

Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddelerin Lakkaz Enzimi ile
Biyodegradasyonunun Yanıt Yüzey Metodolojisi ile Optimizasyonu

Ezgi ÖGE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı

Kasım 2022

Optimization of the Biodegradation of Dyes Used in the Textile Industry with
Laccase Enzyme by Response Surface Methodology

Ezgi ÖGE

MASTER OF SCIENCE THESIS

Department of Industrial Engineering

November 2022

Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddelerin Lakkaz Enzimi ile
Biyodegradasyonunun Yanıt Yüzey Metolojisi ile Optimizasyonu

Ezgi ÖGE

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği Uyarınca

Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı

Üretim ve Servis Sistemleri Bilim Dalında

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Yeliz Buruk Şahin

İkinci Danışman: Arş. Gör. Dr. Belma Nural Yaman

“ESOGÜ-BAP tarafından FYL-2022-2308 numaralı proje kapsamında desteklenmiştir.”

Kasım 2022

ETİK BEYAN

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre, Dr. Öğr. Üyesi Yeliz Buruk Şahin danışmanlığında hazırlamış olduğum “Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Boyar Maddelerin Lakkaz Enzimi ile Biyodegradasyonunun Yanıt Yüzey Metodolojisi ile Optimizasyonu” başlıklı YÜKSEK LİSANS tezimin özgün bir çalışma olduğunu; tez çalışmamın tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; tezimde verdiğim bilgileri, verileri akademik ve bilimsel etik ilke ve kurallara uygun olarak elde ettiğimi; tez çalışmamda yararlandığım eserlerin tümüne atıf yaptığımı ve kaynak gösterdiğimi ve bilgi, belge ve sonuçları bilimsel etik ilke ve kurallara göre sunduğumu beyan ederim. 24/11/2022

Ezgi ÖGE

İmza

ÖZET

Kentsel yaşamın gelişmesiyle birlikte çevre kirliliği ortaya çıkmış ve endüstriyel faaliyetler sonucu artış göstermiştir. Endüstriyel atık sularla ilgili çevre sorunları, endüstriyel ürün çeşitliliğinin artmasıyla birlikte giderek daha karmaşık hale gelmektedir. Kirletici endüstrilerden biri de atık suları organik, inorganik tuzlar, boya ve ağır metaller içeren tekstil endüstrisidir. Tekstil endüstrisi, dünyada kimyasal olarak en yoğun endüstrilerden biri olduğu için büyük bir kirliliğe neden olmaktadır. Atık suların çevreye karışması tüm yaşam formlarını olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle çevre mevzuatı genellikle bu atık suların çevreye boşaltılmadan önce arıtılmasını zorunlu kılar. Yapılan bu tez çalışmasında, lakkaz enziminin Reactive Blue 49 (RB49) ve Reactive Violet 1 (RV1) boyarmaddelerinin bulunduğu ortamdaki kirliliği maksimum düzeyde azaltacağı koşullar araştırılmıştır. Renk giderme optimizasyon çalışmalarında, Yanıt Yüzey Yönteminin (YYY) bir türü olan Merkezi Kompozit Tasarım (MKT) uygulanmıştır. Klasik MKT yaklaşımının yanı sıra MKT ile entegre olarak yeni bir metasezgisel yöntem olan Deniz Yırtıcıları Algoritması (DYA) da kullanılmıştır. YYY sonuçlarına göre RB49 için maksimum verim %90,56, RV1 için maksimum verim %74,12 olarak belirlenmiştir. YYY tabanlı DYA'da ise maksimum verim RB49 için %93,1, RV1 için %80,60 olarak belirlenmiştir. Sonuç olarak, MKT ile metasezgisel yöntemlerin kullanılmasının renk giderimi için uygun bir yol olduğu görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Renk giderimi, Lakkaz, Deniz Yırtıcıları Algoritması, Yanıt Yüzey Metodolojisi

SUMMARY

Environmental pollution has emerged with the development of urban life and increased as a result of industrial activities. The environmental problems related to industrial wastewater are becoming more and more complex with the increasing variety of industrial products. One of the pollutant industries is textile industry whose waste water contains the organic, inorganic salts, dye and heavy metals. The textile industry causes a major pollution as it is one of the most chemically intensive industries in the world. The mixing of wastewater into the environment has a negative impact of all life forms. For this reason, environmental legislation often mandates that these wastewaters be treated before they are discharged into the environment. In this thesis, the conditions under which the laccase enzyme will reduce the pollution in the environment where Reactive Blue 49 (RB49) and Reactive Violet 1 (RV1) dyestuffs are present at the maximum level were investigated. Central Composite Design (CCD), a type of Response Surface Methodology (RSM), was applied in color removal optimization studies. In addition to the classical CCD approach, a new metaheuristic method Marine Predators Algorithm (MPA) was also used in integration with the CCD. According to the results of CCD, the maximum efficiency was determined as 90.56% for RB49 and 74.12% for RV1. In CCD based MPA, the maximum efficiency was determined as 93.1% for RB49 and 80.60% for RV1. As a result, it has been seen that the use of metaheuristic methods with CCD is a suitable way for color removal.

Keywords: Decolorization, Laccase, Marine Predators Algorithm, Response Surface Methodology

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vi
SUMMARY	vii
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	4
3. MATERYAL VE YÖNTEM	13
3.1. Materyal	13
3.1.1 Kimyasallar	13
3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar	13
3.2. Yöntem	14
3.2.1. Tamponların hazırlanması	14
3.2.2. Stok boyarmadde çözeltilerinin hazırlanması	15
3.2.3. Biyodegradasyon deneyleri	16
3.2.4. Yanıt Yüzey Yöntemi	18
3.2.5. Deniz Yırtıcıları Algoritması	21
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	27
4.1. Reactive Blue 49 için Merkezi Kompozit Tasarım Yöntemi ile % Boya Giderimi Veriminin Optimizasyonu	27
4.2. Reactive Violet 1 için Merkezi Kompozit Tasarım Yöntemi ile % Boya Giderimi Veriminin Optimizasyonu	36
4.3. Optimizasyon ve Doğrulama	44
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR DİZİNİ	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
3.1. Çalışmada kullanılan cihazlara ait görüntüler	14
3.2. Boyarmaddelerin açık formülleri	16
3.3. Boyarmaddelerin standart eğrileri	17
3.4. Deneyin şematik gösterimi	18
3.5. 3 değişken için MKT deneysel noktaları ve tasarım uzayı	21
3.6. Deniz yırtıcıları algoritması sözde kodu	26
4.1. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için standartlaştırılmış içsel artıklar grafiği	32
4.2. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için Box-Cox grafiği	33
4.3. Süre ve enzim miktarının RB49 giderimi üzerine etkisi	33
4.4. Süre ve çalkalama hızının RB49 giderimi üzerine etkisi	34
4.5. Süre ve boyarmadde konsantrasyonunun RB49 giderimi üzerine etkisi	34
4.6. Enzim miktarı ve çalkalama hızının RB49 giderimi üzerine etkisi	35
4.7. Enzim miktarı ve boyarmadde konsantrasyonunun RB49 giderimi üzerine etkisi	35
4.8. Çalkalama hızı ve boyarmadde konsantrasyonunun RB49 giderimi üzerine etkisi	36
4.9. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için standartlaştırılmış içsel artıklar grafiği	40
4.10. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için Box-Cox grafiği	41
4.11. Süre ve enzim miktarının RV1 giderimi üzerine etkisi	41
4.12. Süre ve çalkalama hızının RV1 giderimi üzerine etkisi	42
4.13. Süre ve boyarmadde konsantrasyonunun RV1 giderimi üzerine etkisi	42
4.14. Enzim miktarı ve çalkalama hızının RV1 giderimi üzerine etkisi	43
4.15. Enzim miktarı ve boyarmadde konsantrasyonunun RV1 giderimi üzerine etkisi	43
4.16. Çalkalama hızı ve boyarmadde konsantrasyonunun RV1 giderimi üzerine etkisi	44
4.17. Renk giderimi yakınsama grafiği	47

