türleri arasında bir mantar türünden diğerine değişgenlik gösterebilmektedir. Mantarların bazı türlerinde enzimlerin salgılanma profili bile değişgenlik göstermektedir. Ayrıca, besin bileşimi örneğin; karbon, azot ve büyüme ortamının koşulları, sıcaklık ve pH miktarları enzimlerin salgılanmasını etkileyebilmektedir. Beyaz çürükçül mantarlarda üretilen ligninolitik enzimler, bakteriyel bozulmaya dirençli olan çok çeşitli organik bileşikleri etkili bir şekilde giderebilmektedir (Naghdi ve diğ. 2018). Bunlar endokrin bozucu kimyasallar (EDCs), farmasötik olarak aktif kimyasallar (PhACs), pestisitler (Ji ve diğ. 2017), poliaromatik hidrokarbonlar (PAH), poliklorlu bifeniller (PCB), boyalar, 2,4,6-trinitrotoluen (TNT), karbon tetraklorür (CCl₄) ve pentaklorofenol (PCP) gibi diğer toksik kimyasallardır (Gao ve diğ. 2010; Ellouze ve Sayadi, 2016).

Beyaz çürükçül mantarlarda giderimde etkili olan enzimlerin bu özellikleri; üretilen enzimlerinin spesifik olmaması, çok çeşitli mikro kirleticilerin ayrışmasını sağlaması, suda düşük çözünürlüğe sahip bileşikleri parçalamak için enzimlerin üretimi ve salgılanmasını gerçekleştirmesi, 3-9'luk geniş bir pH aralığında bileşikleri bozabilmesi (Naghdi ve diğ. 2018). Mantarlar kirlilik oluşturan ortamlarda giderimi gerçekleştirirken besin olarak ucuz ve kolay eklenebilen tarımsal ürünleri kullanırlardır. Ayrıca toprakta filamentleriyle hıphal büyüyerek yayılması kirleticilere bakterilerin ulaşamayacağı şekilde ulaşabilmesini sağlamaktadır (Gianfreda ve Rao 2004).

Tablo 2.1’ de çürükçül mantar tarafından ligninolitik enzimlerin üretimiyle birçok farklı toksik maddeleri bozduğu gösterilmektedir.

Tablo 2.1 Organik kirleticiler ve beyaz çürükçül mantarlar tarafından parçalanmış bileşikler

Organik Kirleticiler	Parçalanmış Organik Bileşikler
Cephane artıkları	2,4,6-Trinitrotoluen, nitro-gliserin ve PCB'ler (1-6 Cl)
Pestisitler	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar, klorlanmış sentetik polimerler, organofosfat insektisitler ve poliklorlu bifeniller
Sentetik boyar maddeler	Antrakinon ve azo, trifenilmetan, heterosiklik ve polimerik boyar maddeler
Sentetik polimerler	Polistiren sülfonat ve naylon-6
Ahşap koruyucular	Kreozot, pentaklorofenol, tetrabromobisfenol A, 4-nitrofenol, fenol ve bisfenol A
Diğer bileşikler	Benzen, toluen, etilbenzen ve ksilenler

Beyaz çürükçül mantarlar tarafından üretilen selülazlar, selülozun glikoz alt birimlerine bölünmesini sağlamaktadır. Lignoselülolitik enzimler, Tablo 2.2’de gösterilen üç gruba ayrılmakta, ilk grup lignine doğrudan etkileyerek bitki hücre duvarlarında lignin, selüloz ve hemiselülozu ayrıştırır. Bu lignoselülolitik enzimler, selülaz, hemiselülaz ve ligninazdır. İkinci grup, lignini tek başına parçalayamaz ve ilk gruptaki enzimlerle birlikte çalışır. Bu enzimler; süperoksit dismutaz ve glikoksal oksidaz içerir. Üçüncü enzim grubu ise biyolojik bozulma sırasında metabolik zincirleri birleştirmede rol alır (Voberkov ve diğ. 2018).

2.1.1 *Coprinus plicatilis* Mantarı

Beyaz çürükçül mantar olan *Coprinus plicatilis* (Resim 2.1), Coprinaceae familyasına ait bir mantar türüdür. Avrupa genelinde ve diğer kıtalarda oldukça yaygındır. *Coprinus plicatilis*, ilkbahar ve sonbahar ayları arasındaki dönemde çayırda küçük gruplar halinde bulunur. 2-4 cm çapında bir silindirik-ovoidal dışbükey ve merkeze doğru düzleşmiş bir şapkaya sahiptir. Lameller ince, yumuşak, pembe renklidir daha sonra pembeden gri tonlarına ve en son olarak siyah renge

dönüşürler. Kök kısmı soluk beyaz, ipeksi parlaktır, ince ve soğanlı bir tabanı vardır. Mikroskopla bakıldığında, siyah renkli, 11-12x8-9 µm büyüklüğünde eliptik veya badem sporları vardır. *Coprinus plicatilis*'in ve ayrıca *Coprinus comatus*'un şapkası Çinde dayanıklı bir tür mürekkep hazırlamak için kullanılmıştır. Bu nedenle, bu mantarlara mürekkep başlığı yani mürekkep şapkası adı da verilmektedir.



Resim 2.1 *Coprinus plicatilis* fotoğrafı

Tablo 2.2 Lignin biyobozunmasında beyaz çürükçül mantarlar tarafından üretilen lignoselülitik enzimlerin grupları ve etkileri (Voberkov ve diğ. 2018).

Lignoselülitik enzim grupları	Lignoselülitik enzimlerin örnekleri	Lignine etkisi
Selülaular, hemiselülaular ligninazlar	Endo-1,4-β-glukanlar, Ekzo-1,4-β-glukanlar (sellobiyohidrolazlar ve glukohidrolazlar), β-glukozidazlar, Endo-1,4-β-ksilanazlar, β-glukozidazlar, α-glukuronidazlar, α-L arabinofuranosidazlar, asetil esterazlar, endo-1,4-β-mannanazlar, β-mannosidazlar, α-galaktosidazlar, α-galaktosidazlar, MnP, ligninperoksidazlar, lakkazlar,	Doğrudan etkileşir
Superoksit dismutaz, glioksaloksidaz, glukoz1-oksidaz, Arilalkoloksidazlar, Piranoz 2-oksidaz, sellobiaz	Kinon, oksidoredüktazlar, sellobiyoz dehidrojenazlar	Selülaularla işbirliği yapar biyobozunma sonrasında metabolik zincirleri birleştirir

2.2 Ligninolitik Enzimler

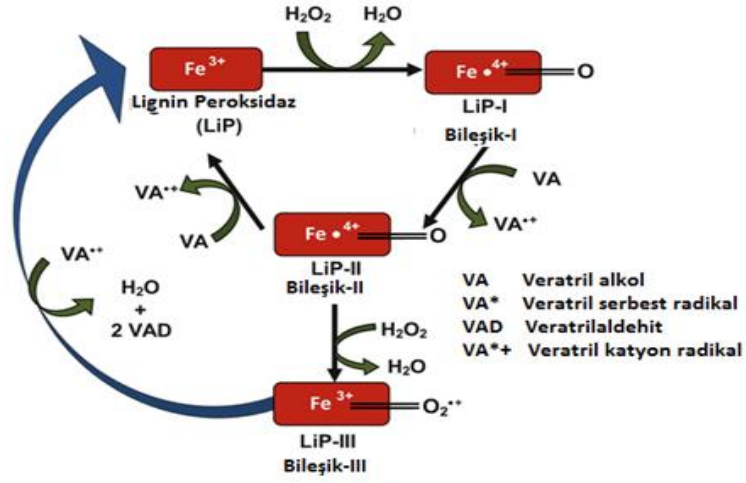
2.2.1 Peroksidaz Sistemi

Lignin bozunma sistemi (peroksidazlar, H₂O₂ üreten enzimler, veratril alkol, oksalat ve manganezden) oluşur. Bu enzimlerin tümü, hidrojen peroksidin oksidasyonu ile oluşan serbest radikallerle çeşitli substratları oksidasyonunu gerçekleştirerek oksijenin suya indirgenmesini sağlayan glikosile edilmiş heme proteinleridir. Lignin Peroksidaz (LiP) ve Mangan Peroksidaz (MnP) enzimlerinin redoks potansiyelleri diğer peroksidazlardan daha yüksektir. Bu enzimlerdeki yüksek redoks potansiyellerinden dolayı diğer mikroorganizmalar tarafından oksitlenmeleri zor olan kimyasal maddeleri daha kolay oksitleyebilmektedirler (Ellouze ve Sayadi, 2016).

2.2.1.1 Lignin Peroksidaz (E.C.1.11.1.14)

LiP ilk olarak 1983 yılında *Phanerochaete chrysosporium*'da tarif edilmiştir (Manavalan ve diğ. 2015; Ellouze ve Sayadi 2016). LiP moleküler kütlesi 30-50 kDa, optimum sıcaklık 35-55°C, pH 2-5 aralığında değişkenlik gösterebilmektedir (Manavalan ve diğ. 2015). LiP'lar H₂O₂ varlığında oksidasyon gerçekleştirerek lignin depolimerizasyonunu katalize eder (Naghdi ve diğ. 2018). Ligninin oksidasyonu ile bağ yarımları, aromatik halka açıklığı ve birçok reaksiyonu katalize eder (Datta ve diğ. 2017; Naghdi ve diğ. 2018). LiP katalitik döngüsü üç aşamada oluşmaktadır. (Şekil 2.1)'de LiP H₂O₂ varlığında 2 elektron ile ferrik enzimi oksitleyerek ara bileşik oluşturur bu ara bileşik bir aromatik substratı oksitlemesiyle ikinci ara bileşik oluşur oluşan bu ara ürünün tekrar bir aromatik substratı oksitleyerek enzim temel haline tekrar döner (Datta ve diğ. 2017). LiP bu oksidasyonunda beyaz çürükçül mantarlar tarafından üretilen veratril alkol (VEA) substratların oksidasyonunu kolaylaştırmak için bir aracı olarak görev yapar. Veratril alkolü (VEA) düşük mobilitesi ve enzim aktif bölgelerinin kolayca erişilebilmesiyle hedef bileşiklerin oksidasyonunda, düşük

moleküler ağırlıklı redoks mediatörü olarak katılımı önemli bir rol oynar (Naghdi ve diğ. 2018).



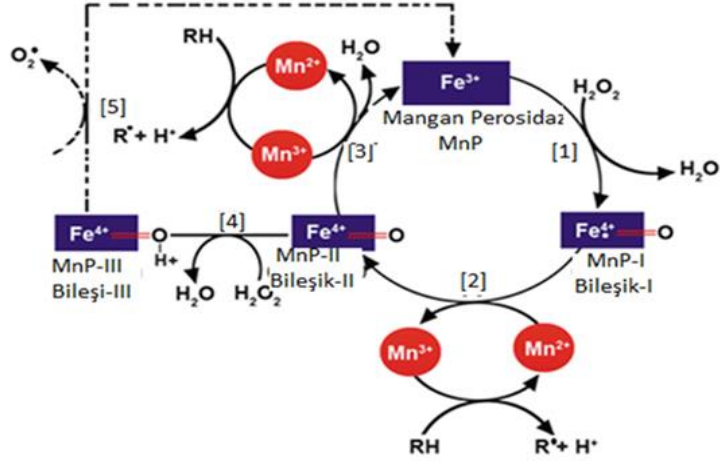
Şekil 2.1 LiP katalitik reaksiyon şeması

LiP'ların bu oksidasyon özellikleri endüstride ve çevresel kirliliklere neden olan kimyasalların giderimlerinde kullanılmaktadır. Endüstride kullanımları; kâğıt ve polimer endüstrisinde, biyolojik ağartma biyoyakıt üretimidir (Shaheen ve diğ. 2017). Çevresel Kirleticilerde kullanımları; polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH'lar), klorlu fenoller, poliklorlu bifeniller (PCB'ler), dioksinler, organofosfor bileşikleri, nitrotoluenler, kloroanilin, boyar maddelerdir (Torres-Duarte ve diğ. 2009).

2.2.1.2 Mangan Peroksidaz (EC 1.11.1.13)

Mangan peroksidazlar (MnP; EC 1.11.1.13), Basidiomycetes grubundan olan beyaz çürükçül mantarlar tarafından üretilir. Mangan peroksidaz, molekül ağırlığı 40-50 kDa olan çoklu formlarda bulunan glikosile bir hema proteindir (Voberkov ve diğ. 2018). Mangan peroksidaz, hem fenolik hem de fenolik olmayan lignini ve ayrıca hidrojen peroksit kullanarak Mn^{2+} ile Mn^{3+} iyonlarını okside etmektedir (Bilal ve diğ. 2016). MnP'lerin katalitik mekanizması, LiP'a benzer tek farkı substrat görevi gören Mn (II)'nin oluşudur. MnP katalitik reaksiyonunda, Mn (II) Mn (III)'e dönüştürülür. bu dönüşümde fenolik halkaların ve substratın ayrışmasına neden olan fenoksil radikallerini oksitler. Bu reaksiyonun oluşumunda Mn (II)'nin, iki dentatlı organik asit şelatlayıcıları ile şelatlanması gerekir. Şelatlanan Mn (III) kompleksi bir redoks mediatörü olarak bir yük transfer aracısı olarak görev yapar (Manavalan ve diğ 2015).

Oksidasyon basamakları Şekil 2.2’de gösterilmiştir. MnP oksidasyon kabiliyetinden dolayı birçok alanlarda; kağıt endüstrisinde katalizör olarak, atık su arıtımında, tekstil atıkları, toksik, kanserojen olan sentetik boyar madde artıkları da dahil olmak üzere çeşitli çevre kirleticilerin giderilmesinde kullanılmaktadır (Bilal ve diğ. 2016).

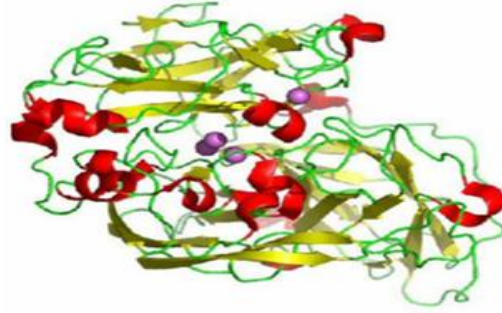


Şekil 2.2 MnP Katalitik reaksiyon şeması

2.2.2 Lakkazlar (EC 1.10.3.2)

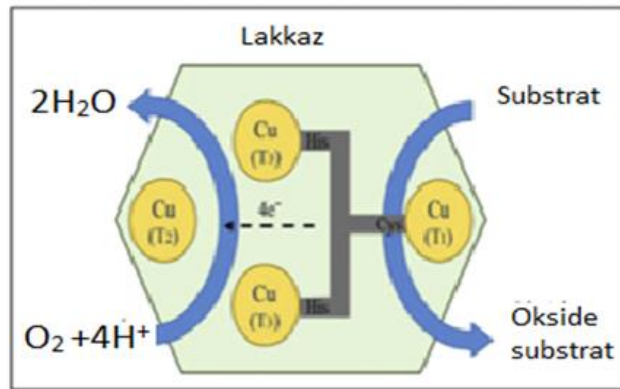
Lakkazlar bilinen en eski enzimlerden biridir ve ilk olarak 1883'te Yoshida tarafından Japon lak ağacı *Rhus vernicifera*'nın eksudalarında keşfedilmiş ve daha sonra Fransız ünlü biyokimyacı Gabriel Bertrand tarafından çalışılmıştır (Hautphenne ve diğ. 2016). Lakkaz (benzenediol: oksijen oksidoredüktaz, (EC 1.10.3.2) reaksiyon merkezinde zengin bağlayıcı dört histidin bulunan multicopper oksidazın a tipi (Ma ve diğ. 2018), bitkilerde, mantarlarda, böceklerde ve bakterilerde bulunmaktadır (Zheng ve diğ. 2017; Ma ve diğ. 2018; Voberkov ve diğ. 2018). Yapılan araştırmalarda lakkazların en fazla mantarlarda üretildiği ve birçok mantar türünde bulunduğunu yüksek yapılı bitkilerde ise az bulunduğu tespit edilmiştir (Mayer ve Staples 2002). Lakkazlar çoğunlukla monomer veya homodimerler olarak bulunan hücre dışı glikoproteinlerdir (Hautphenne ve diğ. 2016). Lakkazın moleküler kütlesi 58-90 kDa, optimum sıcaklığı 40-65 °C ve pH'ı 2-10 aralığındadır. Mantar lakkazlarının redoks potansiyelleri 450-480 mV ila 760-790 mV arasında değişmektedir. Bu nedenle düşük redoks potansiyeline sahip bitki lakkazlarından daha etkilidir. Oksidoredüktaz enzimleri arasında lakkazlar, ortak bir substrat olarak sadece gaz halinde oksijeni kullanarak oksidasyonu gerçekleştirmesinden dolayı yüksek verimliliğiyle birçok alanda kullanılmaktadır (Asgher ve diğ. 2017; Naghdi ve diğ. 2018). Beyaz çürükçül

mantar *Trametes versicolor*' dan elde edilen lakkaz enziminin üç boyutlu yapısı Resim 2.2'de verilmiştir.



Resim 2.2 Beyaz çürükçül mantar *Trametes versicolor*' dan elde edilen lakkaz enziminin üç boyutlu yapısı

Şekil. 2.3'de gösterildiği gibi lakkaz enziminin, her monomerin katalitik merkezinde üç tip (T1,T2,T3) olan ve dört 4 bakır atomuna sahip enzimidir. Tip 1 atomu (T1), 610 nm dalga boyunda maksimum emilime sahiptir ve bu enzime tipik mavi rengini verir. T2 dalga boyunda emilim görünmez, T3'de dalga boyunda emilim vardır ancak en fazla 330 nm'dedir. T2 ve iki T3'de bakır elementi üçgen şeklinde dizilmiştir (Kadri ve diğ. 2017)). T2, T1 substratın oksidasyonunu katalize eder. Daha sonra, substrattan ayrılan elektron T1'den T2 ve T3 bakır bölgelerine transfer edilir ve burada oksijenin suya suya indirgenmesi gerçekleşir T1'deki oksidasyon, radikal oluşturan bir elektron reaksiyonudur. T2 ve T3 bölgelerinde azalma, iki su molekülü üreten dört elektronlu bir reaksiyondur (Kadri ve diğ. 2017; Naghdi ve diğ. 2018). Oluşan ilk serbest radikal oldukça dengesizdir ikinci bir enzimle katalizinde bir kinona dönüşebilir (Naghdi ve diğ. 2018).



Şekil 2.3 Lakkaz oksidasyon mekanizması (Naghdi ve diğ. 2018)

Lakkaz enzimi spesifik olmayan oksidasyon kapasitelerinin yüksek olmasından dolayı biyoteknolojide birçok alanda kullanıma sahiptir. Kullanım alanları; kağıt endüstrisindeki kağıt hamurların ağartılmasında, tekstilde boyaların renk giderimi ve renklendirilmesinde, biyoyakıt hücreleri, biyosensörler, bioremediasyon, çevre kirleticilerin detoksifikasyonu ve atık suyun kirliliklerinin giderilmesi gibi birçok biyoteknolojik uygulamalarda biyolojik katalizör olarak kullanılmaktadır (Zhuo ve diğ. 2017; Ma ve diğ. 2018). Ayrıca meyve sularında zamanla oluşan fenolikler ve bunların oksidasyon ürünleri tat ve renkte istenmeyen değişmelere neden olmaktadır, bunların iyileştirilmesinde ve gıda katkı maddesi olarak lakkaz kullanılmaktadır (Upadhyay ve diğ. 2016).

3. İMMOBİLİZASYON

İmmobilizasyon, mikrobiyal hücrelerin veya enzimlerinin hareketliliğini, canlılıklarını ve katalitik fonksiyonlarını aynı anda koruyacak şekilde farklı desteklere hapsedilmesi veya tutularak sınırlandırılması olarak tanımlanmaktadır (Kourkoutas ve diğ. 2004; Thantsha 2007; Dzionek ve diğ. 2016).

Bir matris içinde hareketsiz hale getirilen hücreler, pH, sıcaklık, organik çözücüler ve toksik bileşikler gibi çevresel etkilere karşı hücreleri korumakta (Thantsha 2007) ve biyoremediasyon işlemlerinin maliyetini önemli ölçüde düşürerek verimi arttırmaktadır. İmmobilize hücre sistemlerinin biyoremediasyonda uygulanması serbest mikroorganizmaların kullanımına kıyasla birçok avantajları vardır. Bu avantajlar; uzun süreli aktivite, biyokatalizörün reaktörde sürekli uygulanabilirliği, yüksek toksik bileşik derişimine karşı tolerans, geri kazanım sağlayarak tekrar kullanımı, mikrobiyal kontaminasyon riskini azaltması, destek materyali yüksek hücre yoğunluğunun koruyarak hücrelerin kaymaya karşı dirençli olmasını ve önemli ölçüde maliyetleri düşürerek verimin artmasını sağlamasıdır (Dzionek ve diğ. 2016; Rouf ve diğ. 2017). İmmobilizasyon işleminde kullanılacak destek materyallerin (Tablo 3.1) mikroorganizmalar gereksinimlerini göz önünde bulundurularak seçilmesi biyolojik iyileştirme işleminin başarısını etkileyen kilit bir adımdır (Dzionek ve diğ. 2016).

Tablo 3.1 İmmobilizasyonda Kullanılan Taşıyıcı Destek Materyalleri

Doğal polimerler	Sentetik Polimerler	Anorganik
Aljinat, Karragenan	Stiren esaslı polimer	Kil, Silikajel, Cam
Selüloz, Kollejen	Akrilamit esaslı polimer	Metaller, Metal oksitler
Jelatin, Albümin	Naylon	Bentonit, Ponza taşı
İpek, Nişasta	Vinil ve allil polimerler	Titanyumdioksit
Dekstrin	İyon değıştirici reçineler	
Agar ve Agaroz	Maleik anhidrit polimerleri	

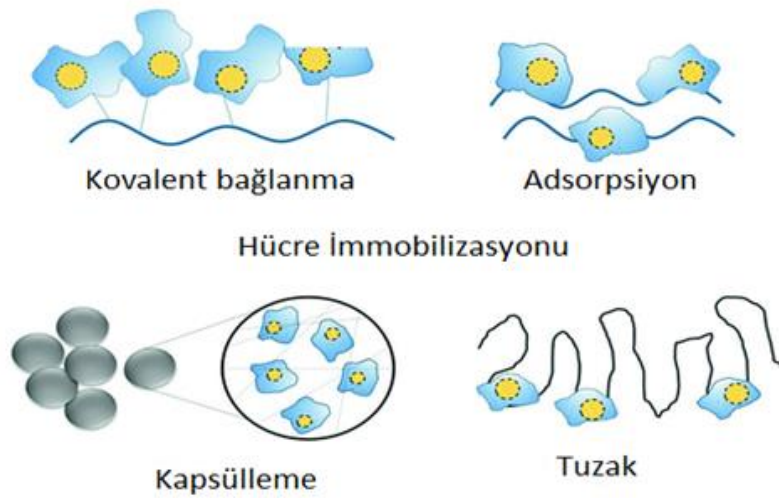
Uygulanacak immobilizasyon yöntemi uygunluğu, uygulama tipi, hareketsizleştirici matrisin fiziksel ve biyokimyasal özelliklerine göre aranan özellikler:

- Besin maddelerine kolayca erişim sağlaması,
- Basit ve hücre için toksik olmayan immobilizasyon olması,
- Hücreye yüksek oranda yüzey - hacim sağlaması,
- Yüksek miktarda hücre yükleme kapasitesi,
- Sterilize edilebilir ve tekrar kullanılabilir olması,
- Hücrelerin ve taşıyıcının ortamdaki kolayca ayrılmasını kolaylaştırması,
- Mekanik stabilite ve ekonomik olarak uygun olması olarak sıralanabilir (Willaert 2006; Abdelmajeed ve diğ. 2012).

Çok çeşitli immobilizasyon teknikleri vardır bunlar hücreye veya enzime göre değişmekte ve her geçen gün yeni immobilizasyon teknikleri geliştirilmektedir. Burada çok kullanılan tekniklere değinilecektir.

3.1 İmmobilizasyon Yöntemleri

Dört temel kullanılan immobilizasyon tekniği; 1) Adsorpsiyon 2)Yüzeye bağlanma 3) Gözenekli matrikste tutulma 4) Kapsülleme vardır (Dzionek ve diğ. 2016). Şekil 3.1’de İmmobilizasyon teknikleri gösterilmektedir



Şekil 3.1 İmmobilizasyon teknikleri

3.1.1 Adsorpsiyon

Adsorpsiyonla immobilizasyon hücrelerin ve enzimlerin suda çözünmeyen taşıyıcıların yüzeyine zayıf bağlarla fiziksel olarak tutulmasıyla gerçekleşir (Dzionek ve diğ. 2016). Adsorpsiyonda Van der Waals kuvvetleri, iyonik ve hidrofobik etkileşimler ve hidrojen bağları etkin olmaktadır. Bu immobilizasyon yöntemi kolay ve maliyeti düşük olsa da, desteğin yeniden yüklenmesine imkân verse de birçok dezavantajları vardır. Adsorpsiyonda destek ve biyokatalizör arasındaki zayıf bağlar nedeniyle hücrelerde sızmalar oluşabilmekte ve oluşan bu sızmaları kontrol etmek mümkün olmadığından tekrarlanabilirliği düşük olmaktadır. Çoğu durumda hücre verimliliği etkilenmese de, pH, sıcaklık, iyonik kuvvet gibi ortam koşullarındaki değişikliklere karşı çok hassastır (Górecka ve Jastrzębska 2011). Bu immobilizasyonda kullanılan katı taşıyıcılara örnek olarak selülozik malzemeler ahşap, talaş, karboksimetil-selüloz, nişasta, kolajen, modifiye edilmiş sefaroz, iyon değişim reçineleri, hidromika, gözenekli porselen, gözenekli cam, kil, alüminyum oksit, aktif kömür, titanyum vb. verilebilir (Kourkoutas ve diğ. 2004; Górecka ve Jastrzębska 2011).

3.1.2 Bir Yüzeye Bağlanma

Bir yüzeye bağlanma immobilizasyonunda katı taşıyıcıya bağlanma elektrostatik kuvvetlerle, fiziksel adsorpsiyon veya taşıyıcıyla hücre zarı arasında kovalent bağlanma ile gerçekleştirilir. Bağlanmada hücre filmin kalınlığı hücre tabakasında 1 mm veya daha fazla olabilmektedir. Ancak hücrelerin taşıyıcıya bağlanma gücü ve biyofilm derinliği kolayca belirlenemez. Bu tür immobilizasyonda DEAE-selüloz, ahşap, talaş, delinmiş talaş gibi selülozik malzemeler ve montmorilonit, hidromika, gözenekli porselen, gözenekli cam gibi inorganik malzemeler kullanılır (Kourkoutas ve diğ. 2004).

3.1.3 Gözenekli Matrikste Tutulma

Gözenekli matristeki tutulma, hücrelerin immobilizasyonu için en yaygın kullanılan (Thantsha 2007) hızlı, toksik olmayan, ucuz ve çok yönlü bir yöntemdir

(Dzionic ve diğ. 2016). Gözenekli matrikse immobilizasyon yönteminde önceden oluşturulan gözenekli matris içine hücreler tutulmasıyla oluşturulur (Willaert 2006). Gözenekli matrikste tutulmada mikrobiyal hücreler taşıyıcı matris içinde hücrelerin çevreye sızmasını önleyerek yaşamsal faaliyetlerini sürdüreceğ besin alınımı ve metabolitlerin transferine imkân verir (Kourkoutas ve diğ. 2004; Dzionic ve diğ. 2016). Bu yöntemin dezavantajı polisakarit jellerden yapılmış gözenekli bir matrikse hücrenin immobilizasyonunda boncuklarda yüzeye yakın bulunan hücrelerin çoğalarak boncuklardan taşmasıdır. Bu durum immobilize ve serbest hücrelerden oluşan bir sisteme yol açar (Kourkoutas ve diğ. 2004). Bu immobilizasyonda kullanılan matrisler; agar, aljinat, karragenan, selüloz ve türevleri, kollajen, jelatin, epoksi reçinesi, çapraz bağlanabilir reçineler, poliakrilamid, polyester, polistiren ve poliüretandır (Martins ve diğ. 2013).

3.1.4 Kapsülleme

Kapsülleme hücrelerin doğal veya sentetik polimer materyali içine hapsedilmesini içerir (Thantsha 2007). Kapsüllemede immobilize işlemlerinde hücreler aljinat, jelatin, agaroz, karragenan, kitosan vb. kullanılmaktadır. Kapsülleme tekniğı hücreleri çevresel şartlardan koruyarak canlılıklarını sürdürmesine ve besin kaynağına ulaşımını sağlayarak kirliliklerin gideriminde ortam sağlar (Singh 2006). Bu avantajlarının yanısıra kullanılan membranın sınırlı geçirgenliğı ve büyüyen hücrelerin zarar görme olasılığı nedeniyle, kapsülleme nadiren ex situ (hücrelerin kendi ortamının dışında) biyolojik giderimde kullanılmaktadır (Dzionic ve diğ. 2016).

3.2 Polimerler

3.2.1 Doğal Polimerler

Biyolojik iyileştirme işlemlerinde doğal polimerlerin kullanımı gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Aljinatlar, karregenalar, kolejen ve jelatin uygulama alanı bulan doğal polimerlerdir.

Alglerden elde edilen polisakaritlerin (aljinat, karragenan, agar, agaroz) ve kitin'den türetilmiş bir amino polisakarit olan kitosan doğal polimer türevleri birçok deneysel çalışmada kullanılmıştır (Martins ve diğ. 2013).

3.2.1.1 Aljinatlar

Aljinatlar kahverengi alglerden elde edilen mannuronik ve guluronik asitin farklı oranlarda ve dizilerden oluşan doğal polimerlerdir. Aljinatlar kullanımı kolay, bol miktarlarda bulunan, maliyeti düşük ve immobilize edilen mikroorganizmalar için toksik olmayan doğal polimerlerdir. Aljinatın avantajı, immobilize edilen hücrelerin immobilizasyon işlemlerinde fizikokimyasal etkilerden etkilenmemesi ve geçirgen olmasıdır (Martins ve diğ. 2013). Immobilizasyonda aljinat poliakrilamit jeller ve kalsiyum aljinat tanecikleri olarak kullanılmaktadır (Datta ve diğ. 2013).

3.2.1.2 Karregenalar

Karregenalar immobilizasyonu için κ -Karajenan jeli, özel uygulamaya göre farklı şekillerde (boncuk, küp, membran) olarak kolayca üretilmektedir. Karregenalardan boncuk oluşumu damlama tekniği ile gerçekleştirilebilir. Rezonans nozül tekniği daha küresel ve homojen bir şekle sahip boncuklar üretmek için kullanılmıştır (Willaert 2006).

3.2.1.3 Kolajenler

Kolajenler, tüm çok hücreli hayvanlarda bulunan oldukça karakteristik lifli proteinlerin bir ailesidir. Kolajen hidrofildir; su varlığında şişer, düşük pH'da çözünür ve yüksek pH değerlerinde çözünmez. Kollajen içinde hücre immobilizasyon mekanizması, hücreler ve kollajen arasında çoklu iyonik etkileşimler, hidrojen bağları ve Van der Waals kuvvetlerinin oluşumunu içerir (Willaert 2006).

3.2.1.4 Jelatin

Jelatin hayvanın kesiminde elde edilen kemik, deri ve bağ dokusundaki kollajen liflerinin kısmi hidrolizi ile üretilmektedir (Aykın ve Erbaş 2016). Jelatin, kollajene uygun sıcaklıklarda su veya asit çözeltisi karıştırılarak elde edilir (Górecka ve Jastrzębska 2011). Üç boyutlu jelatin yapısı, polipeptit zincirleri arasındaki ikincil etkileşimlerden oluşur. Bu etkileşimler ısıdıktan sonra bozular. Jelleşme, ısıtılan jelatin çözeltisinin 30-35°C'lik bir sıcaklığın altında soğutulmasıyla gerçekleştirilir. (Willaert 2006).

3.2.2 Sentetik Polimerler

Sentetik organik taşıyıcılar çeşitlendirilmiş karakterlere sahip çok sayıda fonksiyonel gruba sahiptir. Bu sınıf polipropilen, polivinil klorür, polistiren, poliüretan köpük, poliakrilonitril ve polivinil alkol içerir. Sentetik polimerler avantajları, uygun molekül ağırlığının seçimi, uzamsal yapı ve zincirdeki her bir aktif fonksiyonel grubun biçim ve sırasını düzenleme imkânı (Dzionic ve diğ. 2016), kolay üretimi ve istenen özelliklerde (jelin gözenekliliği, iyonik, hidrofobik veya hidrofilik) ayarlanabilmesi, mekanik dayanıklılığı ve uzun ömürlü olması gibi avantajlarından dolayı doğal polimerlerden üstün özelliklere sahiptir (Willaert 2006; Dzionic ve diğ. 2016). Ayrıca sentezlenen sentetik desteklerden borular, membranlar, kaplamalar, küreselden ovale çeşitli şekillerde taşıyıcılar oluşturulabilmekte ve çok kolayca temin edilebilmektedir (Dzionic ve diğ. 2016).

3.2.2.1 Poliakrilamid

Canlı mikrobiyal hücrelerin immobilizasyonunda kullanılan ilk sentetik jel poliakrilamittir. Poliakrilamidin polimerizasyonu, doğrusal poliakrilamid zincirlerinin reaktifin (N,N-metilen bisakrilamid) eklenmesiyle çapraz bağların oluştuğu serbest radikal tepkimesidir. Polimerizasyonla oluşan poliakrilamidin çapraz bağlanma derecesi akrilamid ve başlatıcı reaktifin kullanma oranlarına bağlıdır. Bu oranlar, jelin gözeneklilik yapısı ve kırılabilirliğini etkiler (Willaert 2006).

3.2.2.2 Metakrilat

Metakrilat jellerinin hazırlanması, poliakrilamid jellerinkine benzerdir. Metilakrilamid, hidroksietilmetakrilat veya metilmetakrilat gibi monomerlerin çapraz bağlama maddesiyle (örneğin; tetraetilenglikol dimetakrilat) gerçekleştirilen sentezle gözenekli bir jel oluşturulur. Ayrıca çapraz bağlama maddesi olarak poli etilen glikol dimetakrilat, akrilik asit ve N,N-dimetilaminoetil metakrilat kullanılmaktadır (Willaert 2006).

3.2.2.3 Polivinil alkol (PVA)

Polivinil alkol (PVA), immobilize işlemlerinde genellikle düşük maliyetli olması ayrıca canlı mikroorganizmalar için toksik olmaması gibi avantajları nedeniyle tercih edilir. PVA donarak jelatinleşir ve donma-çözülme tekrarlarında jel gücü artar. Bu donma-çözülme tekniğinde herhangi bir reaktif kullanmadan kauçuk benzeri elastik bir hidrojel elde edilebilmektedir. PVA İmmobilizasyon tekniğinde hücre canlılığının korunması zorlukları ile karşılaşmaktadır (Willaert 2006). Bu sorunlar; hücrelerin PVA'ya çapraz bağlanmasında kullanılan doymuş borik asit çözeltisinin asitliğinden dolayı hücre canlılığının korunmasında zorluklara neden olmasıdır. Ayrıca PVA oldukça yapışkan bir malzeme olduğundan dolayı PVA tanecikleri arasında birleşmeler oluşabilmekte buda akışkan yataklı reaktörlerde sorunlara neden olabilmektedir (Willaert 2006).

3.2.3 Katı Destek Malzemeleri

Polimerlerin inorganik desteklerle birlikte kullanılması yaygın bir yöntem haline gelmektedir (Salter ve Keli 1991). İnorganik desteklerin dayanıklılıklarından dolayı diğer destek malzemelere göre daha avantajlıdır. İnorganik destek malzemelerin çoğu sıcaklığa karşı dayanıklı, pH, kimyasallar, mikrobiyal bozunma ve aşınmaya karşı oldukça dirençlidirler (Abdelmajeed ve diğ. 2012). İnorganik destek malzemeleri; zeolit, kil, antrasit, gözenekli cam, aktif kömür ve seramiklerdir (Martins ve diğ. 2013).

3.3 Kaolin kili

Kaolin kilinin ana bileşeni kaolinittir. $Al_2Si_2O_5(OH)_4$ kimyasal bileşimine sahip 1: 1 iki katmanlı kil mineralidir. Si tetrahedral tabaka ve Al oktahedral tabakaların birleşimiyle oluşmuştur (Su ve diğ. 2017). Bu katmanlar, yaklaşık olarak $7,1^\circ$ A boşluk ve bu boşlukları hidrojen bağlarla bir arada tutan katmanlardan oluşur (Vanerek ve diğ. 2006). Kaolin kili, çimento, seramik, boya ve kâğıtta dolgu maddesi, kauçuk üretiminde kullanılmaktadır. Bunun yanı sıra, su bazlı boya ve mürekkeplerde genişletici olarak kullanılır (Lee ve diğ. 2010).

4. PESTİSİTLER

Pestisitler, tarımsal ürünlere zarar veren organizmaların ve hastalıkların zararlarından korumak için kullanılan kimyasal maddelerdir. Hedeflenen zararlılara yönelik uygulamalarda en çok kullanılan pestisitler; böcek öldürücüler, herbisitler ve mantar öldürücülerdir bunları sırasıyla, akarisitler, nematitler, yumuşakçalar ve kemirgen öldürücüler takip eder (Rani ve diğ. 2017). Tablo 4.1’de pestisit türleri ve kullanım alanları verilmektedir.

Tablo 4.1 Pestisit türleri ve kullanım alanları

Pestisit türü	Kullanım alanı
İnsektisit	Böcekleri öldürenler
Fungusit	Fungusları (mantarları) öldürenler
Herbisit	Yabancı otları öldürenler
Akarisit	Örümcekleri öldürenler
Bakterisit	Bakterileri öldürenler
Mollussisit	Salyangozları öldürenler
Algisit	Algleri öldürenler
Rodentisit	Kemirgenleri öldürenler
Nematosit	Nematodları öldürenler
Afisit	Yaprak bitlerini öldürenler

4.1 Herbisitler ve Sınıflandırılması

Herbisitler, tarımda mahsulle zarar ve rekabet edebilecek yabancı otları uzaklaştırmak için kullanılır. Kullanılacak herbisitinin etkili olması için yabancı ot türleri ve mahsul bitkileri arasında kendine özgü bir seçiciliği olması gerekir (Dean ve diğ. 1996).