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Cizelge</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Enzim kullanılarak renk/boya giderimi yapılan çalışmalar	11
3.1. Boyarmaddelerin özellikleri	15
3.2. 2 faktörlü MKT düzeni	21
4.1. MKT parametre ve seviyeleri	27
4.2. RB49 için MKT deney planı	28
4.3. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için model seçimi	29
4.4. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için varyans analizi tablosu	30
4.5. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için istatistikler	30
4.6. RV1 için MKT deney planı	37
4.7. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için model seçimi	38
4.8. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için varyans analizi tablosu	39
4.9. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için istatistikler	39
4.10. Yanıt değerleri için tahmin aralıkları	46
4.11. MKT ve MKT tabanlı DYA sonuçlarının karşılaştırılması	47

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çevre ve su kaynaklarındaki en önemli kirleticilerden biri olan boyalar; tekstil, matbaacılık, ahşap ve kozmetik, gıda, kaplama gibi çeşitli endüstrilerde kullanılmaktadır. Bu endüstrilerde üretilen atık sular değişen konsantrasyonlarda boyalar içermektedir. Bu endüstriler arasında en fazla boya tüketimine tekstil endüstrisi sahiptir. Günümüzde tekstil endüstrisinde 3600 farklı boya ve 8000 farklı kimyasal kullanılmaktadır (Ashrafi vd., 2019; Hussain vd., 2018). Dünya genelinde tekstil endüstrisi için yılda yaklaşık 7×10^7 ton sentetik boya üretilmekte olup, boyarmaddelerin yaklaşık %10'u boyama ve işleme sonrası atık su olarak çevreye deşarj edilmektedir (Benkhaya vd., 2020). Tekstil endüstrilerinde kullanılan boyalar kararlı ve bozunmayan maddelerdir (Soni vd., 2020). Bu tür atık suların çevreye boşaltılması yer altı sularını ve toprağı kirleterek çeşitli hastalıklara neden olmaktadır.

Atıkların besin zinciri yoluyla taşınması insan sağlığını, hayvanları ve çevreyi ciddi şekilde etkilemektedir. Tehlikeli kimyasallardan üretilen bazı boyalar tüm yaşam formları için kanserojen, mutojen etkiye sahip olmakla birlikte güneş ışığının iletimini engellemektedir. Bu da sudaki organizmaların fotosentetik aktivitesini azaltmakta ve estetik görünümünü etkilemektedir (Jeffi vd., 2021). Sonuç olarak, renkli atık suların alıcı ortamlara deşarj edilmeden önce arıtılması kaçınılmazdır.

Atık sulardan boyaı uzaklaştırmak için kullanılan çeşitli yöntemler vardır. Bu yöntemler fiziksel, kimyasal ve biyolojik olabilir. Fiziksel ve kimyasal yöntemler yüksek maliyetlere, düşük verimliliğe sahiptir ve her boya için kullanılamamaktadır. Mikroorganizmalar ve/veya ürünleri son yıllarda atık sudan boya giderimi için kullanılabilen oldukça popülerdirler. Lakkazlar, azoredutazlar ve peroksidazlar gibi enzimler, mikroorganizmalar tarafından hücre dışı olarak salgılanmakta ve enzimlerin kullanıldığı reaksiyon biyodegradasyon olarak tanımlanmaktadır. Buna ek olarak ölü bakteri, mantar ve mayanın kullanıldığı diğer reaksiyon biyosorpsiyonu tanımlamaktadır (Lellis vd.,2019). Tekstil boyaının uzaklaştırılmasında en çok kullanılan mikroorganizmalar beyaz çürükçül mantarlardır (Apohan ve Yeşilada, 2005).

Enzimler, biyokimyasal reaksiyonlarda hızlı bir dönüşüm oranına sahip olan ve maddelerin daha temiz üretimi yoluyla kirlilik probleminin azaltılmasında çok önemli rol oynayabilen biyolojik katalizörlerdir. Yüksek katalitik verimlilik, yüksek substrat özgüllüğü, daha kısa reaksiyon süresi, düşük enerji girişi, normal tepki koşulları ve toksisite olmaması gibi birçok avantajı vardır (Senthivelan vd., 2016). Genel olarak enzimler doğada protein yapıda bulunmakta ve kirleticileri orijinal atık sudan diğer ana metabolitlere indirgeyebildikleri için çevre dostu katalitik maddelerdir. Bu nedenle boya dekolorizasyon proseslerinde enzim bazlı yöntemlerin kullanılması iyi bir alternatiftir (Othman vd., 2022).

Endüstriyel atık suların iyileştirilmesinde kullanılan enzimlerden biri olan lakkazlar (E.C. 1.10.3.2), lignin model bileşiklerinden hem fenolik ve hem de fenolik olmayan alt birimlerini oksitleyebilen en önemli ligninolitik oksidatif enzimlerden biri olarak kabul edilmektedir (Demiralp vd., 2015; Othman vd., 2022). Geniş substrat aralığı ve ikinci bir substrat olarak moleküler oksijeni kullanması, lakkazları endüstriyel uygulama için çekici adaylar haline getirmektedir. Lakkaz, gıda endüstrisinde, kağıt ve kağıt hamuru endüstrisinde, tekstil endüstrisinde, sentetik kimyada, kozmetikte, toprak biyoremediasyonunda ve çevresel fenolik kirleticilerin biyolojik bozunmasında, endokrin bozucuların uzaklaştırılmasında, biyosensör ve analitik uygulamalarda önemli rol oynamaktadır (Othman vd., 2022). Üreticileri de uygulama alanları kadar çeşitli olan lakkaz, bitkiler, mantarlar ve bakteriler tarafından üretilmektedir (Dai vd., 2021).

Deneyel çalışma koşullarında başarılı sonuçlar elde etmek üzere istatistiksel yazılımların yaygınlaşması ile deney planları ve istatistiksel testler sayesinde deney süreçlerinde maliyet ve zaman tasarrufu sağlanmaktadır. Deney tasarımı ve YYY, renk giderimini etkileyen uygun faktörleri tanımak ve optimize etmek için boya bozulma süreçlerinde kullanılacak değerli istatistiksel araçlardır (Ameenudeen vd., 2021). Deney tasarımı ve YYY yaklaşımları ile istatistiksel olarak geçerli ve tek seferde bir faktörü dikkate alan çalışmalara göre daha az maliyetli ve hızlı çözümler elde etmek mümkün olabilmektedir. İstek fonksiyonlarıyla optimizasyon yapan çalışmaların yanı sıra son yıllarda biyolojik süreçlerde metasezgiseller yoluyla da optimizasyon yapılan az sayıda çalışmaya rastlanmaktadır.