4.1.1 Herbisitlerin Kimyasal Yapılarına Göre Sınıflandırılması

a) Organik herbisitler; Alifatikler, Amitler, Ariloksi fenoksi propiyonat, Benzoikler, Bipiridiyumlar, Karbamatlar, Sikloheksandion, Dinitroanilin, Dipenil Eterler, İmidazolinler (Varshney ve Sondhia 2008).

b) İnorganik herbisitler; AMS, Bakır sülfat, Borat (metal), Bakır-trietanolamin, Borat (sekizli), Heksaflurat, Boraks, Potasyum azid, Kalsiyum cynamide, Sodyum azid, Bakır şelat, Sodyum klorat, Bakır-etilendiamin, Sülfürik asit (Varshney ve Sondhia 2008).

4.1.2 Herbisitlerin Translokasyona Göre Sınıflandırılması

a) Sistemik

Bu herbisitler, bitki içerisinde vasküler sisteminden su, besin maddeleri absorpsiyon bölgesinden etki bölgelerine transloke edilir. Sistemik herbisitler, çok yıllık yabancı otlarda temas herbisitlerine göre hızlı ve etkilidir (Vats 2015).

b) Sistemik Olmayan

Bu herbisitler bitki bünyesinde taşınmaz uygulandığında temasta olan bitki dokusunun sadece bir kısmını öldürür. Düzgün püskürtme kapsamı ve partikül boyutu yeterli uygulama için çok önemlidir. Bunlar; bromoksinil ve bentazon, kontakt herbisitleridir (Vats 2015).

4.1.3 Herbisitlerin Kullanım Zamanına Göre Sınıflandırılması

a) Ekim öncesi: Ekimden önce toprağa mekanik olarak uygulanan seçici olmayan herbisitlerdir (Vats 2015).

b) Çıkıştan önce: Birleşme öncesi herbisitler, ürün ortaya çıkmadan önce toprağa uygulanarak istenmeyen yabancı ot tohumlarının çimlenmesini önler. Bu herbisitlere örnek olarak Dithopyr ve Pendimethalin verilebilir (Das ve Mondal 2014).

c) Çıkıştan sonra: Bu herbisitler, otların filizlenerek toprak yüzeyine çıktıktan sonra uygulanmaktadır. Bu herbisitler, seçici veya seçici olmayabilir, temas veya sistemik olabilirler. Herbisitlerin sıvı formülasyonları, granül formülasyonlardan daha etkilidir (Vats 2015).

4.1.4 Herbisitlerin Kullanım Yerine Göre Sınıflandırılması

a) Seçici Herbisitler

Tarımda seçici herbisitler tarımsal arazilerinde ekinlere zarar vermeden yabancı otların kontrolünde kullanılır (Hamid ve diğ. 2011). Herbisitlerin yabancı otlara uygulandığında seçiciliği, hücrel ve hücrel olmayan bölgelerin algılanarak hedef bölgeye bağlanmasına bağlıdır (De ve diğ. 2017).

b) Seçici Olmayan Herbisitler

Bu herbisitler, belirli bitki türlerine karşı etkili davranma ve temas ettikleri tüm bitki materyallerini öldürme konusunda spesifik değildir. Sanayi bölgelerini, atık alanlarını, demiryollarını ve demiryolu dolgularını temizlemek için kullanılırlar. Paraquat, glufosinat, glifosat seçici olmayan herbisitlerdir (Vats 2015).

4.1.5 Herbisitlerin Etki Mekanizmalarına Göre Sınıflandırılması

a) Amino Asit Sentezi İnhibitörleri

Bitkiler fonksiyonel işlevlerinde, depolama ve yapısal rollerde proteinleri kullanırlar. Bitkilerde tohumlarda proteinleri depolanması, gelişmekte olan fidelerin büyümesini esansiyel amino asitlerle sağlanmaktadır. Bitkilerde amino asit ve protein sentezi olmadığında büyümeleri için gerekli kimyasal reaksiyonları tamamlayamazlar. Amino asit sentezi inhibitörleri, bitki büyümesi ve gelişiminde sorumlu spesifik enzim üzerine etki ederek büyüme ve gelişmeyi durdurur (Varshney ve Sondhia 2008). Bu herbisitler toprağa doğrudan uygulanarak veya yapraklara uygulanarak kullanılabilirler. Uygulamadan sonra köklerden yapraklardan kolayca emilerek ksilemde ve floemde translokasyona uğrar. Glifosat herbisit bu grubunun bir örneğidir (Das ve Mondal 2014).

b) Büyüme Düzenleyici Herbisitler

Büyüme düzenleyici herbisitler uygulandığında, bitkilerin kök ve yapraklardan bitki bünyesine alınarak ksilemden ve floemden translokasyona uğrar. Bu herbisitler doğal büyüme hormonlarını taklit ederek bitkilerde doğal hormon dengesini bozarlar. Bunun sonucunda bitkilerde hücre çoğalması, protein sentezi, hücre bölünmesine etki eder (Das ve Mondal 2014). Bu herbisitler, bitkide yapraklara ve kök sistemine etki ederek köklerde şişme ve floemden bozulmalara neden olur (Varshney ve Sondhia 2008).

c) Lipid Biyosentezi İnhibitörleri

Bitkilerde çıkış sonrası kullanılan herbisitlerdir. Herbisitler uygulanmadan sonra bitkilerin yapraklardan emilir ve floemden meristematik bölgelere yer değiştirir. Lipitlerin ve yağ asitlerinin sentezini inhibe ederek meristematik aktiviteyi durdurur. (Das ve Mondal 2014). Eğer bitkide lipitler üretilmezse, hücre zarlarının üretimi devam edemez ve bitki gelişimi durur (Kappler ve Namuth 2004). Lipid sentezi inhibitörlerinin neden olduğu semptomlar, bitkilerin herbisit uygulamasından sonra birkaç gün boyunca sağlıklı görünmekte ancak bitkinin yeni çıkan yaprakların tabanında çürümeler oluşur ve bitki zamanla kahverengi, mor renk alarak ölür (Das ve Mondal 2014).

d) Pigment İnhibitörleri

Pigment inhibitörleri herbisitleri, yaprak dokusundaki yeşil pigmenti (klorofil) bozarak etki eder. Bu herbisitler genellikle "ağartıcı herbisitler" olarak tanımlanır, bunun nedeni klorofil moleküllerini koruyan karotenoid maddelerin üretimini engelleyerek bitkilere yeşil renk veren klorofilin parçalanmasıyla yaprakta renk kaybıyla yaprakların sarı veya beyaz renk görünümüne neden olur. Klorofil kaybıyla bitki fotosentez ve diğer hayatsal faaliyetleri sürdürmez ve ölümle sonuçlanır (Varshney ve Sondhia 2008).

e) Fotosentez İnhibitörleri

Ticari açıdan herbisitlerin yaklaşık yarısını bu herbisitler oluşturmaktadır. Fotosentezi doğrudan önleyen herbisitler, elektron taşınmasını engeller veya bloke

eder ve ATP ve NADPH₂ üretimini önler. Bu da bitki için gerekli besin üretimini engeller bu nedenle glikoz üretimi duran bitki hızlı bir şekilde ölür. Herbisit uygulamasından sonra bitkilerin yapraklarında yaralanma görünümlü (kloroz, kuruma) belirtiler oluşur (Varshney ve Sondhia 2008).

4.2 Simazinin Yapısı ve Çevreye Etkileri

Triazin herbisitler, tarımda yabancı otlarda, ormancılıkta ve boş arazilerde geniş yapraklı yıllık yabancı otların kontrolünde dünya çapında en çok kullanılanlardandır. S-triazin herbisitlerden olan Simazin (2-kloro-4,6-bis (etilamin) en yaygın olanıdır (Morgante ve diğ. 2012). Birleşme öncesi ve birleşme sonrası yabancı ot kontrolü için kullanılmaktadır (Döfler ve diğ. 1997). Simazin, kloroplastlardaki fotosentez kompleksi II'de elektron transferini önleyerek fotosentezin inhibisyonu yoluyla etki eder (Strandberg ve Fordsmand 2002; Dos Santos ve diğ. 2011).

Simazinin moleküler yapısı üç karbon ve azot atomu içeren aromatik karbon azot halkasına ek olarak, halkada bir klor ve iki etilamin grubu içermektedir (Catalkaya ve Kargi, 2009). Simazin, 5 mg / dm³ suda (oda sıcaklığında) orta derecede çözünür, termal olarak stabil, renksiz beyaz bir tozdur (Balawejder ve diğ. 2016). Ticari olarak, atrazin (2-kloro-4-etilamin-6-izopropilamin-triazin), Gesaprim, Aatrex veya Fenantrol olarak bulunurken simazin, Amizine, Gesatop 50 ve ayrıca Simazin olarak temin edilmektedir (Baranowska ve diğ. 2008)

Dünya genelinde atrazin herbisitler, yılda 70.000-90.000 ton arasında kullanılmaktadır (Huang ve diğ. 2017). İyi adsorpsiyon özelliklerinin nedeniyle toprağın üst katmanlarında kalır (Zhang ve diğ. 2004). Toprağa absorblanan triazinler yüzey ve yeraltı sularıyla taşınarak çevreye üzerinde dolaylı etkiye sahip olmaktadır (Kim ve diğ. 2002; Balawejder ve diğ. 2016). Bu etkiler doğrudan ya içme suyuyla veya dolaylı olarak tarımsal ürünlerin tüketimiyle maruz kalınabilir (Kim ve diğ. 2002). Bu şekilde simazinin etkilerine maruz kalındığında endokrin bozulmaları ve kanserojenik etkilerinden dolayı insanlar için bir tehdit oluşturmaktadır (Huang ve diğ. 2017).

4.3 Herbisitlerin Giderimi Literatür Bilgileri

Naghdi ve arkadaşları (2018), dünya genelinde en çok tespit edilen farmasötik bileşiklerden biri olan Karbamazepinin (CBZ), lakkaz enzim sistemiyle sulu ortamda biyodönüşümünü incelemiş, yan ürünler ve toksisite değerlendirmesi yapmışlardır. Lakkaz sistemi ile CBZ'nin başarılı bir şekilde dönüştürüldüğünü ve mikro kirleticilerin giderildiğini belirtmişlerdir.

Gouma ve arkadaşları (2019), *Phanerochaete chrysosporium*, *Pleurotus ostreatus*, *Pycnoporus coccineus*, *Phlebiopsis gigantea* ve *Trametes versicolor* olarak beş farklı beyaz çürükçül mantar türü ile çalışmışlardır. Hem pestisit hem de besleyici olarak zayıf ortamlara farklı derişimlerde karıştırılarak eklenen linuron, metribuzin ve klorpirifoların bu mantar türleri ile parçalanma kapasitesini değerlendirmişlerdir.

Pereira ve arkadaşları (2013), atrazinin maksimum giderimi için en uygun koşulların belirlemesi için kültür ortamına (X_1 – ZnSO₄, X_2 – FeSO₄, X_3 – MnSO₄, X_4 – MgSO₄, X_5 – CuSO₄, X_6 – glucose, X_7 – pepton, X_8 – yeast extract) farklı konsantrasyonlarda ekleyerek, yirmi farklı çalışma yapmış ortam bileşenlerine göre farklı sonuçlar elde etmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada DEA (desetilatrazin: 2-kloro-4-amino-6-izopropilamin-s-triazin), DIHA (desizopropilhidroksiatrazin: 2-hidroksi-4-etilamin-6-amino-s-triazin), DEDIA (desetildesisopropilatrazin: 2-kloro-4,6-aminos-triazin), HA (hidroksiatrazin: 2-hidroksi-4-etilamin-6-izopropilamin-s-triazin), DEHA (desetilhidroksiatrazin: 2-hidroksi-4-amino-6-izopropilamin-s-triazin) ve DIA (desizopropilatrazin: 2-kloro-4-etilamin-6-aminos-triazin) metabolitlerini de tespit etmişlerdir. Sonuç olarak 15 günlük inkübasyondan sonra atrazin bozulmasında %77 ila %95 oranlarında bozunma olduğunu bildirmişlerdir.

Bending ve arkadaşları (2002), 4 farklı mantarla (*C. versicolor*, *H. fasciculare*, *S. hirsutum*, *A. semiorbicularis*) atrazinin ve diuronun giderilmesi üzerine çalışma yapmışlardır. Atrazin ve diuronun gideriminde en yüksek verim *C. versicolor* ile %86.2 atrazin ve diuronunda tamamının giderimini gerçekleştirmiştir. *H. fasciculare*, *S. hirsutum* ve *A. semiorbicularis*, atrazin ve diuronda %70-80 giderim oranları elde etmişlerdir.

Aydemir ve Güler (2015), *Trametes versicolor*'dan lakkaz enzimini, manyetik kitosan-kil kompozit boncuklar üzerine immobilize ederek immobilize lakkazın fenol giderimini incelemişlerdir. Immobilize lakkaz ile Fenolün gideriminde %80 verim elde etmişlerdir.

Da Silva Coelho ve arkadaşları (2010), *G. lucidum*'un sıvı ve katı hal ortamlarda bentazon etkinliklerini incelemişlerdir. *G. lucidum*'un katı hal kültürlerinde bentazondan kalan miktarı %12, sıvı ortamda kalan bentazon miktarı % 47 olduğunu bulmuşlardır. Katı hal koşullarında daha fazla verim elde etmişlerdir.

Da Silva Coelho ve arkadaşları (2010), *Ganoderma lucidum* ile sıvı ve katı besi ortam koşullarında herbisit bentazonun giderimini karşılaştırmıştır. *Ganoderma lucidum*, bentazon gideriminde katı ortamda %90 oranında sıvı kültürlerde ise %55 oranında giderim olmuştur.

Levin ve arkadaşları (2016), beyaz çürükçül mantarı *Trametes versicolor* BAFC 2234'ün 4 nitrofenolü giderimini incelemişlerdir. *T. versicolor* BAFC 2234'ün 4-nitrofenol bileşiğinin %97'sini bozduğunu göstermişlerdir.

Yuechun ve arkadaşları (2010), beyaz çürükçül mantarlardan salgılanan lakkaz enzimiyle farklı topraklardaki DDT'nin biyobozunması incelemişlerdir. Lakkaz 25 günlük inkübasyonla normal toprakta %69, susuz toprakta %52, Çeltikli toprakta %62 oranında giderim elde etmişlerdir.

Jolivalt ve arkadaşları (2000), hidrofilik PVDF (Polivinilidenflorür) mikrofiltrasyon membranı üzerine lakkazı immobilize ederek, herbisit türevi; N0, N0-(dimetil)-N-(2-hidroksifenil) üre (2-HF) 'nin atık sudan giderimini araştırmışlardır. 5 dakikadan daha az sürede 200 ml 2-HF 0.1 g/L çözeltisinin dönüştürüldüğü göstermişlerdir.

Mendieta ve arkadaşları (2018), *Trametes versicolor* (L.Fr.) Pilát'ın Mo008 suşu ile farklı 2,4 diklorofenoksiasetik (2,4-D) ve atrazinin giderimini incelemişler. *T. versicolor* Mo008 suşu atrazin ve 2,4-D'nin 650 saatlik bir sürede tamamen giderildiğini belirtmişlerdir.

Elgueta ve arkadaşları (2016), %74 talaş, %6 nişasta, %2 mısır unu,%15 keten tohumu ve %3 lignosülfonat içeren malzemeler pelet haline getirilmiş destek (PS) içerisine beyaz çürüklük mantarları immobilize ederek bir biyoyataklı sistemlerde atrazin yıkımını incelemişlerdir. 60 gün sonra biyolojik yatak sistemindeki atrazin yıkımında immobilize hücrelerde (%93), serbest hücrede ise (%78) oranlarda olduğunu bildirmişlerdir.

Herrera ve arkadaşları (2019), atık sularda bulunan simazinin toprakta yayılmasını incelemişler. Çalışmalarında iki farklı miktarlarda 2 ve 20 mg kg⁻¹ simazini toprağa uygulayarak *Trametes versicolor* ile giderimi incelemiş ve simazinin her iki konsantrasyonda %80 giderim olduğunu bildirmişlerdir.

Fratila-Apachitei ve arkadaşları (1999), *P. chrysosporium* BKM-F-1767'nin sentetik sıvı besiyeri ve doğal yüzeylerde (ağaç yongaları) üzerinde inkübe ederek diuronun giderimini araştırmışlar. Yapılan çalışmada diuron, sıvı besiyeri maksimum %75 giderim, besin kaynağı olarak kereste yongalarında ise %95 verimle diuronu giderimini gerçekleştirmişlerdir.

Kresinová ve arkadaşları (2018), *Pleurotus ostreatus* kentsel atık sudaki endokrin bozucularını (EDC) biyoreaktörde giderimim çalışması yapmış atık sudaki EDC'lerin %76'sının giderimini gerçekleştirmişler.

Da Silva Coelho-Moreira ve arkadaşları (2018), beyaz çürük basidiomycete *Ganoderma lucidum*, herbisitlerden diuronunun giderimini incelemişler. *Ganoderma lucidum*, 15 gün sonra diuronun %50 oranında giderimin gerçekleştiğini bildirmişlerdir.

Valli ve Gold (1991), yaptıkları çalışmada beyaz çürükçül mantar *Phanerochaete chrysosporium*'un 2,4 diklorofenolün giderimi ve metabolik yolunu incelemişlerdir. *P. chrysosporium* 2,4- diklorofenol giderimi % 50'si gerçekleşmiştir.

Karas ve arkadaşları (2011), meyve paketlenme endüstrisindeki atık sulardaki thiabendazol (TBZ), imazil (IMZ) pestisitlerin giderimini beyaz çürükçül mantar *Phanerochaete chrysosporium*, *Trametes versicolor*, *Pleurotus ostreatus* ve *Aspergillus niger* suşu kullanarak giderimini araştırmışlardır. Genel olarak, *T.*

versicolor ve *P. ostreatus*, atık suların meyve paketlenme endüstrisinden atık suların biyolojik olarak gideriminde başarılı olduklarını bildirmişlerdir.

Huang ve arkadaşları (2018), beyaz çürüklük mantarlar ve nanomalzemeler ile endokrin bozucu bileşiklerin biyodönüşümünde kullanılmaları üzerine araştırma yapmışlardır. WRF ve nanomalzemeler ile giderimin yeni ve rekabetçi bir teknoloji olarak kabul edilebileceğini belirtmişlerdir.

Hai ve arkadaşları (2012), karışık bakteri ve mantar kültürlerin pestisitlerden aldicarb, atrazin ve alachlorun karışımlarının biyolojik giderimini araştırmışlardır. karışık mantar-bakteri kültürü, sıvı fazdan sırasıyla aldicarb %47, atrazin %98 ve alachlor %62 giderim gerçekleştiği sonucuna ulaşmışlardır.

Cupul ve arkadaşları (2014), sekiz farklı türdeki mantarlara farklı konsantrasyonlarda atrazine maruz bırakılarak mantarların misel büyümesi ve ligninolitik enzim aktiviteleri üzerine etkilerini incelemişlerdir. Atrazine maruz kalan 8 farklı suş farklı tepkiler vererek misel büyümesi ve enzim aktivitelerine etki etmiştir. Genel olarak tüm mantarlarda atrazin lakkaz aktivitesinde artışlara neden olmuş, MnP aktivitelerindeki artışların lakkaza göre daha az olduğu bildirilmiştir.

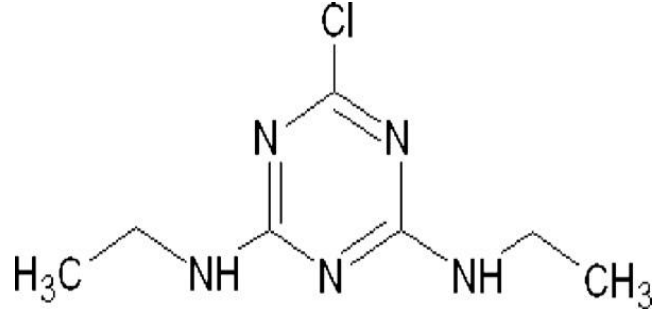
5. MATERYAL VE YÖNTEM

5.1 Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal maddeler ve temin edildikleri firmalar aşağıda (Tablo 5.1) verilmiştir.

Tablo 5.1 Kullanılan kimyasallar ve temin edilen firmalar

Kimyasallar	Temin edilen firma	Molekül formülü
Benzoil peroksit(Bz ₂ O ₂)	Sigma Aldrich	(C ₆ H ₅ CO) ₂ O ₂
Simazin	Ehrenstorfer Quality	C ₇ H ₁₂ ClN ₅
Akrilamit monomeri	Sigma Aldrich	C ₃ H ₅ NO
Kaolin	Aklar Kimya	Al ₂ Si ₂ O ₅ (OH) ₄
Aseton	Sigma Aldrich	C ₃ H ₆ O



Şekil 5.1 Simazinin yapı formülü

Tez çalışmasında tüm deneyler sulu çözelti ortamında gerçekleştirilmiştir. Çözeltiler ultra saf su kullanılarak hazırlanmıştır. Reaktifler ve çözeltilerin hazırlanışı Tablo 5.2’de verilmiştir

Tablo 5.2 Deneyde kullanılan çözeltiler ve hazırlanışları

Çözeltiler	Hazırlanışı
%0,9 NaCl tuz çözeltisi	0,9 g NaCl 100 mL balon jodede saf suyla çözülerek hazırlanır.
%2 Malt ekstrakt broth	2 g tartılıp 100 mL saf suda çözülerek hazırlanır.
0,1mM ABTS	0,00054 g tartılıp 100 mL lik balon jodede saf suyla 100 mL ye tamamlanır.
50 mM Malonat Tamponu	1,3 g tartılıp 250 mL lik balon jodede saf suyla 250 mL ye tamamlanır.
0,1 mM MnSO ₄	1,6902 g tartılıp 100 mL lik balon jodede saf suyla 100 mL ye tamamlanır.
0,001M H ₂ O ₂	0,1 mL alınarak 100 mL lik balon jodede saf suyla 100 mL ye tamamlanır.
0,1mM Sodyum Asetat Çözeltisi	0,82 g tartılıp 100 mL lik balon jodede saf suyla 100 mL ye tamamlanır.
500 ppm (mg/L) Simazin	0,025 g simazin tartılarak 50 mL lik balon jodede metanolde çözülerek hazırlandı.

5.2 Cihazlar

Tez çalışması boyunca kullanılan cihaz ve ekipmanlar Tablo 5.3’de verilmiştir.

Tablo 5.3 Deneysel çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları

Cihazlar	Kullanımı
Otoklav (Nüve OT40L)	Sterilizasyon için kullanılmıştır.
Santrifüj (Nüve NF048)	Örneklerdeki kil partiküllerini ayırmada kullanılmıştır.
pH metre (Hanna instruments HI221)	Hazırlanan çözeltilerin pH ayarlamalarında kullanılmıştır.
Etüv (Nüve FN 400)	Sentezlenen kompozitlerin kurutulmasında kullanılmıştır.
Isıtılmalı su banyosu	Kompozit sentezinde kullanıldı.
İnkübatör (ZHICHENG 2102C Model)	Mantar hücrelerin gelişmesinde kullanılmıştır.
FT-IR (Perkin Elmer Spektrum)	Simazinin karakter analizinde kullanılmıştır.
UV spektrofotometresi (Shimadzu 1601 Model)	Enzimlerin aktivitelerinin tespitinde kullanılmıştır.
SEM SUPRA 40VP Elektron Mikroskobu	Sentezlenen kompozit ve immobilize edilmiş kompozit malzemenin yüzey analizinde kullanılmıştır.

5.3 Hücrede Enzim Üretim Ortamının Hazırlanması

Hücre enzim üretim ortamının hazırlanırken Tablo 5.4’de verilen maddeler 1000 mL’lik balon jöjeye aktarılmış saf su ile çözülerek pH’ ı 4.5 – 5.5 arasında olacak şekilde NaOH-CH₃COOH ile ayarlanmış ve 1000 mL’lik hacme tamamlanmıştır.

Tablo 5.4 Enzim üretim ortamı

Madde	Miktar (g/L)
Yeast Extract	0.025
Glukoz	10.00
CaCl ₂	0.01
MgSO ₄ .7H ₂ O	0.05
NH ₄ H ₂ PO ₄	1.00

5.4 Hücre Ortamının Hazırlanışı

Hücre ortamı için 2 g malt ekstraktı ve 100 mL saf su bir erlende karıştırılıp ağzı tıkaçla kapatılmıştır. Erlenin çevresi alüminyum folyo ile sarılıp 20 dakika 120°C’de otoklavlanarak doygun buhar ortamında ve yüksek sıcaklıkta sterilizasyonu yapılmıştır.

5.5 Hücre Süspansiyonunun Hazırlanması

Beyaz çürükçül fungus *Coprinus plicatilis*, 4°C’de %2 (w/v) malt agar üzerinde 3 gün boyunca 27°C tutularak misellerin oluşumu sağlanmıştır. Oluşan mantar miselleri steril %0,9 NaCl kullanarak, özeye kazılarak daha önce sterilize edilmiş pH 4.5 ‘de 100 mL %2 malt ekstrakt broth içeren 250 mL’lik erlenlere aktarılıp, 4 gün 27°C ve 175 rpm’de orbital çalkalayıcıda gelişmesi sağlanmıştır.

5.6 Serbest Hücrelerle Simazin Biyodönüşümü

Mikrobiyal biyodönüşüm çalışmaları herbisitlerden simazin kullanılarak yapılmıştır. Bu maddenin giderimi *Coprinus plicatilis* ile gerçekleştirilmiştir. 5 farklı derişimlerdeki (1,3,5,7,9 mg L⁻¹) simazin, 10 mL hücre süspansiyonuna 25 hücre pelletleri eklenmiş, periyodik olarak 10 gün boyunca örnek alınarak simazin biyodönüşümü ve enzim aktivitesi takip edilmiştir.

5.7 Kompozit Sentezi ve İmmobilize Hücrelerle Simazin Biyodönüşümü

İmmobilize hücrelerin simazin biyodönüşümüne etkisini değerlendirmek için akrilamitin 6 farklı (0.5-1.0-1.5-2.0-2.5-3.0 g) miktarı kullanılarak kompozit malzemeler hazırlanmıştır. Bu kompozitlere fungus hücreleri immobilize edilerek simazini dönüştürme yetenekleri araştırılmıştır.

5.7.1 Poliakrilamit (PAAm)/Kaolin Kompozitlerin Polimerizasyon Yöntemiyle Sentezi:

Bu amaçla polimerizasyon tüpü içerisine 1.0 g saf Kaolin (Al₂Si₂O₅(OH)₄) ve 23 mL saf su ilave edilerek oda sıcaklığında 48 saat bekletilip, elde edilen süspansiyon üzerine farklı miktarlarda akrilamit monomeri ve başlatıcı olarak 1 mL asetonda çözülmüş 0.0218 g Benzoil peroksit (Bz₂O₂) ilave edilerek karıştırılmıştır. Karışım sıcaklığı 85°C olacak şekilde su banyosunda 3 saat bekletilerek sentez gerçekleşmiştir. Polimerizasyon işleminden sonra tüp banyodan alınarak santrifüj yapılmıştır. Elde edilen çökelti 50°C'de etüvde kurutularak, PAAm/kaolin nanokompozitlerin sentezi tamamlanmıştır (Yeh ve diğ. 2003). Bu çalışmada 6 farklı (Tablo 5.5) akrilamit miktarı kullanılarak 6 tür kompozit sentezlenmiştir.

Tablo 5.5 Sentezlenen kompozitte kullanılan maddeler ve miktarları

Kompozit	Kaolin kili(gr)	Akrilamit (gr)	(Bz ₂ O ₂) (gr)	Aseton (mL)
PAAm/kaolin 1	1	0.5	0.0218	1
PAAm/kaolin 2	1	1.0	0.0218	1
PAAm/kaolin 3	1	1.5	0.0218	1
PAAm/kaolin 4	1	2.0	0.0218	1
PAAm/kaolin 5	1	2.5	0.0218	1
PAAm/kaolin 6	1	3.0	0.0218	1

5.7.2 İmmobilize Hücrelerle Simazin Biyodönüşümü ve Enzim Aktiviteleri

Mikrobiyal giderimde 50 mL steril edilmiş hücre ortamına farklı (1,3,5,7,9 mg L⁻¹) derişimlerde hazırlanan simazin, sentezlenen kompozit metaryeli, 10 mL hücre süspansiyonu ve son olarak *Coprinus plicatilis* mantar hücresinden 20-25 pellet konuldu. Bu hazırlanan beş erlendeki deneysel materyaller inkübatörde 27°C 175 rpm orbital çalkalayıcıya konularak hücrelerin enzim aktivitelerinin tespiti için ilk örnek alınmıştır. 10 gün boyunca 24 saat arayla her gün erlenlerden örnek alınarak enzim aktiviteleri tespit edilmiştir.

5.8 Enzim Aktivite Ölçümleri

5.8.1 Lakkaz Aktivitesi

Lakkaz aktivitesi; 2,2'-azinobis-(3 etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) kullanılarak 420 nm'de enzimatik oksidasyonun ölçülerek ile tespit edildi. Kültür süpernatantının 300 µL'si üzerine; 300 µL 1 mM ABTS ve pH 4.5, 2400 µL asetik asit/sodyum asetat tamponu içeren karışım eklenmiştir. Örnek çözeltilerin lakkaz aktivitesi, UV-visible spektrofotometre kullanarak 420 nm'de (Molar absorplama katsayısı = 36.000 M⁻¹ cm⁻¹) ABTS oksidasyonunu ile belirlenmiştir (Gulzar ve diğ. 2017).

5.8.2 Mangan Peroksidaz (MnP) Aktivitesi

Fungusların MnP aktivitesi; pH 4.5’da hidrojen peroksitin malonik asit oksidasyonundaki artışın 270 nm’de ölçülmesiyle belirlendi. Kültür süpernatantının 300 µL’si üzerine; 300 µL MnSO₄ (0.1 mM) ve pH 4.5, 2100 µL sodyum malonat (50 mM) tamponu içeren bir karışım eklenmiştir. Oksitleyici reaktif olarak 300 µL, 0.001 M H₂O₂ kullanılmıştır. Oksidasyon hızına bağlı olarak MnP aktivitesi, UV-visible spektrofotometre kullanarak 270 nm’de (Molar absorplama katsayısı 11590 M⁻¹ cm⁻¹) belirlenmiştir (Gulzar ve diğ. 2017).

Enzim aktivitesi hesaplamaları aşağıdaki formül kullanılarak yapıldı. (Lakkaz enzim için $\epsilon = 3.6 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ve Mangan peroksidaz için $\epsilon : 11590 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)

$$e = \frac{abs}{\epsilon} \times \frac{3}{1000} \times \frac{1}{1} \times \frac{1}{0.3 \text{ ml (enzim hacmi)}} \times 10^6$$

5.9 FT-IR ve SEM Analizi

Infrared (IR) spektroskopisi; moleküllerdeki çeşitli bağların titreşim frekanslarını ölçer ve moleküldeki fonksiyonel gruplar hakkında bilgi verir. Her maddenin kendine has bir spektrumu vardır. Bu deneysel çalışmada serbest ve immobilize edilmiş *Coprinus plicatilis* kullanarak simazin biyodönüşümü sırasında Perkin Elmer FT-IR cihazı kullanılmıştır. Numunelerin 4000-400 cm⁻¹ dalga sayısı aralığında simazin yapısındaki fonksiyonel grupların trasmitans değerleri belirlenerek muhtemel dönüşüm aydınlatılmaya çalışılmıştır.

5.10 SEM Analizi

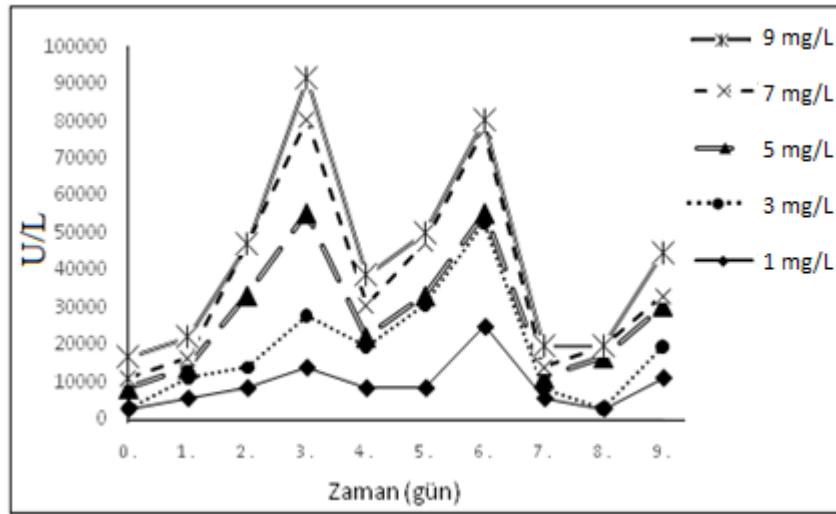
Yüzey analizlerinde kullanılan cihazlardan bir tanesi Taramalı Elektron Mikroskobu’dur (SEM, Scanning Electron Microscope). SEM ile analiz çok küçük bir alana odaklanan yüksek enerjili elektronlarla yüzeyin taranması ile gerçekleştirilir. Bu tez çalışmasında sentezlenen PAAm/kaolin kompozitlerinin SEM Zeiss SUPRA 40VP marka Elektron Mikroskobu ile FESEM görüntü analizleri yapılmıştır.

6. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

Bu tez çalışmasında sulu ortamda simazinin biyodönüşümü incelenmiştir. Biyodönüşüm için *Coprinus plicatilis* serbest mantar hücreleri ve 6 farklı PAAm/kaolin kompozit malzemeye immobilize edilen mantar hücreleri kullanılmıştır.

6.1 *Coprinus plicatilis* Serbest Hücreleri ile Simazin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi

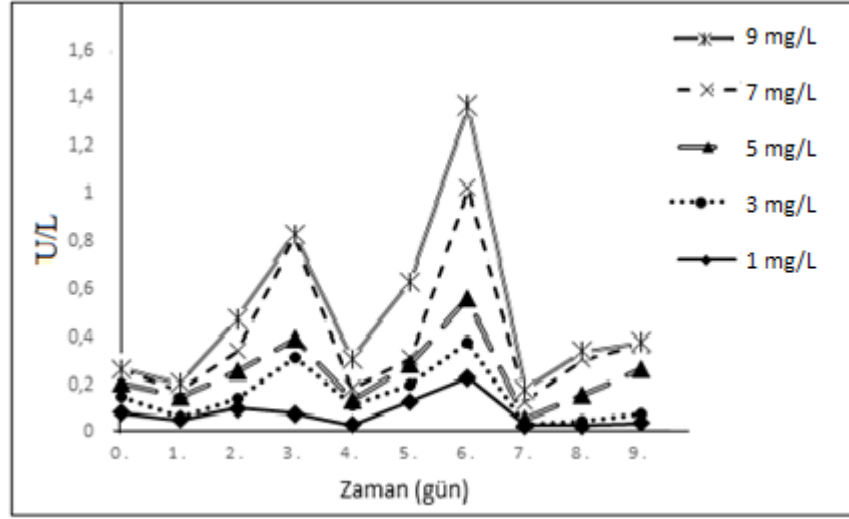
Coprinus plicatilis serbest fungus hücreleri ile 5 farklı derişimlerde hazırlanan simazinin biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP enzim aktiviteleri 10 gün boyunca izlenmiştir. Simazinin biyodönüşümün için alınan örneklerde UV-visible spektrofotometresi ile absorbands değişimleri ölçülerek lakkaz ve MnP enzim aktiviteleri hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 6.1 ve 6.2’de gösterilmiştir.



Şekil 6.1 Serbest formdaki *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümü sırasındaki lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi

Şekil (6.1), *Coprinus plicatilis* serbest fungus hücreleri 5 (1, 3, 5, 7, 9 mg L⁻¹) derişimlerde hazırlanan simazinin biyodönüşümünde, lakkaz enzim aktivitelerinde 3. ve 6. günlerde artış göstermiştir. Lakkaz enzim aktivitelerin yüksek olduğu 3. ve 6. günlerdeki en yüksek değer 3. günde 9 mg L⁻¹ için elde edilmiştir. Derişim arttıkça aktivite değeri de artmaktadır. Bu durum, ortamdaki simazinin yüksek derişim

değerine karşılık enzimin biyodönüşümünü gerçekleştirmek için enzim aktivitesinin maksimum değere çıkması olarak düşünülmektedir.