Tamamlanan tez çalışmasında, lakkaz enziminin seçilen boyarmaddelerin bulunduğu ortamdaki boya giderimini maksimum düzeyde azaltacağı koşullar araştırılmıştır. Lakkazın çevresel iyileştirme süreçlerinde kullanılabilirliğini değerlendirmek amacıyla tekstil endüstrisinde kullanılan boyaların biyolojik yıkımının optimizasyon çalışmaları, YYY içinde önemli bir yeri olan MKT çerçevesinde gerçekleştirilmiştir. Enzim miktarı, boya konsantrasyonu, çalkalama hızı ve süre parametreleri doğrultusunda RB49 ve RV1boya gideriminde *Trametes versicolor* lakkaz enziminin etkisi araştırılmıştır. Optimizasyon çalışmaları kapsamında, istek fonksiyonu yanı sıra, yeni bir metasezgisel yöntem olan DYA kullanılarak boya gideriminin en iyilendiği parametre seti tespit edilmiştir.



2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Atık sulardan renk/boya gideriminde farklı enzimler kullanılabilir. Çalışmanın ikinci bölümünde, atıksulardan renk/boya giderimini inceleyen literatür çalışmaları sunulmuş olup, incelenen çalışmalar çizelge haline getirilerek Çizelge 2.1’de verilmiştir.

Murugesan vd. (2007) Reactive Black 5 (RB5) boyasının renk giderimini beyaz küf mantarı *Pleurotus sajor-caju*’dan saflaştırılmış lakkaz enzimi kullanarak incelemiştir. Boya, enzim, 1-hydroxybenzotriazole (HBT) ve zaman bağımsız değişkenlerinin renk giderimi yanıtı üzerindeki etkisi Box-Behnken tasarımı kullanılarak araştırılmıştır. Çalışmada, 3 düzeyli 4 faktörden oluşan 29 deney yer almaktadır. Optimum boya, enzim, HBT ve süre konsantrasyonları, RB5’in maksimum renk giderimi için sırasıyla 62,5 mg l⁻¹, 2,5 U ml⁻¹, 1,5 mM ve 36 saat olarak bulunmuştur. Sonuçların tahmin edilen değerlerle uyum içinde olduğu görülmüştür.

Roriz vd. (2009) diazo boyası RB5’in beyaz küf mantarı *Trametes pubescens*’ten elde edilen ham lakkaz ile renksizleştirilmesini YYY’den MKT kullanarak optimize etmiştir. Çalışmada, 2 eksen noktalı ve merkez noktada 6 tekrarlı toplam 20 deneyden oluşan tasarım kullanılmıştır. HBT, boya ve enzim bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Analiz sonucunda optimum HBT, boya ve enzim konsantrasyonları maksimum RB5 renk giderimi için sırasıyla, 1,17 mM, 150 mg/l ve 500 U/l olarak bulunmuştur. Deneysel değerler tahmin edilenlerle iyi uyum içinde olduğundan model anlamlı bulunmuştur. Bağımsız değişkenlerin RB5 boyasının renk giderimi üzerindeki etkileri yanıt yüzey grafiği yardımıyla da görüntülenmiştir.

Tavares vd. (2009) üç reaktif tekstil boyası Reactive Blue 114 (RB114), Reactive Yellow 15 (RY15) ve Reactive Red 239 (RR239)’un lakkaz enzimi ile gideriminin araştırılmasında Box-Behnken tasarımı kullanmıştır. Çalışmada pH, sıcaklık ve enzim konsantrasyonu deney tasarımında kullanılacak faktörler olarak seçilmiştir. Boya giderimi ise yanıt değişken olarak belirlenmiştir. Çalışmada, üç faktörlü, merkez noktalarda üç tekrarlı 29 deney gerçekleştirilmiştir. Her bir boya için, her faktörün etkisini ve boya

giderimi üzerindeki etkileşimlerini gösteren matematiksel modeller geliştirilmiştir. Model, enzim konsantrasyonu, sıcaklık ve pH sırasıyla 109,8 U/L, 39,2 °C ve 6,6'ya ayarlandığında RY15 için %90'ın üzerinde bir renk gideriminin elde edilebileceğini öngörmüştür. RB114 ve RR239 için sıcaklık ve enzim konsantrasyonu renk giderimini etkilememiş ve optimum pH değeri sırasıyla 5,5-7,0 ve 7,0-7,5 olarak bulunmuştur. Tahmin edilen değerler ayrıca deneysel olarak da doğrulanmıştır. Yanıtların ortalama nihai değerleri, hesaplanan değerlerle uyum içinde olduğundan RY15, RB114 ve RR239 renk giderme modellerinin güvenilirliği onaylanmıştır.

Balan vd. (2012) Malachite Green (MG) boyasının renk giderimi için beyaz küf mantarı *Pleurotus florida* tarafından üretilen lakkaz enzimini kullanmıştır. MG'nin renk giderimini optimize etmek için MKT kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan bağımsız değişkenler boya, lakkaz, HBT ve süre olarak seçilmiştir. MG boyasının maksimum renk giderimi boya, lakkaz, HBT ve süre değişkenlerinin sırasıyla 95,80 ppm, 2,16 U/ml, 0,85 mM ve 3,02 saat olduğu durumda %96 bulunmuştur.

Daassi vd. (2012) bu çalışmada üç tekstil boyası RB5, Indigo Carmine (IC) ve Aniline Blue (AB)'nin beyaz küf mantarı *Trametes troglia*'den elde edilen ham lakkaz ile renk giderimini optimize etmek için YYY kullanmıştır. Çalışmada, 3 düzeyli 6 faktörden oluşan Box-Behnken tasarımına göre düzenlenmiş 54 deney yer almaktadır. Kullanılan değişkenler pH, sıcaklık, enzim konsantrasyonu, HBT konsantrasyonu, boya konsantrasyonu ve süre olarak belirlenmiştir. Deneysel değerler tahmin edilenlerle uyum içinde çıkmıştır. Sonuçlara göre bu mantarın, tekstil endüstrilerinin atık sularında bulunan tekstil boyalarının rengini açmak için büyük etkiye sahip olduğu belirtilmiştir.

Paz vd. (2017) Coomassie Blue G-250 (CBB), IC ve Remazol Brilliant Blue R (RBBR) ticari boyalarının *Bacillus aryabhatai DC100* tarafından bozulmasını incelemiştir. Çalışmada 23 deneyden oluşan Döndürülebilir MKT kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler sıcaklık, çalkalama ve tuzluluk seçilmiştir. Analiz sonuçlarına göre, 150 mg/l CBB sıcaklık 37 °C, çalkalama 304,09 rpm ve tuz konsantrasyonu 19,204 g/l iken tamamen boya giderimi göstermiştir. Sonuç olarak, *Bacillus aryabhatai DC100*'ün boyaları ucuz ve çevre dostu bir şekilde uzaklaştırmak için gerçek kirlenmiş atıklara uygulanabilen biyolojik arıtma olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir.

Shanmugam vd. (2017) *Trichoderma asperellum*'dan elde edilen lakkaz ile potansiyel olarak toksik bir boya olan MG'nin biyodegradasyon sürecini MKT kullanarak araştırmıştır. Çalışmada bağımsız değişkenler enzim konsantrasyonu, boya konsantrasyonu, süre ve pH olarak belirlenmiştir. 5 düzeyli 4 faktör olmak üzere 30 deneyden oluşan bir tasarım kullanılmıştır. Analiz sonucuna göre optimum koşullar enzim konsantrasyonu 1,50 U/ml, boya konsantrasyonu 122,66 mg/l, pH 6,75 ve süre 98,58 dakika iken MG'nin maksimum degradasyonu %97,18 elde edilmiştir.