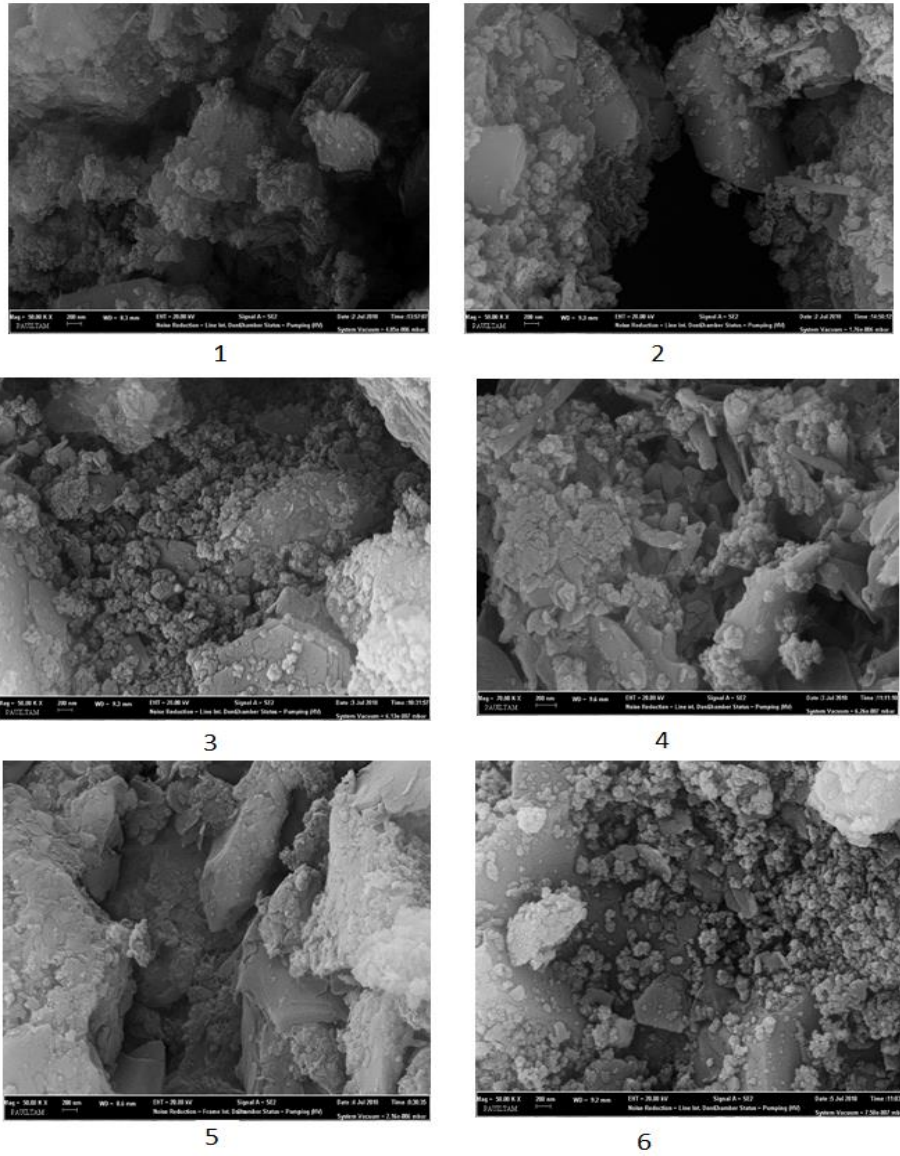


Şekil 6.2 Serbest formdaki *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümü sırasındaki MnP enzim aktivitelerinin değişimi

MnP enzimi için (Şekil 6.2), 3. ve 6. günde tüm derişimlerde artışlar gözlenmiştir. Tüm derişimlerde MnP enzim aktivitesi 6. günde maksimum değerlere ulaşmıştır. Enzim aktivitesinde 7. günde ani düşme gözlemlenmiştir. 7. gündeki ani düşüş simazinin biyodönüşümünde substrat katalizinden sonra ortamda oluşan ara ürünlerin enzimin aktivitesinde düşüşe neden olması olarak düşünülmektedir. Bu hızlı düşüşten sonra 8. ve 9. günde enzim aktivitesinde 5, 7, 9 mg L⁻¹ derişimlerde tekrar artış gözlemlenmiştir. 8. ve 9. gündeki bu artış hücrenin büyümesiyle birlikte enzim üretiminin artmasıyla oluşan ara metabolitleri enzimin tekrar oksidasyonu ile biyodönüşümün devam ettiğini söylenebilir. MnP enzim aktivitesi simazinin derişimine bağlı olarak değişmiştir, derişimin artışıyla orantılı olarak enzim sentezinin olduğunu ve aktivitenin arttığı görülmektedir.

6.2 Sentezlenen PAAm/kaolin Kompozitlerin SEM Görüntüleri

Tablo 5.5’te verilen 6 farklı oranlarda sentezlenen PAAm/kaolin kompozit metaryellerinin SEM görüntüleri aşağıda verilmiştir. Şekil 6.3’te gösterilen yüzey görüntülerinde SEM 1 (PAAm/kaolin 1), SEM 2 (PAAm/kaolin 2), SEM 3 (PAAm/kaolin 3), SEM 5 (PAAm/kaolin 5), SEM 6 (PAAm/kaolin 6) 50.000 büyütme ve SEM 4 (PAAm/kaolin 4) 70.000 büyütme yapılarak görüntüleri alınmıştır.

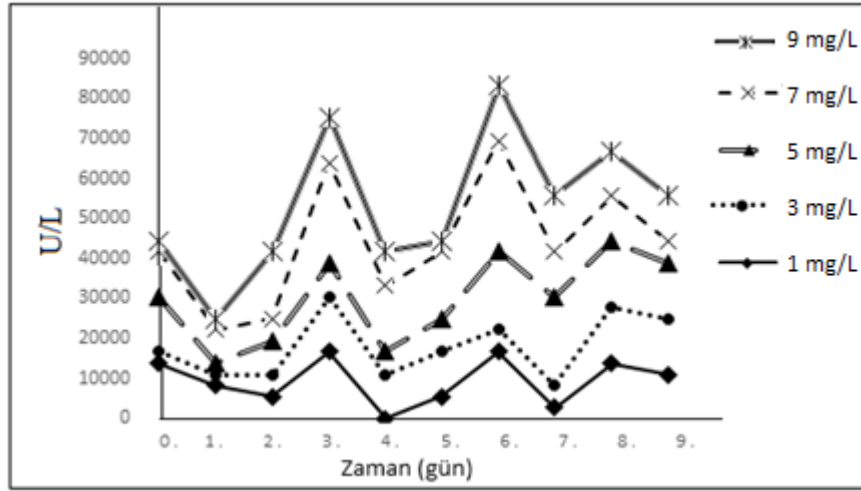


Şekil 6.3 PAAm/kaolin kompozit SEM görüntüleri: SEM 1 (PAAm/kaolin 1), SEM 2 (PAAm/kaolin 2), SEM 3 (PAAm/kaolin 3), SEM 4 (PAAm/kaolin 4), SEM 5 (PAAm/kaolin 5), SEM 6 (PAAm/kaolin 6).

6.3 PAAm/kaolin Kompozit Malzemelerine İmmobilize Edilen *Coprinus plicatilis* Hücrelerinin Simazin Biyodönüşümü Sırasındaki Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi

Yapılan İmmobilize işlemlerinde, *Coprinus plicatilis* hücrelerinden 25 hücre pelleti ve 10 mL hücre süspansiyonu 6 farklı oranlarda (Tablo 5.5) sentezlenen PAAm/kaolin kompozitlerine immobilize edilmiştir. PAAm/kaolin kompozit malzemelerine immobilize edilen *Coprinus plicatilis* hücreleri 5 (1,3,5,7,9 mgL⁻¹) farklı derişimde hazırlanan simazinin biyodönüşümünde 10 gün boyunca kullanılmıştır. Her gün ortamdan örnekler alınıp UV-visible spektrofotometresi ile ölçüm yapılarak lakkaz ve MnP enzim aktiviteleri hesaplanmıştır. 6 farklı oranlarda sentezlenen malzemelere immobilize fungus hücreleri biyodönüşümde kullanılmıştır

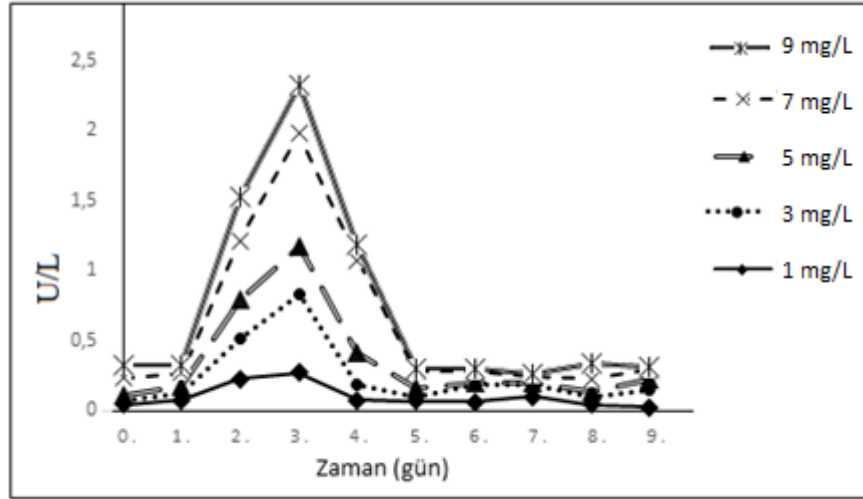
6.3.1 PAAm/kaolin Kompozit 1 Malzemesine İmmobilize Edilen *Coprinus plicatilis* Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi



Şekil 6.4 PAAm/kaolin kompozit 1 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi

Şekil (6.4), PAAm/kaolin 1 kompozit malzemesine immobilize edilen hücrelerle simazin biyodönüşümünde tüm derişimlerde lakkaz aktivitelerinde 3., 6. ve 8. günlerde artışların olduğu tespit edilmiştir. Simazinin 9 mg L⁻¹ derişimde Lakkaz enzim aktiviteleri artışı en fazla 6. günde olmuştur. Lakkaz enzim aktivite değerinde diğer günlerde ani düşüşler olmadan değişen değerler olarak devam etmiştir. Genel

olarak serbest hücelere kıyasla immobilize hücelerin lakkaz aktivitesinin serbest hücre lakkaz aktivitesinden daha düşük olduğu görülmüştür. İmmobilize hücelerde lakkaz enziminde aktivite düşüklüğünün nedeni kompozit malzemenin simazini adsorbilayarak miktarında azalmasıyla fungus hücelerin ortamdaki kirletici maddenin derişimine göre enzim salgılaması yada ortamda oksidasyon sonrası oluşan ara bileşiklerden dolayı salgılanan enzim miktarında ve aktivitelerinde azalma olduğu düşünülebilir.

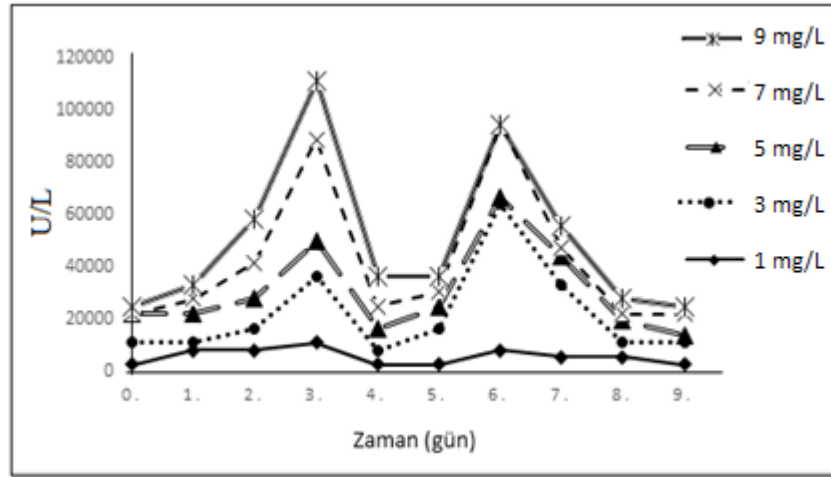


Şekil 6.5 PAAm/kaolin kompozit 1 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değışimi

Şekil (6.5), PAAm/kaolin 1 kompozit malzemesine immobilize edilen hüceler ile simazin biyodönüşümünde MnP enzim aktiviteleri 3. günde tüm derişimlerde en yüksek değeri almıştır. 5. günde MnP enzim aktiviteleri belli değere düşerek diğer günlerde yakın değerlerde devam etmiştir. Serbest hücelerle karşılaştırıldığında MnP enzim aktivitesi immobilize hücelerde daha yüksek değerdendir. Serbest hücelerde simazinin toksik etkisinden dolayı fungus hücelerini olumsuz etkileyerek MnP enzim üretimi ve aktivite değerinin düşük seyretmesine neden olduğu düşünülebilir. İmmobilize edilen hücelerde bu toksik etkilerden koruyarak enzimin daha verimli çalışmasını sağlayarak simazinin biyodönüşümünü gerçekleştirdiğini söyleyebiliriz.

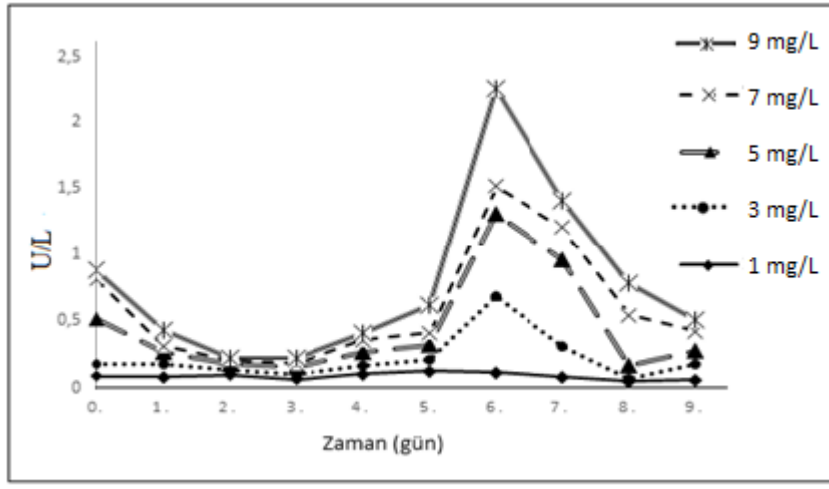
6.3.2 PAAm/kaolin Kompozit 2 Malzemesine İmmobilize Edilen *Coprinus plicatilis* Fungus Hüceleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değışimi

PAAm/kaolin 2 kompozit malzemesine immobilize edilen hücrelerle simazin biyodönüşümünde tüm derişimlerinde lakkaz aktivitelelerinde 3. ve 6. günlerde artış olmuştur. Şekil (6.6), Simazinin 7 ve 9 mg L⁻¹ derişimlerde lakkaz enzim aktiviteleleri 3. günde maksimum değere ulaşmış, 3 ve 5 mg L⁻¹ derişimler ise 6. günde maksimum değeri almıştır. Enzim aktiviteleleri tüm derişimlerde 4. günde ani bir düşüş gözlemlenmiştir.



Şekil 6.6 PAAm/kaolin kompozit 2 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelelerinin değışimi

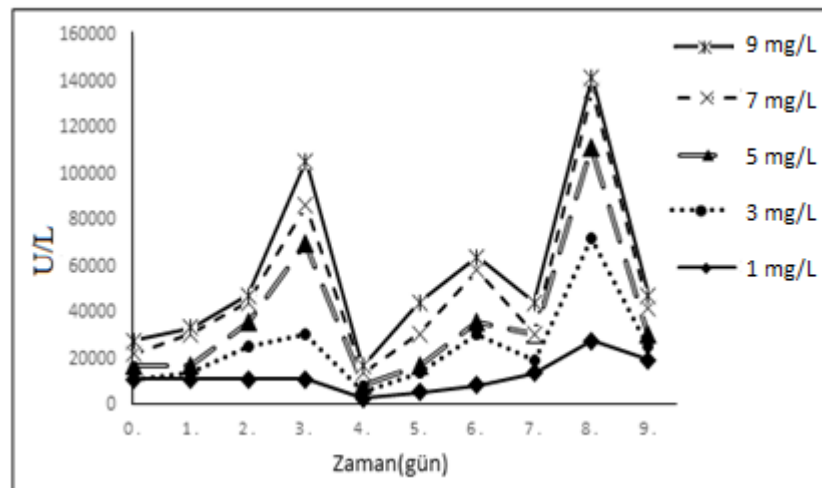
PAAm/kaolin 2 kompozit malzemesine immobilize edilen hücrelelerle simazinin biyodönüşümünde 5, 7 ve 9 mg L⁻¹ derişimlerde MnP enzim aktiviteleleri 0. günde artış olmuştur. Şekil (6.7), 6. günde 3, 5, 7 ve 9 mg L⁻¹ derişimlelerinde enzim aktiviteleleri en yüksek değereleleri almıştır. En yüksek enzim aktivite değeri 6. günde 9 mg L⁻¹ derişiminde görülmüştür. Burada simazinin konsantrasyon artışına paralel enzim aktivitelelerinde artış olmuştur. Hücrenin ortamdaki kirlenici bileşigi okside ettiğinde ara ürünlelerin artmasından dolayı (1-5) günle aralığında enzim aktivite değereleleri tüm derişimlelerde düşük seyrettiği söylenebilir.



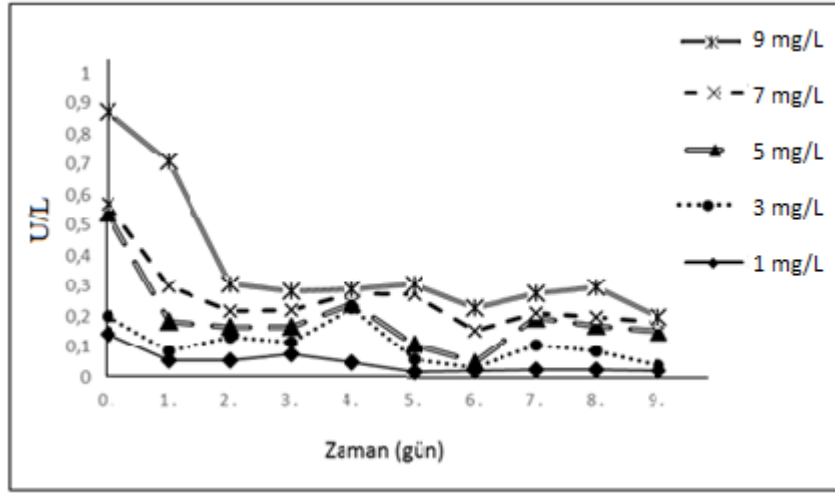
Şekil 6.7 PAAm/kaolin kompozit 2 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitesi değişimi

6.3.3 PAAm/kaolin Kompozit 3 Malzemesine İmmobilize Edilen *Coprinus plicatilis* Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi

PAAm/kaolin 3 kompozit malzemesine immobilize edilen hücrelerle simazinin biyodönüşümünde 3, 5, 7, 9 mg L⁻¹ derişimlerde lakkaz enzim aktiviteleri 3., 6 ve 8. günlerde artışlar olmuştur. 8. günde tüm derişimlerde lakkaz enzim aktivitesi maksimum değere ulaşmıştır. Şekil (6.8), Enzimlerdeki farklı günlerdeki iniş çıkışların olması ortamdaki simazinin biyodönüşümde oluşan ara ürünler etkili olmuştur. Serbest fungus hücrelerin lakkaz enzim aktiviteleriyle karşılaştırdığımızda, immobilize fungus hücrelerde kompozit malzemenin hücrenin gelişmesine katkı sağlaması ve dolayısıyla enzim aktivitelerinin bundan olumlu yönde etkilemiştir diyebiliriz.



Şekil 6.8 PAAm/kaolin kompozit 3 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi

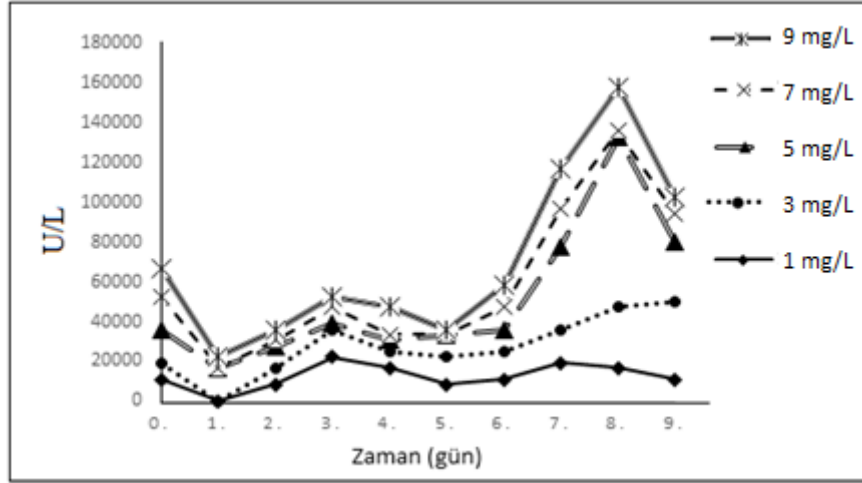


Şekil 6.9 PAAm/kaolin kompozit 3 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi

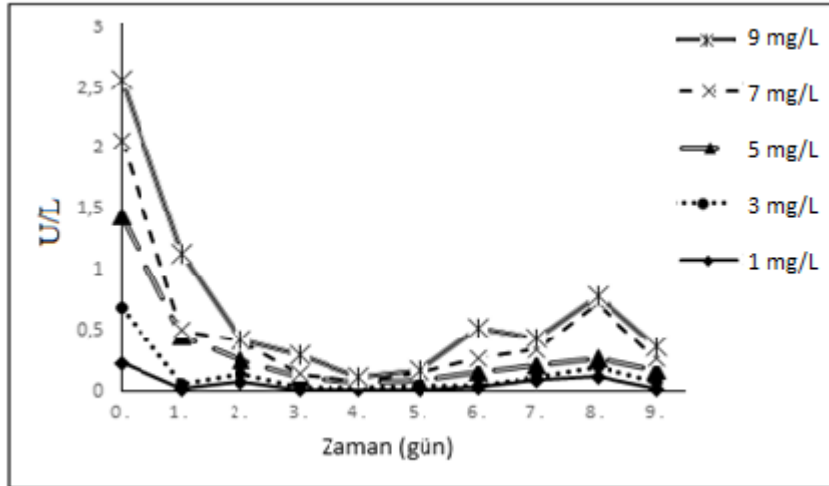
Şekil (6.9), PAAm/kaolin 3 kompozit mataryeline immobilize edilen hücrelerle simazinin biyodönüşümünde tüm derişimlerde MnP enzim aktiviteleri 0. günde artış olmuştur. Simazinin tüm derişimlerinde 1. günde lakkaz enzim seviyesinde ani düşüşler olmuştur. Bu düşüşten sonraki diğer günler düşük seviyede iniş çıkışlarla simazin biyodönüşümü devam etmiştir. Lakkaz enziminin aktifliğindeki bu değişimler kompozit malzemenin yoğunluğundan kaynaklanması veya simazini adsorplamasıyla ortamdaki simazinin miktarının azalması ve dolayısıyla fungus hücresinin de enzim üretimi ve aktivitesinde azalım olarak değerlendirilebilir.