Kamani vd. (2018) lakkaz aracılı sistem ile sulu çözeltilerden Direct Red 81 (DR81) giderimini incelemiştir. Çalışmada bağımsız değişkenler pH, lakkaz dozu ve ABTS dozu olarak belirlenmiş olup, Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. Analiz sonucunda en iyi koşullar pH 5, lakkaz dozu 0,2 U ml⁻¹, ABTS dozu 0,2 mM olarak belirlenmiş ve %95,5 giderim elde edilmiştir. Lakkazın sulu çözeltilerden boyaların giderilmesi için yeşil bir teknoloji olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Mehrabian vd. (2018) Direct Blue 71 (DB71)'in lakkaz ile sulu çözeltilerden giderimini Box-Behnken tasarımı kullanarak araştırmıştır. Bağımsız değişkenler, pH, lakkaz dozu, ABTS dozu olarak belirlenmiş olup, analiz sonucunda %83 giderim elde edilmiştir. Çalışmada, atık sudan DB71'in giderilmesinde lakkaz enzimi kullanımının faydalı olabileceği belirtilmiştir.

Othman vd. (2018) Cibacron Blue 3G-A boyasının *Agaricus bisporus CU13*'den elde edilen lakkaz ile renk giderimini incelemiştir. Lakkaz aktivitesi, boya konsantrasyonu, süre ve HBT konsantrasyonu bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Koşullar MKT kullanılarak süre 35 dakika, lakkaz aktivitesi 0,5 U/ml, boya konsantrasyonu 92,19 rpm ve HBT 1 mM olarak bulunmuştur.

Ashrafi vd. (2019) beyaz kök mantarı *Trametes versicolor*'dan elde edilen lakkaz enzimi kullanılarak, yaygın kullanılan endüstriyel azo boya Basic Blue 41 (BB41)'in sulu çözeltilerden giderilmesini araştırmıştır. Çalışmada 3 faktörlü, merkez noktada 3 tekrarlı toplam 15 deney setinden oluşan Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler pH, lakkaz dozu ve ABTS dozu olarak seçilmiştir. Analiz sonucunda pH 5, lakkaz dozu 0,2 U ml⁻¹ ve ABTS dozu 0,2 mM iken test edilen çözeltilerde BB41 gözlenmemiş ve nihai çözelti

tamamen renksiz olmuştur. Çalışma, lakkaz enziminin optimum koşullar altında BB41 boyasını sulu çözeltilerden uzaklaştırabildiğini göstermiştir.

Kashefi vd. (2019) azo boyası Direct Red 23 (DR23) ve Acid Blue 92 (AB92)'nin renk giderimini *Aspergillus*'dan elde edilen lakkaz enzimi kullanarak gerçekleştirmiştir. Çalışmada merkez noktada 6 tekrarlı, 6 eksen noktasına sahip 2 düzeyli 3 faktör olmak üzere toplam 20 deneyden oluşan MKT yaklaşımı kullanılmıştır. Renk giderme sürecini maksimize etmek için optimum koşullar AB92 için boya konsantrasyonu 11,85 mg l⁻¹, pH 5,10 ve enzim dozajı 97,89 mg l⁻¹ iken %95,60 olarak belirlenmiştir. Her iki boya için optimum koşullar, enzimatik renk gidermenin daha düşük boya konsantrasyonunu desteklediğini göstermiştir. Her iki boya için bağımsız parametrelerin ilgili deney aralıklarındaki önem sırası enzim dozajı> boya konsantrasyonu> pH şeklindedir. Elde edilen optimum çalışma koşullarına bağlı olarak yüksek enzim dozajı, düşük boya konsantrasyonu ve asidik pH değerinde yüksek renk giderme verimi elde edilebileceği belirtilmiştir.

Kumar vd. (2019) *Bacillus pseudomycoides* ile Acid Black (AB24) boyasının maksimum renk giderimi için optimum koşulların belirlenmesi üzerinde çalışmıştır. Koşulları optimize etmek için Box-Behnken deney tasarımı kullanılmıştır. Çalışmada pH, sıcaklık, boya konsantrasyonu bağımsız değişkenler olarak seçilmiştir. Optimum koşulların pH, sıcaklık, boya konsantrasyonu için sırasıyla 7, 37 °C ve 40 mg l⁻¹ olduğu durumda, %96,79 renk giderimi elde edilmiştir. *Bacillus pseudomycoides*'in sentetik boyaların giderilmesi için ucuz bir arıtma yöntemi olarak değerlendirilebileceği ve geliştirmekte olan ülkelerde atık suda bulunan kirleticilerin arıtılması için pratik bir çözüm olarak kullanılabileceği belirtilmiştir.

Valliyaparambil vd. (2019) Remazol Brilliant Violet 5R (RBV-5R) boyasının *Pleurotus ostreatus PKN04*'den saflaştırılmış lakkaz ile renk giderimini sağlamak üzere en uygun koşulları elde etmeyi amaçlamışlardır. Renk giderme sürecini optimize etmek için pH, sıcaklık, inkübasyon süresi, çalkalama, boya konsantrasyonu ve enzim konsantrasyonu bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Çalışmada 86 deneyden oluşan MKT kullanılmıştır. Renk giderimi pH 6, sıcaklık 40 °C, inkübasyon süresi 60 dakika, çalkalama 50 rpm, boya konsantrasyonu 50 ppm ve enzim konsantrasyonu 100 IU/ml iken %95,72 olarak elde edilmiştir.

El-Badan vd. (2020) *Escherichia coli* NG188 kullanarak Remazol Brilliant Blue (RB) tekstil boyasının giderimini incelemiştir. Boya giderimini etkileyen önemli faktörleri seçmek için Plackett-Burman tasarımı kullanılmıştır. K_2HPO_4 , KH_2PO_4 ve glikoz renk giderimini etkileyen faktörler olarak seçilmiştir. Box-Behnken tasarımı kullanılarak gerçekleştirilen deneyler sonucunda K_2HPO_4 15 g/l, KH_2PO_4 4,5 g/l ve glikoz 15 g/l iken optimum renk giderimi %100 olarak gözlenmiştir.

Mohammed ve Mabrouk (2020) Methylene Blue (MB), MG ve Safranin (S) olmak üzere üç farklı boyanın renk giderimi için *Aspergillus terreus* YESM 3'ün potansiyelini incelemiştir. İncelenen mikroorganizmanın boyalara karşı tolerans indeksinin sırasıyla MB, S ve MG şeklinde azaldığı görülmüştür. Toplam 15 deneyden oluşan Box-Behnken tasarımı kullanılarak MB giderimi iyileştirilmiştir. Çalışmada bağımsız değişkenler MB konsantrasyonu, pH, inokulum boyutu olarak seçilmiştir. Analiz sonucunda %89,41 giderim elde edilmiştir. Çalışma sonucunda, *Aspergillus terreus* YESM 3'ün, atık sudaki MB boyasının biyoremediasyonu ve çevre kirliliğinin giderilmesi için profesyonel olarak kullanılabilmesi belirtilmiştir.

Rana ve Chakraborty (2020) Brilliant Red HE7B, Green HE4B, Red M5B, Turquoise Blue H5G ve Yellow M3R reaktif boyaalarının renk giderimi için lakkazın etkisini incelemiştir. Optimum koşulların belirlenmesi için 4 faktörlü 3 seviyeden oluşan Box-Behnken deney tasarımı kullanılmıştır. Boya konsantrasyonu, lakkaz konsantrasyonu, sıcaklık ve süre giderim üzerinde etkili faktörler olarak seçilmiştir. Analiz sonucunda Green HE4B için %80'in üzerinde renk giderimi gözlenmiştir. Diğer boyalar için 72 saat içinde %85-90'a varan giderim elde edilmiştir. Sonuçlara göre, su kirliliğini önlemek için boya renk gideriminde lakkazın etkin bir şekilde kullanılabilmesi belirtilmiştir.

Amenudeen vd. (2021) reaktif azo boyaaları Reactive Black 5 (B-GDN), Reactive Red 120 (RP) ve Reactive Blue 19 (RNB)'un biyolojik olarak bozulmasını *Acinetobacter baumannii* JC359 kullanarak incelemiştir. Çalışmada 3 seviyeli 3 faktörden oluşan Box-Behnken tasarımında, sıcaklık, inkübasyon süresi, inokulum hacmi bağımsız değişkenler olarak belirlenmiştir. Analiz sonucunda B-GBN için %98,8, RP için %96 ve RNB için %96,2 renk giderimi gözlenmiştir. Etkileşimlerin görüntülenmesi için yanıt yüzey grafikleri kullanılmıştır.

Ghosh vd. (2021) izole edilmiş bir mantar olan *Aspergillus flavus PUF5*'i lakkaz enzimi üretmek için kullanmış ve ticari olarak kullanılan beş tekstil boyasının, Phenol Red (PSP), Methyl Orange (MO), MG, Bromophenol Blue (BPB) ve Congo Red (CR) giderimini incelemiştir. Boya konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, pH ve HBT giderim üzerinde etkili faktörler olarak seçilmiştir. Box-Behnken tasarımı analiz sonuçlarına göre, boya konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, pH ve HBT sırasıyla 6,04 µM, 78,8 U/ml, 5,6 ve 1,07 mM olduğunda boyaların maksimum renk giderimi %86,3 olmuştur. Etkileşimlerin görüntülenmesi için yanıt yüzey grafikleri kullanılmıştır. Çalışma sonucunda lakkazın tekstil endüstrisi atık sularında bulunan boyaların giderilmesi için potansiyel bir enzim olduğu belirtilmiştir.

Hanapi vd. (2021) yerel tekstil atık su artıma tesisinden izole edilen *Bacillus cereus* tarafından tekstil boya atıklarından boya ve kimyasal oksijen ihtiyacı (KOİ) giderimini incelemiştir. Çalışmada bağımsız değişkenler pH, bakteriyel inoklum konsantrasyonu ve çalkalama hızı olarak belirlenmiştir. Boya ve KOİ giderimi yanıt değişkeni olarak seçilmiştir. Faktörlerin değerlendirilmesi için 20 deneyden oluşan MKT yöntemi kullanılmıştır. Gerçekleştirilen deneyler sonucunda en iyi boya giderimi düşük pH ve çalkalama hızı ile orta düzeyde bakteri inoklum konsantrasyonunda %88,67 olarak elde edilmiştir. En yüksek KOİ giderimi ise yüksek pH (10), düşük çalkalama hızı (100 rpm) ve yüksek düzeyde bakteri inoklum konsantrasyonunda (%15 v/v), %99,20 elde edilmiştir.

Iqbal vd. (2021) yerel olarak izole edilmiş beyaz çürüklük mantarı *Pleurotus ostreatus-PI* tarafından tekstil atıklarından fenolik bileşiklerin ve sentetik boyaların yok edilmesini incelemiştir. Çalışmada 15 deneyden oluşan Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. Bağımsız değişkenler pH, sıcaklık ve lakkaz aktivitesi olarak seçilmiştir. Analizler sonucunda en iyi koşullar sıcaklık 25°C, pH 5 ve lakkaz aktivitesi 13,5 U/ml olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında %90 renk giderimi sağlanmıştır.

Yadav vd. (2021) Remazol Brilliant Blue R (RBBR) boyasının *Arthrographis Kalrae*'den elde edilen lakkaz enzimi ile giderimini Box-Behnken deney tasarımı kullanarak incelemiştir. Çalışmada boya konsantrasyonu, sıcaklık, pH ve süre, giderim üzerinde etkili faktörler olarak seçilmiştir. En iyi koşullar pH 7, sıcaklık 35°C, süre 240 dk

ve boya konsantrasyonu 100 mg l^{-1} olarak belirlenmiştir. Bu koşullarda boya giderimi %97,18 elde edilmiştir.

Ayed vd. (2022) *Coriolopsis gallica*'dan elde edilen lakkaz ile RB5 azo boyasının renk giderimini incelemiştir. Çalışmada 46 deneyden oluşan Box-Behnken tasarımı kullanılmıştır. Tasarımda kullanılan beş faktör lakkaz aktivitesi, başlangıç boya konsantrasyonu, HBT konsantrasyonu, pH ve sıcaklık olarak belirlenmiştir. 120 dakika sonunda en iyi koşullar lakkaz aktivitesi 5 U l^{-1} , boya konsantrasyonu 25 mg l^{-1} , HBT konsantrasyonu 4,5 mM, pH 4,2 ve sıcaklık 55°C olarak belirlenmiştir. Bu koşullar altında maksimum renk giderimi $\%82 \pm 0.6$ elde edilmiştir.



Çizelge 2.1. Enzim kullanılarak renk/boya giderimi yapılan çalışmalar

Referans	Biyosorbent/Enzim	Optimizasyon Yöntemi	Faktör	Yanıt	Boya	Kullanılan Yazılım
Murugesan vd. (2007)	<i>Pleurotus sajor-caju</i>	Box-Behnken	boya, enzim, HBT, zaman	Boya giderimi	RB5	Design Expert
Roriz vd. (2009)	<i>Trametes pubescens</i>	MKT	HBT, boya, enzim	Boya giderimi	RB5	Design Expert
Tavares vd. (2009)	<i>Aspergillus</i>	Box-Behnken	pH, sıcaklık, enzim konsantrasyonu	Boya giderimi	RB114,RY15, RR239	Statistica
Balan vd. (2012)	<i>Pleurotus florida NCIM 1243</i>	MKT	boya, lakkaz, HBT, zaman	Boya giderimi	MG	Design Expert
Daassi vd. (2012)	<i>Trametes trogii</i>	Box-Behnken	pH, sıcaklık, enzim konsantrasyonu, HBT konsantrasyonu, boya konsantrasyonu, inkübasyon süresi	Boya giderimi	RB5, IC, AB	Design Expert
Paz vd. (2017)	<i>Bacillus aryabhatai DC100</i>	MKT	sıcaklık, çalkalama, tuzluluk	Boya giderimi	CBB	Design Expert
Shanmugam vd. (2017)	<i>Trichoderma asperellum</i>	MKT	enzim konsantrasyonu, boya konsantrasyonu, zaman, pH	Boya giderimi	MG	Design Expert
Kamani vd. (2018)	<i>Trametes versicolor</i>	Box-Behnken	pH, lakkaz dozu, ABTS dozu	Boya giderimi	DR81	Design Expert
Mehrabian vd. (2018)	<i>Trametes versicolor</i>	Box-Behnken	pH, lakkaz dozu, ABTS dozu	Boya giderimi	DR71	Design Expert
Othman vd. (2018)	<i>Agaricus bisporus CU13</i>	MKT	lakkaz aktivitesi, boya konsantrasyonu, zaman, HBT konsantrasyonu	Boya giderimi	Cibacron Blue 3G-A	Design Expert
Ashrafi vd. (2019)	<i>Trametes versicolor</i>	Box-Behnken	pH, lakkaz dozu, ABTS dozu	Boya giderimi	BB41	Design Expert
Kashefi vd. (2019)	<i>Aspergillus</i>	MKT	boya konsantrasyonu, pH, enzim dozu	Renk giderimi	DR23, AB92	Design Expert