6.3.4 PAAm/kaolin Kompozit 4 Malzemesine İmmobilize Edilen *Coprinus plicatilis* Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi

Şekil (6.10), PAAm/kaolin 4 kompozit mataryeline immobilize edilen hücrelere simazinin biyodönüşümünde tüm derişimlerde lakkaz enzim aktiviteleri 0. ve 3. günlerde artışlar olmuştur. 8. günde ise 3, 5, 7, 9 mg L⁻¹ derişimlerde enzim aktiviteleri maksimum değere ulaşmıştır. Bu durum ortamdaki simazin konsantrasyonuna paralel olarak hücrede enzim sentezinin artarak en yüksek seviyeye geldiğini göstermektedir. Ayrıca kompozit malzemenin ortamdaki toksik bileşiklerden fungus hücrelerinin etkilenmeden enzim sentezini artırarak daha verimli bir şekilde çalışmasına neden olmuş olabilir.



Şekil 6.10 PAAm/kaolin kompozit 4 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi



Şekil 6.11 PAAm/kaolin kompozit 4 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi

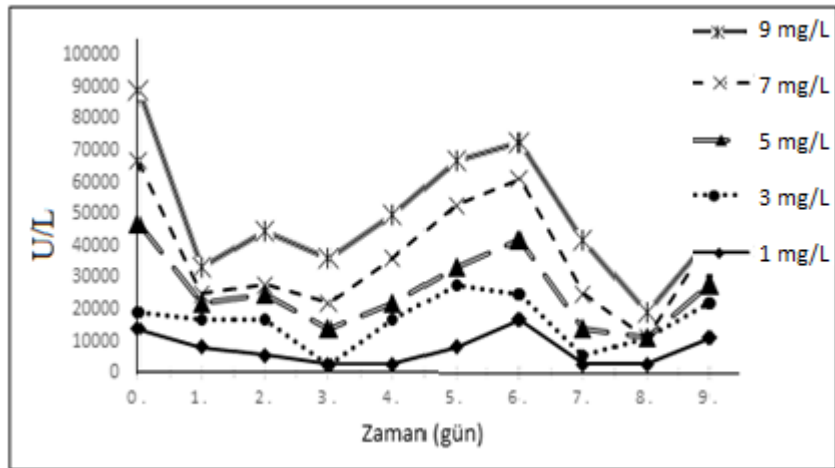
Şekil (6.11), PAAm/kaolin 4 kompozit malzemesine immobilize edilen hücrelerle simazinin biyodönüşümünde tüm derişimlerde MnP enzim aktiviteleri 0. günde en yüksek değerini almış 1., 2.ve 3. günlerde düşerek 4.ve 5. günde en düşük değeri göstermiştir. Diğer günlerde fazla bir artış olmadan aktifliği devam etmiştir. PAAm/kaolin 4 kompozit malzemesi, PAAm/kaolin kompozit 1, 2 ve 3 malzemelerine göre daha yoğun akrilamit miktarına sahiptir. PAAm/kaolin kompozit 4 malzemenin yapısından kaynaklı olarak immobilize işlemi ilk günler az ve diğer günlerde hücreler daha fazla immobilize olduğundan kompozit malzemenin ortamdaki simazini

absorblayarak miktarın azalmasıyla enzim sentezinde buna paralel azaldığı söylenebilir.

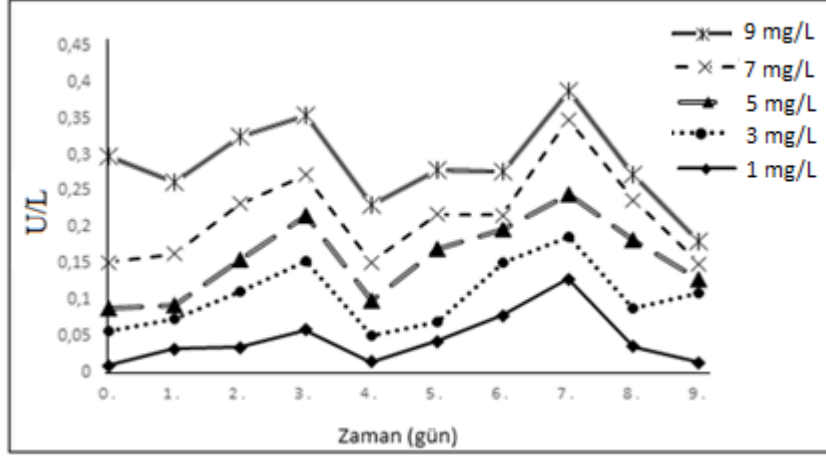
6.3.5 PAAm/kaolin Kompozit 5 Malzemesine İmmobilize Edilen *Coprinus plicatilis* Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi

Şekil (6.12), PAAm/kaolin 5 kompozit malzemesine immobilize edilen hücrelerle simazinin biyodönüşümünde 3, 5, 7, 9 mg L⁻¹ derişimlerde lakkaz aktivitelerinde 0., 2., 6. ve 9. günlerde artışlar olmuştur. Simazinin 5, 7, 9 mg L⁻¹ derişimlerde enzim aktiviteleri 0. günde en yüksek değere ulaşmıştır. Ara ürün oluşumu ve yoğun içerikli kompozit malzemedan dolayı fungus hücrelerin enzim üretimi değişiklik göstermiştir. Enzim aktiviteleri diğer PAAm/kaolin (1,2,3,4) kompozitlerine göre daha düşük olmuştur.

Şekil (6.13), PAAm/kaolin 5 kompozit malzemesine immobilize edilen hücrelerle simazinin biyodönüşümünde tüm derişimlerde MnP enzim aktiviteleri 3. ve 7. günde artışlar göstermiştir. Simazini 7 ve 9 mg L⁻¹ derişimlerde enzim aktiviteleri 7. günde maksimum değere ulaşmıştır. Ancak çalışılan tüm kompozitler arasında MnP enzim aktivitelerinde en düşük elde edildiği kompozit olmuştur.



Şekil 6.12 PAAm/kaolin kompozit 5 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi

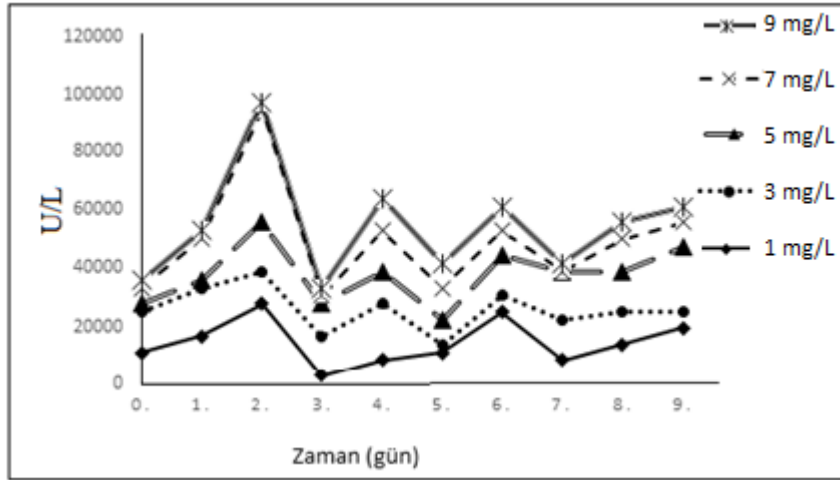


6.13 PAAm/kaolin kompozit 5 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi.

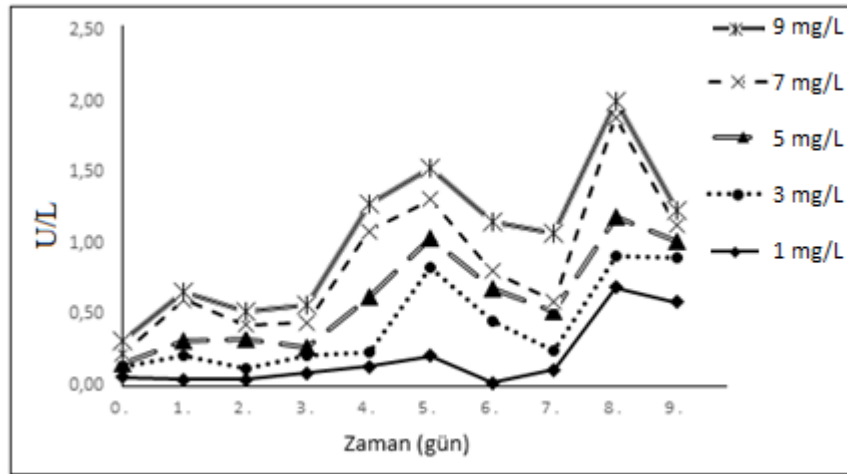
6.3.6 PAAm/kaolin Kompozit 6 Malzemesine İmmobilize Edilen *Coprinus plicatilis* Fungus Hücreleri ile Simazinin Biyodönüşümünde Lakkaz ve MnP Enzim Aktiviteleri Değişimi

Şekil (6.14), PAAm/kaolin 6 kompozit malzemesine immobilize edilen fungus hücrelerle simazin biyodönüşümünde tüm derişimlerde lakkaz enzim aktiviteleri 2., 4., 6 ve 9. günlerde artışlar olmuştur. Lakkaz enziminde aktivitesi 2. günde tüm derişimlerde maksimum değere ulaşmıştır. Burada aktivite değerlerinin iniş çıkışları kompozit metaryelin ortamdaki simazin biyodönüşümünde oluşan ara ürünlerden kaynaklı olarak enzim aktivitelerine etkilemiş olabilir. Ayrıca kompozit malzemede akrilamit miktarın artmasıyla kompozit malzemenin yoğunluğu artmış buda simazinin adsorblanarak artamdaki miktarının azalmasına paralel enzim aktivitelerinde azalmalara neden olmuş olabilir.

Şekil (6.15), PAAm/kaolin 6 kompozit malzemesine immobilize edilen fungus hücrelerle simazinin biyodönüşümünde 3, 5, 7, 9 mg L⁻¹ derişimlerde MnP aktivitelerinde 1. günde artış olmuştur. Simazinin tüm derişimlerinde 5. ve 8. günlerde MnP enzim aktivitelerinde artışların olduğu görülmüştür. Enzim aktiviteleri tüm derişimlerde 8. günde maksimum değerini alarak aktifliği devam etmiştir. 9. günde enzim aktivitelerinde düşüş olmakla birlikte tamamen sıfırlanmamıştır. Bu durum biyodönüşümün devam etmekte olduğunu ve ortamdaki simazinin tamamen tükenmediğini göstermektedir.



Şekil 6.14 PAAm/kaolin kompozit 6 malzemesine immobilize edilen *C. plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde lakkaz enzim aktivitelerinin değişimi



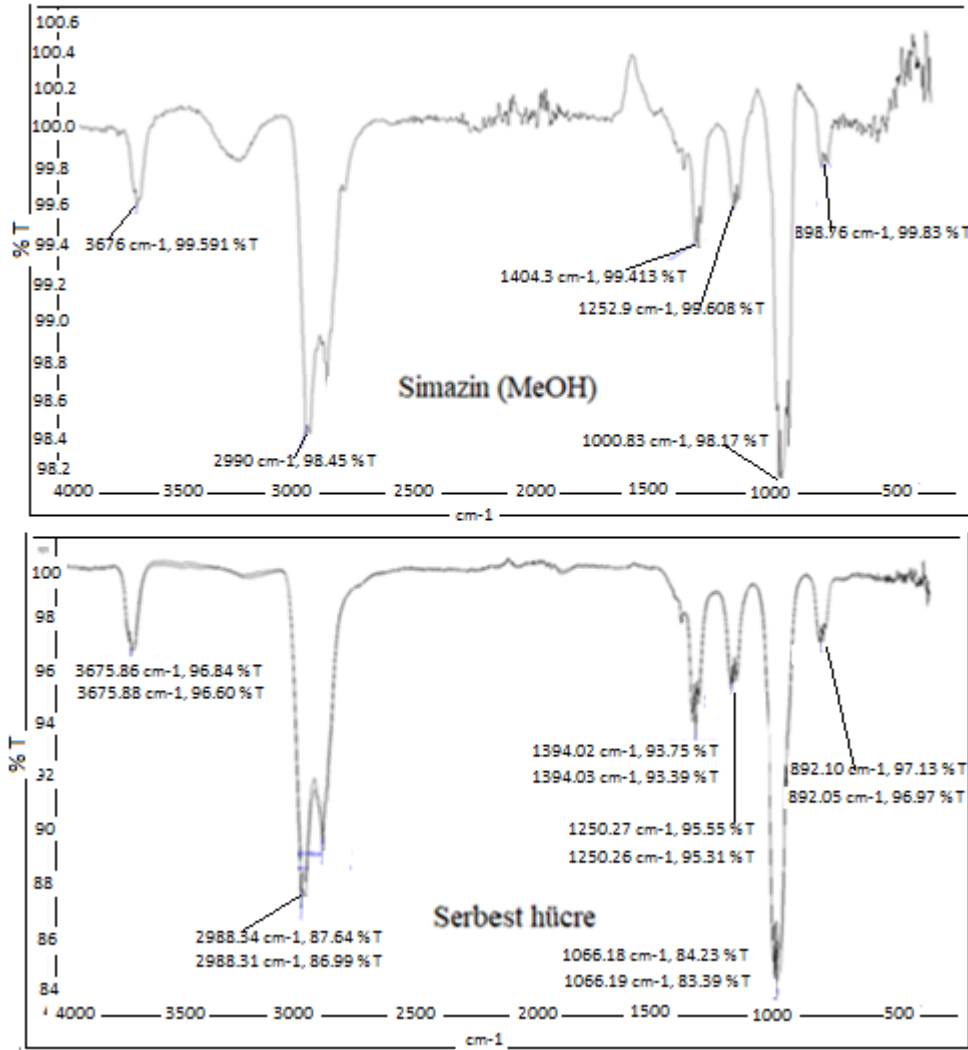
Şekil 6.15 PAAm/kaolin kompozit 6 malzemesine immobilize edilen *C.plicatilis* fungus hücrelerinin simazinin biyodönüşümünde MnP enzim aktivitelerinin değişimi.

6.4 FT-IR Analizleri ve Spektrum Taraması

İnfrared spektrofotometri organik ve inorganik saf bileşiklerin belirlenmesi için çok kullanılan tekniklerden birisidir. Her molekülün (homo nükleer moleküller hariç) absorpsiyon spektrumu kendine özgüdür. IR spektrumları karşılaştırılarak maddelerin aynı olup olmadığı söylenebilir. IR spektrumları çok sayıda keskin pikler ve minimumlar bulundurur ve bu pikler fonksiyonel grupları tanımlamada kullanılır

(Kılıç ve Yılmaz 2004). Tanımlama iki basamakta yapılır, ilk basamakta maddenin spektrumu alınarak 3600-1200 cm^{-1} arasındaki absorpsiyon bantları tespit edilir. Bu aralığa, fonksiyonel gruplar bölgesi denir. Moleküldeki küçük yapısal ve bileşim değişikliklerini incelenen ikinci bölgede parmak izi bölgesidir ve 1200-600 cm^{-1} aralığında değerlendirilir (Gündüz, 2004).

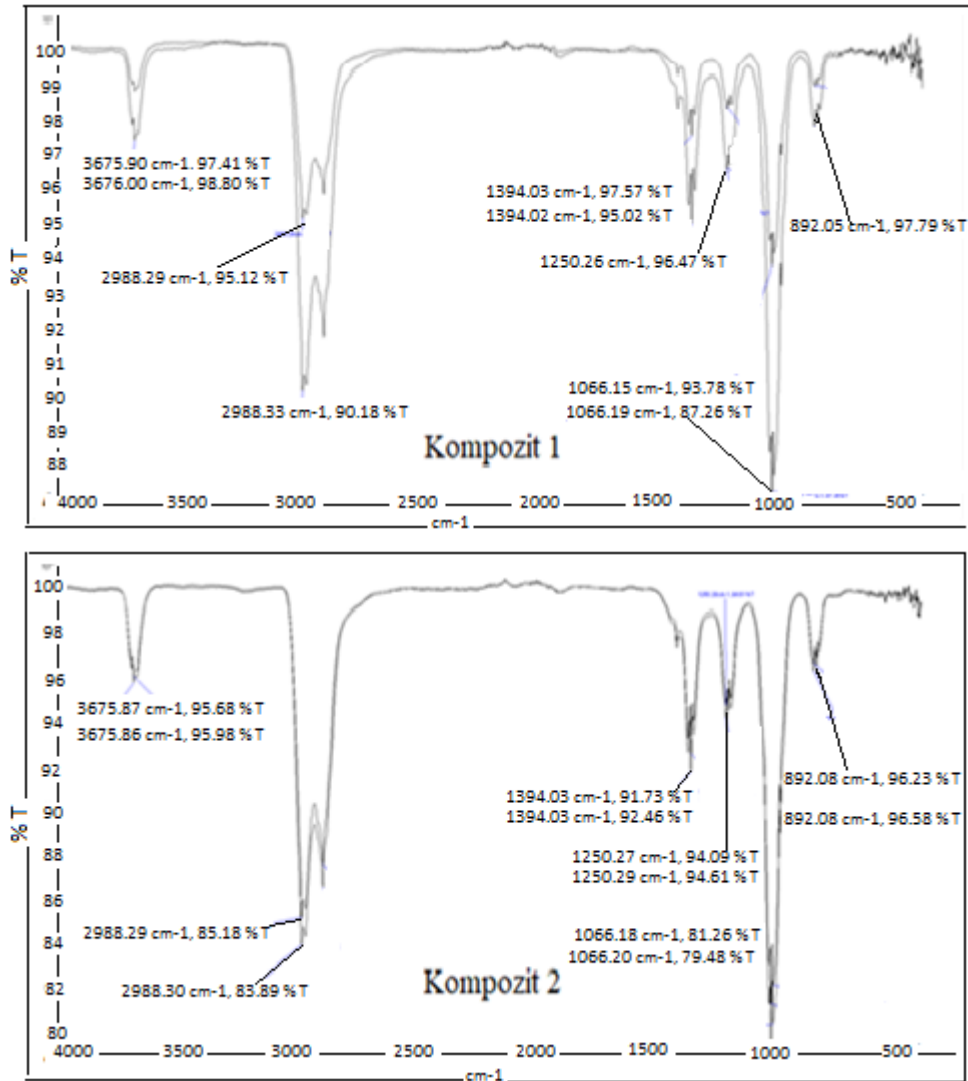
Bu deneysel çalışmada, serbest *Coprinus plicatilis* fungus hücreleri ve PAAm/kaolin kompozit malzemelerine immobilize edilen fungus hücrelerinden alınan örneklerin, 450-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında simazinin fonksiyonel gruplarının yüzde geçirgenlik değerleri tespit edilerek simazinin IR spektrumu elde edilmiştir. Elde edilen spektrumlar 1 mg L^{-1} derişimi ile 0. ve 9. günleri için karşılaştırılmış ve biyodönüşümünün gerçekleşip gerçekleşmediği aydınlatılmaya çalışılmıştır.



Şekil 6.16 MeOH ve serbest hücre ortamı simazinin FT-IR spektrumları (1 mg L^{-1} , 0. ve 9. gün)

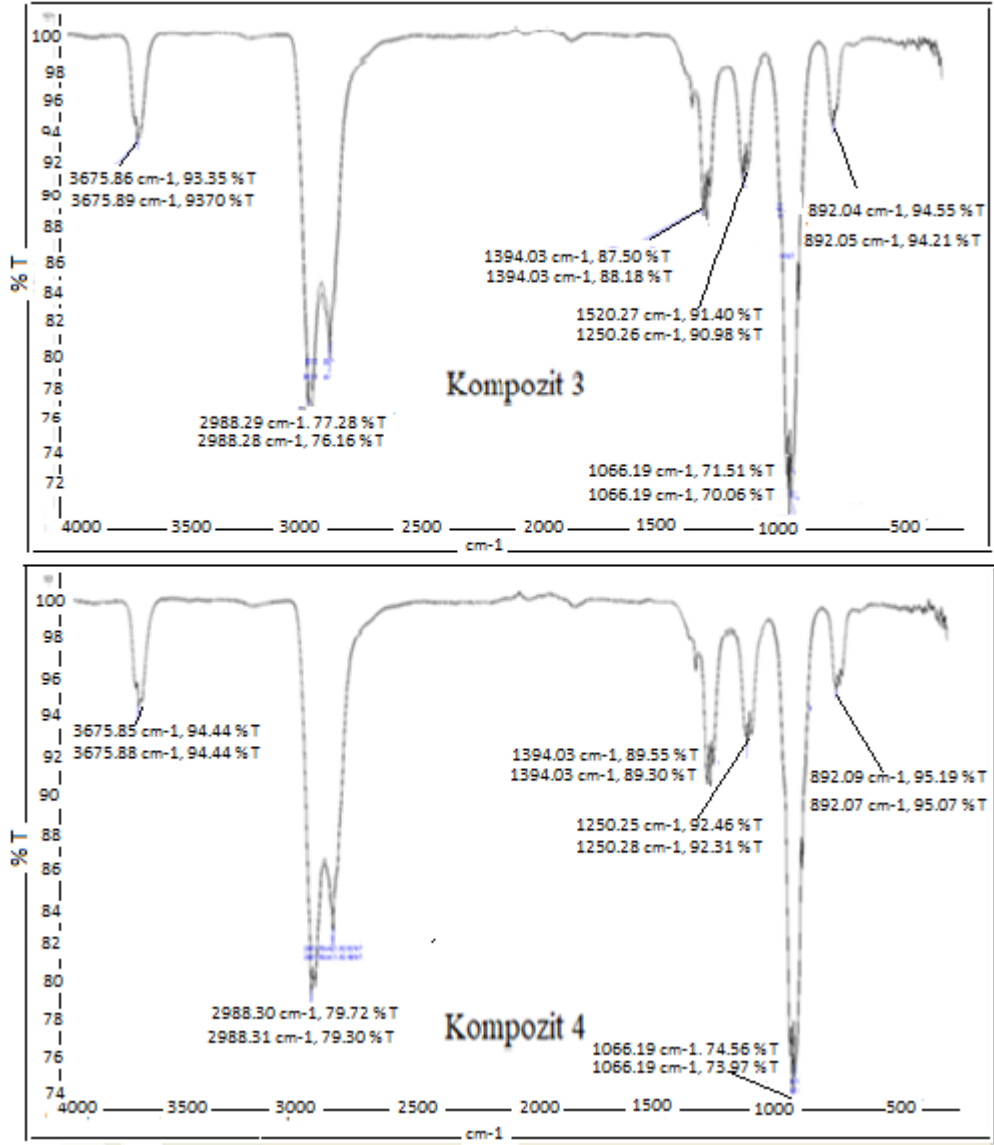
Yapılan deneysel çalışmada metanolde hazırlanan simazinin IR spektrumu incelendiğinde (Şekil 6.16) IR spektrumunda 3674 cm^{-1} N-H grubuna ait, $3100\text{-}3450\text{ cm}^{-1}$ çözücü O-H grubuna ait yayvan pik, $1024\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$ aralığında aromatik ve alifatik C-H gruplarına ait pikler görülmektedir. Parmak izi bölgesinde $850\text{-}890\text{ cm}^{-1}$ aralığında görülen pikler C-Cl gruplarına ait pikler olarak değerlendirilmiştir.

Serbest hücre çalışmasının 1 mg L^{-1} derişimli 0. ve 9. günlerde alınan örneklerin IR spektrumlarından alınan pikler karşılaştırılarak simazinin spektrumu ile karşılaştırılmıştır. IR analizinde metanollü ortam simazin pikleri ve serbest hücrelerle biyodönüşüm sonrası simazinin (1 mg L^{-1}) pikleri aynı aralıklarda tespit edilmiştir.

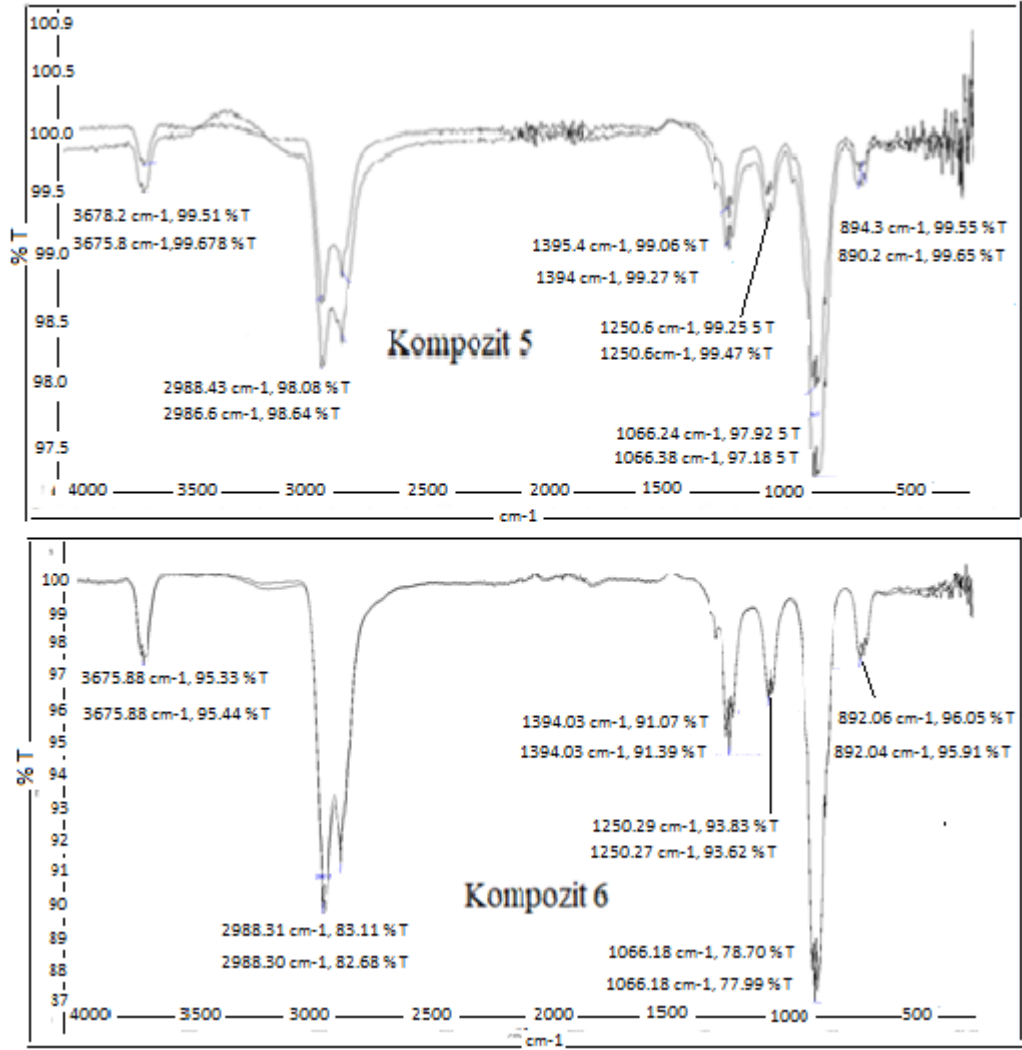


Şekil 6.17 PAAm/kaolin kompozit (1-2) malzemesine immobilize *C. plicatilis* fungus hücreleri ile biyodönüşüm sonrası simazin FT-IR spektrumları (1 mg L^{-1} , 0. ve 9. gün

PAAm/kaolin kompozit malzemelerine immobilize edilen fungus hücrelerin simazinin 1 mg L^{-1} derişiminde yapılan çalışmada 0. ve 9. günlerde alınan örneklerin IR spektrumları çakıştırılarak simazin (MeOH) spektrumu ile karşılaştırıldığında kk kaymalar olsa da gelen pikler aynı aralıktaki tespit edilmiştir. Çakıştırılan piklerin şiddetlerinde azalmalar olduğu görülmüş, bu durum hücrelerin simazinin biyodönüşümünü gerçekleştirdiğini göstermektedir.



şekil 6.18 PAAm/kaolin kompozit (3-4) malzemesine immobilize *C. plicatilis* fungus hücreleri ile biyodönüşüm sonrası simazin FT-IR spektrumları (1 mg L^{-1} , 0. ve 9. gün



Şekil 6.19 PAAm/kaolin kompozit (5-6) malzemesine immobilize *C. plicatilis* fungus hücreleri ile biyodönüşüm sonrası simazin FT-IR spektrumları (1 mg L⁻¹, 0. ve 9. gün

PAAm/kaolin kompozit malzemelerine immobilize edilen fungus hücrelerin simazinin 1 mg L⁻¹ derişimi için 0. ve 9. günlerde alınan örneklerin karşılaştırılan IR spektrumları %T verileri gözönüne alınarak değerlendirilmiştir. Özellikle 1., 2. ve 3. kompozitlere immobilize hücrelerle yapılan simazinin biyodönüşümünde IR spektrumlarında pik şiddetlerindeki azalma diğer kompozitlere göre daha fazla olmuştur. Biyodönüşümü nicel olarak belirlemek için, tüm örnekler için 2988 cm⁻¹ dalga sayısına ait piklerin % T değerleri karşılaştırılmış (1 mg L⁻¹ simazin 0. ve 9. gün) ve yüzde biyodönüşümü hesaplanmıştır (Tablo 6.1). Biyodönüşüm yüzdeleri 0.52 ile 5.47 aralığında bulunmuştur. Simazin biyodönüşümünde kompozit malzemeye immobilize hücrelerin verimliliğinin arttığı görülmektedir.

Tablo 6.1 Serbest hücre ve PAAm/kaolin kompozit (1, 2, 3, 4, 5, 6) malzemesine immobilize *C. plicatilis* fungus hücreleri ile simazinin biyodönüşüm sonrası yüzde geçirgenlik (2988 cm^{-1} , 1 mg L^{-1} , 0. ve 9. gün) ve biyodönüşüm verileri

Kompozit / Gün aralığı	0. gün (% T)	9. gün (% T)	% Biyodönüşüm
Serbest Hücre	86.99	87.64	0.74
Kompozit 1	90.18	95.12	5.47
Kompozit 2	83.89	85.18	1.53
Kompozit 3	76.16	77.28	1.47
Kompozit 4	79.30	79.72	0.52
Kompozit 5	98.08	98.64	0.57
Kompozit 6	82.68	83.11	0.52

$$\% \text{Biyodönüşüm} = (9. \text{Gün } \%T - 0. \text{Gün } \%T) / 0. \text{Gün } \%T \times 100$$

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada, simazinin beyaz çürükçül fungus olan *C. plicatilis* hücreleri kullanılarak biyolojik dönüşümü araştırılmıştır. Organizmanın serbest formları ile PAAm/kaolin kompozitlere immobilize formların biyolojik dönüşümü karşılaştırılmıştır. Kompozit malzemelerin morfolojik yapı analizi taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüsü alınarak değerlendirilmiştir. Serbest ve immobilize hücrelerde simazin biyodönüşümünde yapısal değişimleri takip etmek için FT-IR analizleri yapılmıştır. Biyodönüşümde enzimlerin rollerini değerlendirmek için sulu ortamda lakkaz ve mangan peroksidaz (MnP) enzim aktiviteleri hesaplanmıştır.

Serbest fungus hücrelerle simazinin biyodönüşümünde 9 mg L⁻¹ derişiminde lakkaz enzim aktiviteleri maksimum değerini 3. günde 90000 U/L'dir. PAAm/kaolin kompozit (1, 2, 3, 4, 5, 6) malzemelerine immobilize edilen fungus hücrelerle simazinin biyodönüşümünde 9 mg L⁻¹ derişiminde lakkaz enzim aktiviteleri sırasıyla; PAAm/kaolin 1 kompozit 6. günde 80000 U/L, PAAm/kaolin 2 kompozit 3. günde 110000 U/L, PAAm/kaolin 3 kompozit 8. Günde 150000 U/L, PAAm/kaolin 4 kompozit 8. günde 160000 U/L, PAAm/kaolin 5 kompozit 0. günde 90000 U/L ve PAAm/kaolin 6 kompozit 2. günde 100000 U/L değerlerini almışlardır. Kompozit malzemelerine immobilize edilen fungus hücrelerin lakkaz aktiviteleri birinci kompozit hariç serbest hücreden daha yüksek değerler almıştır. Bu durum immobilize hücrelerinin simazin biyodönüşümünde daha verimli olduğunu göstermektedir.

Serbest fungus hücrelerle simazinin biyodönüşümünde 9 mg L⁻¹ MnP enzim aktivitelerinde 6. günde 1.3 U/L maksimum değerini almıştır. PAAm/kaolin kompozit (1, 2, 3, 4, 5, 6) malzemelerine immobilize edilen fungus hücrelerle simazinin biyodönüşümünde 9 mg L⁻¹ derişiminde MnP enzim aktiviteleri sırasıyla; PAAm/kaolin 1 kompozit 3. günde 2.4 U/L, PAAm/kaolin 2 kompozit 6. günde 2.3 U/L, PAAm/kaolin 3 kompozit 0. gün 0.9 U/L, PAAm/kaolin 4 kompozit 0. günde 2.5 U/L, PAAm/kaolin 5 kompozit 7. günde 0.4 U/L ve PAAm/kaolin 6 kompozit 8. günde 2.0 U/L değerlerini almışlardır. Serbest hücreyle immobilize hücrelerin MnP enzim aktivitelerini kıyasladığımızda PAAm/kaolin 3 ve PAAm/kaolin 5 kompozit hariç immobilize hücreler serbest hücreye göre daha yüksek aktivite değerlerine sahiptir. Sentezlenen 6 farklı kompozite immobilize hücrelerin verimlilikleri

değerlendirildiğinde en verimli olanın PAAM/kaolin 4 kompozite immobilize hücrelerin olduğu söylenebilir. Kompozit malzemelerde akrilamit miktarı arttıkça aktivite değerlerinde azalmalar olmuştur. Aktivite değerlerindeki düşüşler kompozit malzemenin simazini adsorblamasıyla ortamdaki simazin miktarının azalmasına yada simazinin oksidasyonu ile oluşan ara ürünler kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Farklı derişimler çalışıldığında hücre simazin miktarındaki artışa paralel olarak, fungus hücreleri simazinin biyodönüşümünü gerçekleştirmek için enzim aktivitelerinde artışlar olmuş ve simazinin 9 mg L⁻¹ derişiminde maksimum seviyelere çıkarmıştır. Fakat enzimlerin oksidasyonu ile oluşan ara ürünlerin enzim aktivitelerinin değerinde azalmalara neden olmuştur. Oluşan ara ürünler enzimi inhibe etmemiş ve fungus hücreleri simazin biyodönüşümünü gerçekleştirmeye devam etmiştir.

Serbest ve immobilize hücrelerle gerçekleştirilen simazinin biyodönüşümünde alınan örneklerin FT-IR spektrumları değerlendirildiğinde, simazin biyodönüşümünde serbest hücrelerin etkinliğinin, kompozit malzemeye immobilize edilen hücrelere göre az olduğu görülmüştür. Özellikle 1., 2. ve 3. kompozite immobilize hücrelerle yapılan simazinin biyodönüşümünde IR spektrumlarında pik şiddetlerindeki azalma diğer kompozitlere göre daha fazla olmuştur. Biyodönüşümü nicel olarak belirlemek için, tüm örneklerde (Tablo 6.1, 1 mg L⁻¹ simazin 0. ve 9. gün) 2988 cm⁻¹ dalga sayısına ait piklerin % T değerleri karşılaştırılmış ve yüzde biyodönüşümü hesaplanmıştır. Serbest hücre, kompozit malzeme 1, 2, 3, 4, 5 ve 6'ya immobilize hücrelerin simazin biyodönüşüm yüzdeleri sırasıyla; 0.74, 5.47, 1.53, 1.47, 0.52, 0.57 ve 0.52 olarak bulunmuştur. Genel olarak simazinin biyodönüşümünde kompozite immobilize hücrelerin daha etkili olduğu söylenebilir.

İmmobilize hücrelerde genel olarak enzim aktivitelerindeki artışlar serbest hücreye göre daha fazla olmuştur. Bu çalışmada 6 farklı PAAM/kaolin kompozitlere immobilize edilen fungus hücreleriyle 9 mg L⁻¹ derişimli simazinin biyodönüşümünde lakaz ve MnP aktivitelerinde lakkaz enziminde 8. gün, MnP enziminde 0. günde en yüksek aktivite değeri PAAM/kaolin 4 kompozite immobilize hücrede elde edilmiştir.