Çizelge 2.1. Enzim kullanılarak renk/boya giderimi yapılan çalışmalar (devam)

Referans	Biyosorbent/Enzim	Optimizasyon Yöntemi	Faktör	Yanıt	Boya	Kullanılan Yöntem
Kumar vd. (2019)	<i>Bacillus pseudomycoides</i>	Box-Behnken	pH, sıcaklık, boya konsantrasyonu	Renk giderimi	AB24	Design Expert
Valliyaparambil vd. (2019)	<i>Pleurotus ostreatus PKN04</i>	MKT	pH, sıcaklık, inkübasyon süresi, çalkalama, boya konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu	Boya giderimi	RBV-5R	Design Expert
El-Badan vd. (2020)	<i>Escherichia coli NG188</i>	Box-Behnken	K_2HPO_4 , KH_2PO_4 , glikoz	Renk giderimi	RB	Statistica
Mohammed ve Mabrouk (2020)	<i>Aspergillus terreus YESM 3</i>	Box-Behnken	MB konsantrasyonu, pH, inokulum boyutu	Renk giderimi	MB	Minitab
Rana ve Chakraborty (2020)	Ticari lakkaz	Box-Behnken	boya konsantrasyonu, lakkaz konsantrasyonu, sıcaklık, zaman	Renk giderimi	Green HE4B	Design Expert
Ameenudeen vd. (2021)	<i>Acinetobacter baumannii JC359</i>	Box-Behnken	sıcaklık, inkübasyon süresi, inokulum hacmi	Boya giderimi	B-GDN, RP, RNB	Design Expert
Ghosh vd. (2021)	<i>Aspergillus flavus PUF5</i>	Box-Behnken	boya konsantrasyonu, enzim konsantrasyonu, pH, HBT	Renk giderimi	PSP, MO, MG, BPB, CR	Design Expert
Hanapi vd. (2021)	<i>Bacillus cereus</i>	MKT	pH, bakteriyel inokulum konsantrasyonu, çalkalama hızı	Boya ve KOİ giderimi	-	Design Expert
Iqbal vd. (2021)	<i>Pleurotus ostreatus P1</i>	Box-Behnken	pH, sıcaklık, lakkaz aktivitesi	Renk giderimi	-	Design Expert
Yadav vd. (2021)	<i>Arthrographis kalrae</i>	Box-Behnken	boya konsantrasyonu, sıcaklık, pH, süre	Boya giderimi	RBBR	Design Expert
Ayed vd. (2022)	<i>Coriolopsis gallica</i>	Box-Behnken	lakkaz aktivitesi, boya konsantrasyonu, HBT konsantrasyonu, pH, sıcaklık	Renk giderimi	RB5	Design Expert

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Kimyasallar

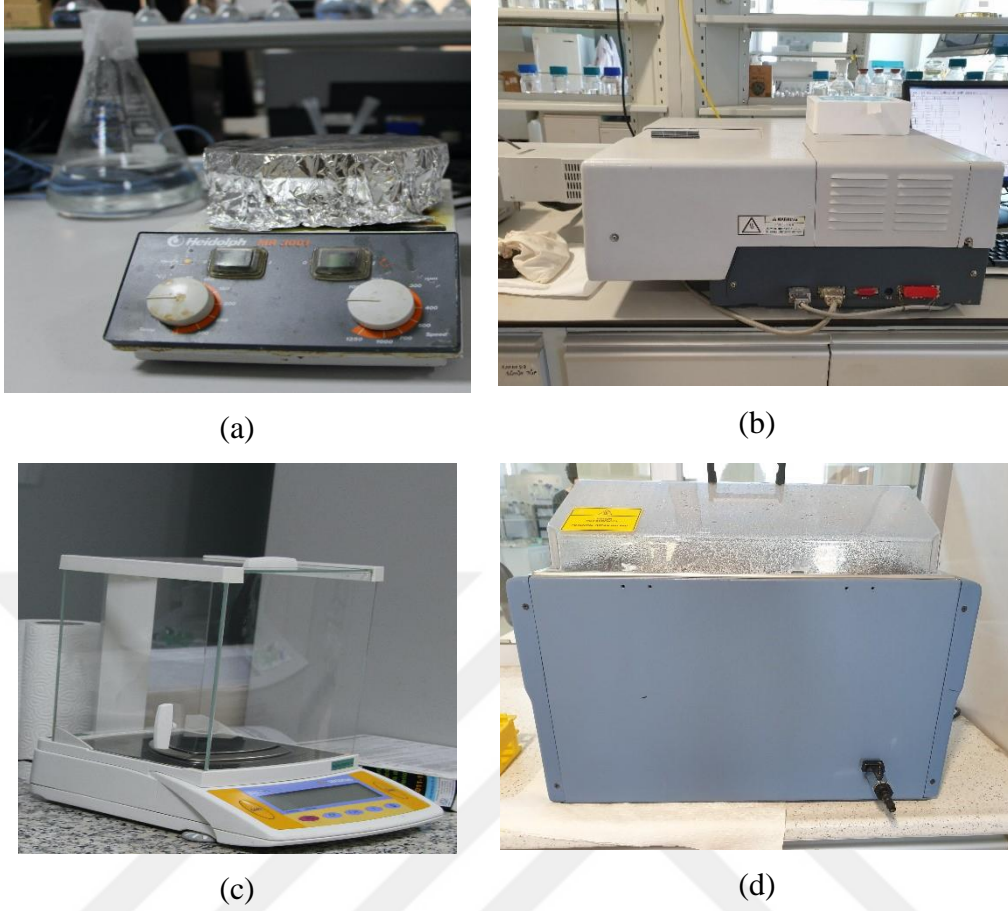
Çalışmada kullanılan Sodyum Asetat, Asetik Asit Sigma Aldrich firmasından, lakkaz enzimi (*Trametes versicolor*) ise ESOGÜ Biyoteknoloji Laboratuvarı'ndan temin edilmiştir.

Çalışmalar suda çözülebilir özellikteki RB49 ve RV1 boyarmaddelerinden hazırlanan çözeltiler ile gerçekleştirilmiştir. Boyarmaddeler Sarar firmasından temin edilmiştir.

3.1.2 Çalışmada kullanılan cihazlar

Gerçekleştirilen çalışmada kullanılan cihazlara ilişkin görüntülere Şekil 3.1'de yer verilmiştir ve açıklamalar izleyen şekildedir:

- Manyetik Karıştırıcı (Heidolph, Almanya): Tampon ve boyarmaddelerin homojen olarak hazırlanmasında kullanılmıştır.
- UV-Visible Spektrofotometre (Shimadzu, Japonya): Renk gideriminin tespit edilmesi için 587 ve 558,5 dalga boylarında absorpsiyon ölçümü için kullanılmıştır.
- Hassas Terazî (Sartorius, Almanya): Deneylerde kullanılan kimyasal ve boyarmaddelerin tartımı için kullanılmıştır.
- Su Banyosu (Memmert, Almanya): Biyodegradasyon deneylerini gerçekleştirmek için kullanılmıştır.



Şekil 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlara ait görüntüler: a) manyetik karıştırıcı, b) UV-Visible spektrofotometre, c) hassas terazi, d) su banyosu.

3.2 Yöntem

3.2.1 Tamponların hazırlanması

Biyodegradasyon deneylerinde sodyum asetat asetik asit tamponu kullanılmıştır. Enzimin optimum pH'ı 3 olduğu için bu değerde tampon hazırlanmıştır. Bunun için 0,3 ml 2M sodyum asetat üzerine 9,7 ml 2M asetik asit eklenmiş ve 100 ml'ye tamamlanmıştır. 2M sodyum asetat, 16,40686 g tartılarak distile su ile 100 ml'ye tamamlanması sonucunda hazırlanmıştır. 2M asetik asit ise 11,46 ml asetik asitin distile su ile 100 ml'ye tamamlanması ile hazırlanmıştır (Perrin ve Dempsey, 1974).

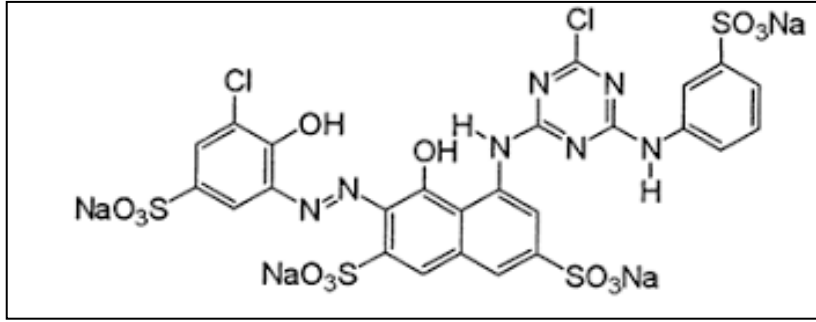
3.2.2 Stok boyarmadde çözeltilerinin hazırlanması

Optimizasyon çalışmalarında tekstil endüstrisinde kullanıldığı bilinen RB49 ve RV1 olmak üzere iki farklı boyarmadde kullanılmıştır. Boyarmaddelerin stok çözeltisi her birinden 1'er gr tartılarak 1000 ml pH 3 olan tamponda çözülerek hazırlanmıştır. Stok çözeltilerin derişimi 1 g/L (1000 ppm) olarak kabul edilmiştir. Optimizasyon çalışmalarında belirlenen değerlerdeki boyarmadde konsantrasyonları stok çözeltinin seyreltilmesi ile hazırlanmıştır. Her bir boyarmadde için en yüksek absorbands değerinin gözlendiği dalga boyları Shimadzu 2550 UV-visible spektrofotometre ile belirlenmiştir. Çalışmanın ilerleyen aşamalarında her bir boyarmadde için belirlenmiş dalga boylarında çalışılmıştır (Katar vd., 2017; Çelik vd., 2021).

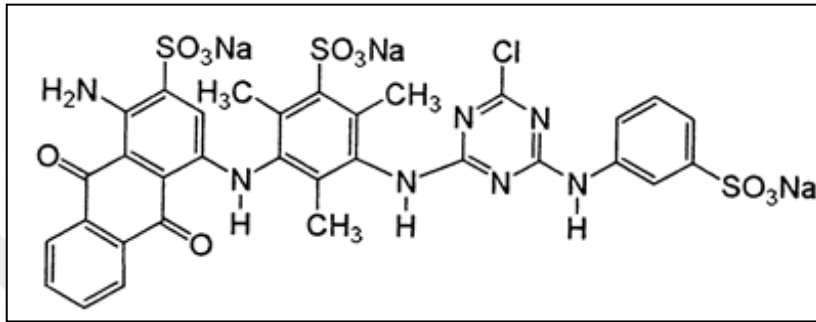
Tez çalışmasında RB49 ve RV1 olmak üzere iki farklı boyarmadde kullanılmıştır. Boyarmaddelere ait özellikler Çizelge 3.1'de, kimyasal yapılar ise sırasıyla Şekil 3.2 (a) ve 3.2 (b)'de verilmiştir (Akar vd., 2009).

Çizelge 3.1. Boyarmaddelerin özellikleri

Boyarmadde	Kimyasal Formülü	Moleküler Ağırlık	Boyarmadde Yapısı	Dalga Boyu (λ_{max})
RB49	$C_{32}H_{23}ClN_7Na_3O_{11}S_3$	882,19	Azo	587
RV1	$C_{25}H_{13}Cl_2N_7Na_4O_{14}S_4$	926,54	Azo	558,5



(a)



(b)

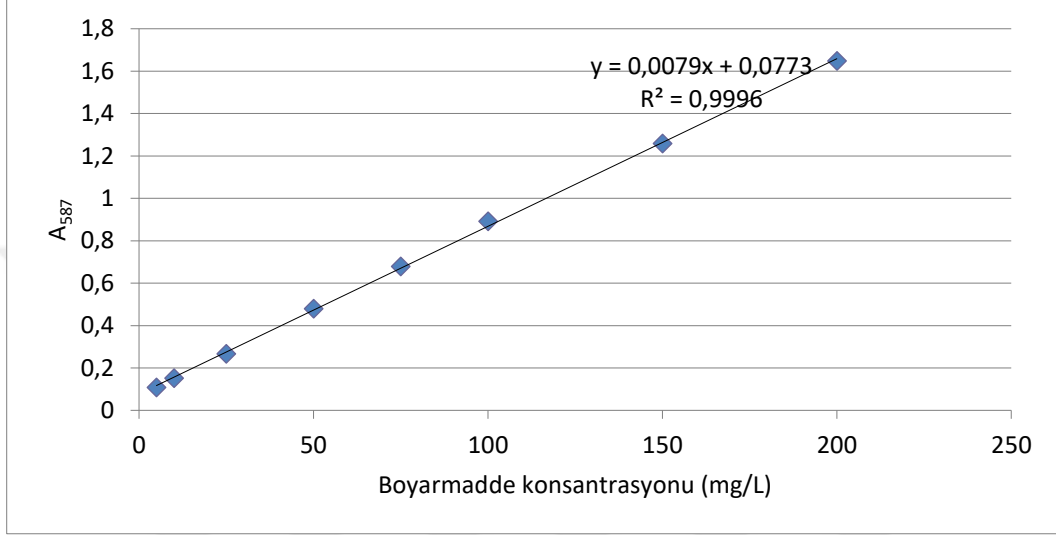
Şekil 3.2. Boyarmaddelerin açık formülleri: a) RB49, b) RV1.