Sonuç olarak; beyaz çürükçül fungus *C. plicatilis* hücrelerinin serbest ve İmmobilize formları ile simazinin biyodönüşüm verimliliklerini karşılaştırıldığında immobilize hücrelerin daha verimli olduğu görülmüştür. Kompozite immobilize olan fungus hücreleri simazin biyodönüşümünü gerçekleştirirken kompozit yapı simazinin

toksik etkilerin bertarafına katkı sağlamış ve hücrelerin verimli çalışmasını artırmıştır. Yapılan bu çalışma ile immobilize hücrelerin çeşitli su ve atık su arıtımında ayrıca bioreaktörler tasarlanarak kullanımında katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

- Abdelmajeed, N. A., Khelil, O. A., Danial, E. N., “Immobilization technology for enhancing bio-products industry”, *African Journal of Biotechnology*, 11(71), 13528-13539, (2012).
- Arikan, E. B., Isik, Z., Bouras, H. D., Dizge, N., “Investigation of immobilized filamentous fungi for treatment of real textile industry wastewater using up flow packed bed bioreactor”, *Bioresource Technology Reports*, 7, 100197, (2019).
- Asgher, M., Noreen, S., Bilal, M., “Enhancement of catalytic, reusability, and long-term stability features of *Trametes versicolor* IBL-04 laccase immobilized on different polymers”, *International journal of biological macromolecules*, 95, 54-62, (2017).
- Aydemir, T. and Güler, S., “Characterization and immobilization of *Trametes versicolor* laccase on magnetic chitosan–clay composite beads for phenol removal”, *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 43(6), 425-432, (2015).
- Aykın, E. and Erbaş, M., “Characteristics of gelatine produced from different sources”, *GIDA-Journal of Food*, 41(3), 179-186, (2016).
- Bakanlığı, T. M. E. ve Sağlık, Ç. “Pestisitler”, 850 CK 0054, (2012).
- Balawejder, M., Józefczyk, R., Antos, P., Pieniżek, M., “ A method for remediation of soil contaminated with simazine”, *Archives of Environmental Protection*, 42 (3), 41–46, (2016).
- Baranowska, I., Barchanska, H., Abuknesha, R. A., Price, R. G., Stalmach, A., “ELISA and HPLC methods for atrazine and simazine determination in trophic chains samples”, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70, 341–348, (2008).
- Bending, G. D., Friloux, M., Walker, A., “Degradation of contrasting pesticides by white rot fungi and its relationship with ligninolytic potential”, *FEMS microbiology letters*, 212(1), 59-63, (2002).

Bilal, M., Iqbal, M., Hu, H., Zhang, X., “Mutagenicity and cytotoxicity assessment of biodegraded textile effluent by Ca-alginate encapsulated manganese peroxidase”, *Biochemical Engineering Journal*, 109, 153–161, (2016).

Bilal, M., Asgher, M., Shahid, M., Bhatti, H. N., “Characteristic features and dye degrading capability of agar–agar gelimmobilized manganese peroxidase”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 86, 728–740, (2016).

Bissanti, G., “*Coprinus plicatilis*[online]”,

(12.10.2019), <https://antropocene.it/en/2018/12/31/coprinus-plicatilis>, (2018).

Catalkaya, E. C. and Kargi F. “Advanced oxidation and mineralization of simazine using Fenton’s reagent”, *Journal of Hazardous Materials*, 168, 688-694, (2009).

Cupul, W. C., Abarca, G. H., Vázquez, R. R., Salmones, D., Hernández, R. G., Gutiérrez, E. A. “Response of ligninolytic macrofungi to the herbicide atrazine: dose-response bioassays”, *Revista Argentina de microbiologia*, 46(4), 348-357, (2014).

da Silva Coelho-Moreira, J., Brugnari, T., Sá-Nakanishi, A. B., Castoldi, R., De Souza, C. G., Bracht, A., Peralta, R. M., “Evaluation of diuron tolerance and biotransformation by the white-rot fungus *Ganoderma lucidum*”, *Fungal biology*, 122(6), 471-478, (2018).

da Silva Coelho, J., de Souza, C. G. M., de Oliveira, A. L., Bracht, A., Costa, M. A. F., Peralta, R. M., “Comparative removal of bentazon by *Ganoderma lucidum* in liquid and solid state cultures”, *Current microbiology*, 60(5), 350-355, (2010).

da Silva Coelho, J., de Oliveira, A. L., de Souza, C. G. M., Bracht, A., Peralta, R. M., “Effect of the herbicides bentazon and diuron on the production of ligninolytic enzymes by *Ganoderma lucidum*”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 64(2), 156-161,(2010).

Das, S. K. and Mondal, T., “Mode of action of herbicides and recent trends in development: a reappraisal”, *Int. J. Agric. Soil Sci*, 2, 27-32, (2014).

Datta, S., Christena, L. R., Rajaram, Y. R. S., “Enzyme immobilization: an overview on techniques and support materials”, *3 Biotech*, 3(1), 1-9, (2013).

Datta, R., Kelkar, A., Baraniya, D., Molaei, A., Moulick, A., Meena, R. S., Formanek, P. ,“Enzymatic degradation of lignin in soil: a review”, *Sustainability*, 9(7), 1163, (2017).

De, A. K., Sarkar, B., Adak, M. K., Paul, D., Sinha, S. N., Sarkar, N. S., ... & Datta, A. K. , “Physiological explanation of herbicide tolerance in *Azolla pinnata* R. Br”, *Ann Agrar Sci*, 15(3), 402-409, (2017).

Dean, J. R., Wade, G., Barnabas, I. J., “Determination of triazine herbicides in environmental samples”, *Journal of chromatography A*, 733(1-2), 295-335, (1996)

Dos Santos, J. S., Palaretti, V., De Faria, A. L., Crevelin, E. J., De Moraes, L. A. B., das Dores Assis, M., “Biomimetic simazine oxidation catalyzed by metalloporphyrins”, *Applied Catalysis A: General*, 408(1-2), 163-170, (2011).

Dörfler, U., Feicht, E. A., Scheunert, I., “S-triazine residues in groundwater”, *Chemosphere*, 35(1-2), 99-106, (1997).

Dzionic, A., Wojcieszynska, D., Guzik, U., “Natural carriers in bioremediation: A review”, *Electronic Journal of Biotechnology*, 19(5), 28-36, (2016).

Elgueta, S., Santos, C., Lima, N., Diez, M. C., “Atrazine dissipation in a biobed system inoculated with immobilized white-rot fungi”, *Archives of Agronomy and Soil Science*, 62(10), 1451-1461, (2016).

Ellouze, M. and Sayadi, S., *Management of hazardous wastes*, London :*InTech*, 103-120, (2016).

Fratila-Apachitei, L. E., Hirst, J. A., Siebel, M. A., Gijzen, H. J., “Diuron degradation by *Phanerochaete chrysosporium* BKM-F-1767 in synthetic and natural media”, *Biotechnology Letters*, 21(2), 147-154, (1999).

Gao, D., Du, L., Yang, J., Wu, W. M., ve Liang H. “A critical review of the application of white rot fungus to environmental pollution control”, *Critical Reviews in Biotechnology*, 30, 70–77, (2010).

Gianfreda, L. and Rao M. A., “Potential of extra cellular enzymes in remediation of polluted soils: a review”, *Enzyme and Microbial Technology*, 35, 339–354, (2004).

Górecka, E. and Jastrzębsk, M., “Immobilization techniques and biopolymer carriers”, *Biotechnology and Food Science*, 75 (1), 65-86, (2011).

Gouma, S., Papadaki, A. A., Markakis, G., Magan, N., Goumas, D., “Studies on Pesticides Mixture Degradation by White Rot Fungi”, *Journal of Ecological Engineering*, 20(2), 16–26, (2019).

Gulzar, T., Huma, T., Jalal, F., Iqbal, S., Abrar, S., Kiran, S., ... & Rafique, M., “Bioremediation of synthetic and industrial effluents by *Aspergillus niger* isolated from contaminated soil following a sequential strategy”, *Molecules*, 22(12), 2244, M, (2017).

Gündüz, T., *İnstrümental Analiz*, Ankara: Gazi Kitabevi, 355-363, (2004).

Hai, F. I., Modin, O., Yamamoto, K., Fukushi, K., Nakajima, F., Nghiem, L. D. “Pesticide removal by a mixed culture of bacteria and white-rot fungi”, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43, 459–462, (2012).

Hamid, A. A., Aiyelaagbe, O. O., Balogun, G. A., “Herbicides and its applications”, *Advances in Natural and Applied Sciences*, 5(2), 201-214, (2011).

Hautphenne, C., Penninckx, M., Debaste, F., “Product formation from phenolic compounds removal by laccases: A review”, *Environmental Technology & Innovation*, 5, 250–2666, (2016).

Herrera, H., Palma, G., Almonacid, L., Campos, R., Fuentes, A., Garcia-Romera, I., “Arriagada, C., “Improving Soil Simazine Dissipation Through an Organic Amendment Inoculated with *Trametes versicolor*”, *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 1-8, (2019).

Huang, X., He, J., Yan, X., Hong, Q., Chen, K., He, Q., Zhang, L., Liu, X., Chuang, S., Li, S., Jiang, J., “ Microbial catabolism of chemical herbicides: Microbial resources, metabolic pathways and catabolic genes”, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 143, 272–297, (2017).

Huang, D., Guo, X., Peng, Z., Zeng, G., Xu, P., Gong, X., ... & Liu, C., “White rot fungi and advanced combined biotechnology with nanomaterials: promising tools for endocrine-disrupting compounds biotransformation”, *Critical reviews in biotechnology*, 38(5), 671-689, (2018).

Ji, C., Nguyen, L. N., Hou, J., Hai, F. I., Chen, V., “Direct immobilization of laccase on titania nanoparticles from crude enzyme extracts of *P. ostreatus* culture for micro-pollutant degradation”, *Separation and Purification Technology*, 178, 215-223, (2017).

Jolival, C., Brenon, S., Caminade, E., Mougin, C., Pontié, M., “Immobilization of laccase from *Trametes versicolor* on a modified PVDF microfiltration membrane: characterization of the grafted support and application in removing a phenylurea pesticide in wastewater”, *Journal of Membrane Science*, 180(1), 103-113, (2000).

Kadri, T., Rouissi, T., Brar, S. K., Cledon, M., Sarma, S., Verma, M., “Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) by fungal enzymes: A review”, *Journal of Environmental Sciences*, 51, 52-74, (2017).

Kappler, B. and Namuth, D., “Herbicide Classification”, *Agronomy and Horticulture Department Plant & Soil Sciences eLibrary*, (2004).

Karas, P. A., Perruchon, C., Exarhou, K., Ehaliotis, C., Karpouzias, D. G., “Potential for bioremediation of agro-industrial effluents with high loads of pesticides by selected fungi”, *Biodegradation*, 22(1), 215-228, (2011).

Kim, K. R., Son, E. W., Rhee, D. K., Pyo, S., “The immunomodulatory effects of the herbicide simazine on murine macrophage functions in vitro”, *Toxicology in vitro*, 16(5), 517-523, (2002).

Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I.M., Marchant, R., Koutinas, A.A., “Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review”, *Food Microbiology*, 21,377–397, (2004).

Křesinová, Z., Linhartová, L., Filipová, A., Ezechiáš, M., Mašín, P., Cajthaml, T., “Biodegradation of endocrine disruptors in urban wastewater using *Pleurotus ostreatus* bioreactor”, *New biotechnology*, 43, 53-61, (2018).

Levin, L., Carabajal, M., Hofrichter, M., Ullrich, R., “Degradation of 4-nitrophenol by the white-rot polypore *Trametes versicolor*”, *International Biodeterioration & Biodegradation*, 107, 174-179, (2016).

Lee, K E., Teng, T.T., Morad, N., Poh, B. T., Hong, Y. F., “Flocculation of kaolin in water using novel calcium chloride-polyacrylamide (CaCl₂-PAM) hybrid polymer”, *Separation and Purification Technology*, 75, 346–351, (2010).

Ma, H. F., Meng, G., Cui, B. K., Si, J., Dai, Y. C., “Chitosan crosslinked with genipin as supporting matrix for biodegradation of synthetic dyes: Laccase immobilization and characterization”, *Chemical Engineering Research and Design*, 132, 664–676, (2018).

Manavalan, T., Manavalan, A., Heese, K., “Characterization of lignocellulolytic enzymes from white-rot fungi”, *Current microbiology*, 70(4), 485-498, (2015).

Martins, S. C. S., Martins, C. M., Fiúza, L. M. C. G., Santaell, S. T., “Immobilization of microbial cells: A promising tool for treatment of toxic pollutants in industrial wastewater” *African Journal of Biotechnology*, 12(28), 4412-4418, (2013).

Mayer, A. M. and Staples, R. C., “Laccase: new functions for an old enzyme”, *Phytochemistry* 60, 551-565, (2002).

Mendieta, E. H., Sánchez, D. G., Tejacal, I. A., López, V., Granados, C. R. “Degradation kinetics of 2, 4-dichlorophenoxyacetic and atrazine by *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát”, *African Journal of Biotechnology*, 17(52), 1445-1454, (2018).

Mir-Tutusaus, J. A., Baccar, R., Caminal, G., Sarr, M. “Can white-rot fungi be a real wastewater treatment alternative for organic micropollutants removal?”, *Water Research*, 138, 137-151, (2018).

Morgante, V., Flores, C., Fadic, X., González, M., Hernández, M., Cereceda-Balic, F., Seeger, M., “Influence of microorganisms and leaching on simazine attenuation in an agricultural soil”, *Journal of environmental management*, 95, 300-305,(2012).

Morillo, E. and Villaverde, J., “Advanced technologies for the remediation of pesticide contaminated soils”, *Science of the Total Environment*, 586, 576–597, (2017).

Naghdi, M., Taheran, M., Brar, S. K., Kermanshahi-pour, A., Verma, M., Surampalli R.Y., “Removal of pharmaceutical compounds in water and wastewater using fungal oxidoreductase enzymes”, *Environmental Pollution*, 23, 190-213, (2018).

Pereira, P. M., Teixeira, R. S. S., Oliveira, M. A. L. D., Silva, M. D., Leitão, V. S. F., “Optimized atrazine degradation by *Pleurotus ostreatus* INCQS 40310: an alternative for impact reduction of herbicides used in sugarcane crops”, *Microbial & Biochemical Technology*, 12, 006, (2013).

Przystaś, W., Zabłocka-Godlewska, E., Grabińska-Sota, E., “Efficiency of decolorization of different dyes using fungal biomass immobilized on different solid supports”, *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 285-295, (2018).

Rani, M., Shanker, U., Jassal, V., “Recent strategies for removal and degradation of persistent & toxic organochlorine pesticides using nanoparticles: A review”, *Journal of Environmental Management*, 190, 208-222, (2017).

Rouf, A., Kanojia, V., Naik, H. R., “Cell immobilization: An overview on techniques and its applications in food industry”, *International Journal of Chemical Studies*, 5(6), 1817-1824, (2017).

Salter, G. J. and Keli, D. B., “New materials and technology for cell immobilization”, *Current Opinion in Biotechnology*, 2, 385-389, (1991).

Shaheen, R., Asgher, M., Hussain, F., Bhatti, H. N., “Immobilized lignin peroxidase from *Ganoderma lucidum* IBL-05 with improved dye decolorization and cytotoxicity reduction properties”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 103,57–64, (2017).

Singh, H., “*Mycoremediation: fungal Bioremediation*”, John Wiley & Sons. (2006).

Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., Crouch, S. R., *Analitik kimya: temel ilkeler*, (Çev: Kılıç, E. ve Yılmaz, H.), Ankara: Bilim Yayıncılık, (2004).

Strandber, M. T. and Janeck Fordsmand, J. S., “Field effects of simazine at lower trophic levels—a review”, *The Science of the Total Environment*, 296, 117–137, (2002).

Su, L., Zeng, X., He, H., Tao, Q., Komarneni, S., “Preparation of functionalized kaolinite/epoxy resin nanocomposites with enhanced thermal properties”, *Applied Clay Science*, 148, 103–108, (2017).

Thantsha, M. S., “Cell immobilization techniques for the preservation of probiotics”, (Doctoral dissertation), *In the Faculty of Natural and Agricultural Sciences*, University of Pretoria, South Africa (2007).

Torres-Duarte, C., Roman, R., Tinoco, R., Vazquez-Duhalt, R., “Halogenated pesticide transformation by a laccase–mediator system”, *Chemosphere*, 77(5), 687-692, (2009).

Upadhyay, P. Shrivastava, R., Agrawal, P. K., “Bioprospecting and biotechnological applications of fungal laccase”, This article is published with open access at Springerlink.com, 3 , 6-15, (2016).

Valli, K. and Gold, M. H., “Degradation of 2,4-dichlorophenol by the lignin-degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium*”, *Journal of bacteriology*, 173(1), 345-352, (1991).

Vanerek, A., Alinec, B., Ven, T.G.M., “Delamination and flocculation efficiency of sodium-activated kaolin and montmorillonite”, *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 273, 193–201, (2006).

Varshney, Jay G. and Sondhia, S., “Weed Management Introduction To Herbicides”, *Indian Council of Agricultural* , (2008).

Vats, S., “Herbicides: history, classification and genetic manipulation of plants for herbicide resistance”, *In Sustainable Agriculture Reviews*, 153-192, (2015).

Voberkov, S., Solcany, V., Vrsanska, M., Adam, V., “Immobilization of ligninolytic enzymes from white-rot fungi in crosslinked aggregates”, *Chemosphere*, 202, 694-707, (2018).

Willaert, R. G., “Cell immobilization and its applications in biotechnology: current trends and future prospects”, (eds: El-Mansi, E.M.T., Bryce, C.F.A., Demain, A.L., AR Allman, A.R), *Fermentation Microbiology and Biotechnology*, 3, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300 Boca Raton, FL 33487-2742 : CRC Press, Taylor & Francis Group, 313-368, (2006).

Yeh, J. M., Liou, S. J., Chang, Y. W., “Polyacrylamide–clay nanocomposite materials prepared by photopolymerization with acrylamide as an intercalating agent”, *Journal of applied polymer science*, 91(6), 3489-3496, (2004).

Yuechun, Z. H. A. O., Xiaoyun, Y. I., Minghua, L. I., Lu, L. I. U., Weijuan, M. A., “Biodegradation kinetics of DDT in soil under different environmental conditions by laccase extract from white rot fungi”, *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 18(3), 486-492, (2010).

Zhang, Y., Van der Bruggen, B., Chen, G. X., Braeken, L., Vandecasteele, C., “Removal of pesticides by nanofiltration: effect of the water matrix”, *Separation and Purification Technology*, 38(2), 163-172, (2004).

Zheng, F., An, Q., Meng, G., Wu, X. J., Dai, Y. C., Si, J., Cui, B. K. “A novel laccase from white rot fungus *Trametes orientalis*: Purification, characterization, and application”, *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 758–770, (2017).

Zeng, S., Qin, X., Xia, L., “Degradation of the herbicide isoproturon by laccase-mediator systems”, *Biochemical Engineering Journal*, 119, 92–100, (2017).

Zhuo, R., Yuan,P., Yang, Y., Zhang, S., Ma, F., Zhang, X., “Induction of laccase by metal ions and aromatic compounds in *Pleurotus ostreatus* HAUCC 162 and decolorization of differentsynthetic dyes by the extracellular laccase”, *Biochemical Engineering Journal*, 117,62–72, (2017).

10. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Ayten Tokmak

Doğum Yeri ve Tarihi : Malatya 07.06.1977

Lisans Üniversite : İnönü Üniversitesi (Kimya Bölümü)

Önlisans Üniversite : Fırat Üniversitesi
Süs Bitkileri ve Seracılık Bölümü

Önlisans Üniversite : AÖF Laborant ve Veteriner Sağlık

Elektronik posta : ayten--tokmak@hotmail.com

İletişim Adresi : Zeytinköy mah. 5037. sok. no:3/15