3.2.3 Biyodegradasyon deneyleri

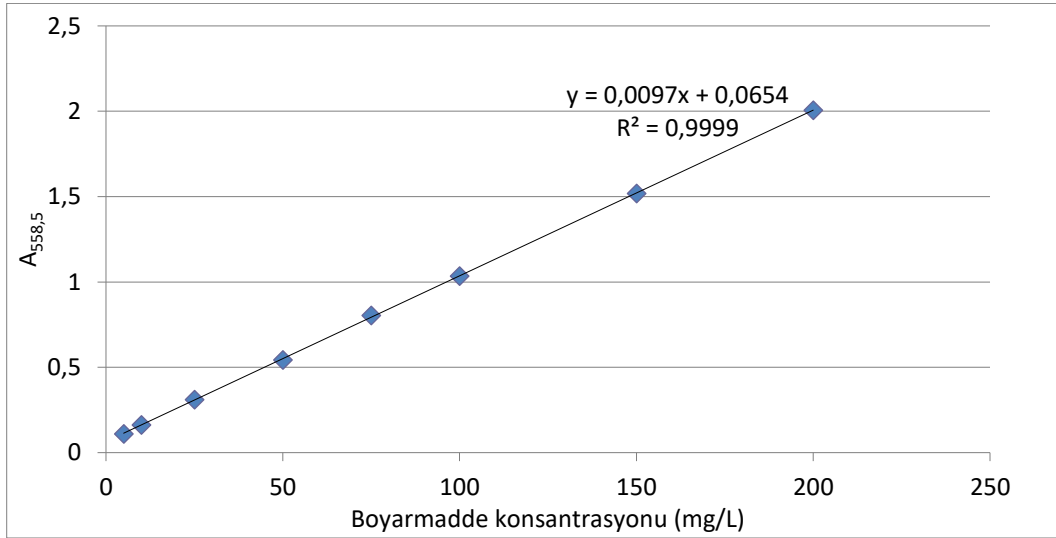
Aktivitesi 22,560 U/ml olan *Trametes versicolor*'dan üretilen lakkaz herhangi bir modifikasyona uğratılmaksızın ham hali ile iki boyarmaddenin biyodegradasyon potansiyelini araştırmak amacıyla kullanılmıştır. Deney süresi boyunca reaksiyon sıcaklığı enzimin optimum sıcaklığı olan 37°C'de sabit tutulmuştur. Reaksiyonlar, hacmi 10 ml olacak şekilde düzenlenmiş ve 3 tekrarlı olarak MKT yöntemi ile belirlenen koşullara göre gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon başlangıcında ve sonunda absorbans değerleri spektrofotometrede her bir boyarmadde için belirlenen dalga boylarında (RB49 için 587 nm, RV1 için 558,5 nm) okunmuştur. Elde edilen absorbans değerleri Şekil 3.3'te verilen standart eğrilerden oluşturulan denklemde yerine yazılarak renk giderim düzeyleri belirlenmiştir. Giderimi hesaplamak için denklem (3.1)'den faydalanılmıştır (Kamani vd., 2018).

$$\% \text{Boya giderimi} = \frac{c_0 - c_t}{c_0} \times 100 \quad (3.1)$$

Burada, c_0 başlangıç konsantrasyonu (mg/L), c_t deney sonunda ortamda kalan konsantrasyon (mg/L)'dur.

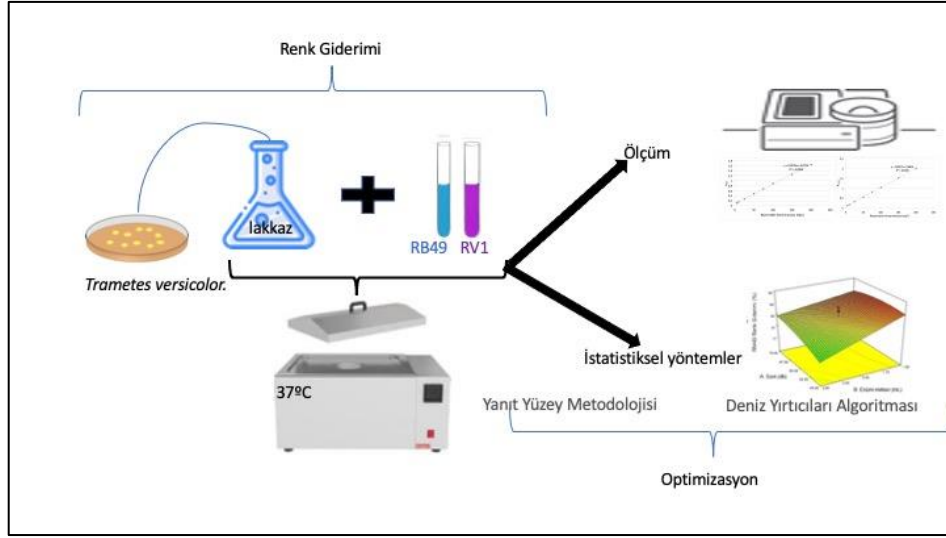


(a)



(b)

Şekil 3.3. Boyarmaddelerin standart eğrileri: a) RB49, b) RV1.



Şekil 3.4. Deneyin şematik gösterimi

3.2.4 Yanıt Yüzey Yöntemi (YYY)

Yanıt yüzey yöntemi, kimya endüstrisindeki üretim süreçlerinin iyileştirilmesine yardımcı olmak için 1951’de Box ve Wilson tarafından geliştirilmiştir (Dean vd., 2022). Bu yöntem, başta gıda olmak üzere sağlık, farmakoloji, savunma sanayi, biyoteknoloji, kimya ve mühendislik gibi birçok alanda kullanılmaktadır.

Montgomery’e (1996) göre, YYY deney tasarlamak, modeller oluşturmak, değişkenlerin etkilerini değerlendirmek ve hedeflenen bir yanıtı tahmin etmek için değişkenlerin optimum koşullarını belirlemek amacıyla kullanılan bir dizi istatistiksel tekniktir (Saraç vd., 2017). Redhwan vd.ne (2020) göre, YYY, faktörler ve yanıtlar arasında matematiksel modelleme oluşturmak ve belirli bir süreçte yanıtı etkileyen faktörlerin nedenini tanımak için kullanılan hem matematiksel hem de istatistiksel yöntemlerin bir kombinasyonudur. YYY, ayrıca deneysel girdilerden etkilenen hem modellemeye hem de yanıt yüzeyini optimize etmeye dayalı mühendislik problemlerini değerlendirmek için pratik bir yöntem olarak bilinir. YYY, kirletici maddelerin giderim oranının optimizasyonu için etkin bir şekilde kullanılan, çeşitli düzeylerde çok sayıda faktör arasındaki etkileri incelemek için öne çıkan bir istatistiksel tekniktir. Diğer optimizasyon süreçleriyle karşılaştırıldığında YYY’nin birden fazla parametreyi değerlendirmek için gereken deney sayısını azaltarak enerji, zaman ve kaynak tasarrufu sağlama gibi birçok avantajı vardır (Khatoon vd., 2020).

YYY uygulanma aşamaları (Bezerra vd., 2008; Bashir vd., 2012);

1. Tarama çalışmaları ve deneysel bölgenin sınırlandırılması yoluyla sistemdeki en önemli değişkenlerin ve düzeylerinin seçilmesi,
2. Deneysel tasarımın seçimi ve seçilen deney matrisine uygun olarak deneylerin gerçekleştirilmesi,
3. Elde edilen deneysel verilerin polinomal bir fonksiyona uydurularak matematiksel ve istatistiksel işlemlerin gerçekleştirilmesi,
4. Modelin uygunluğunun değerlendirilmesi,
5. Optimal bölge yönüne doğru bir yer değişiminin gerçekleştirilme olasılığı ve gerekliliğinin doğrulanması,
6. İncelenen her değişken için optimum değerlerin elde edilmesi şeklinde özetlenmiştir.

YYY, deney tasarımından elde edilen deneysel verilere göre modeller sağlar. Yanıt doğrusal bir fonksiyona dayalı olarak modellenirse elde edilen yanıtlar denklem (3.2)'ye uygundur. Bu nedenle yanıtlarda eğrilik olmamalıdır (Imanian ve Biglari, 2022). Burada y ; tahmin edilen yanıtı, β_0 ; sabit terimi, x_1, x_2, \dots, x_k değişkenleri, β_k ; lineer k . değişkenin katsayısını ve ε deneylerle ilişkin kalıntıyı temsil eder.

$$y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \dots + \varepsilon \quad (3.2)$$

Sistemde bir eğrilik varsa, yanıtları tahmin etmek için eğriliği içeren denklem (3.3)'deki gibi ikinci dereceden model uygundur. Burada β_{ii} ; ikinci dereceden değişkenin katsayısını, β_{ij} ; değişkenlerin etkileşiminin katsayısını temsil eder.

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_1 x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{1 \leq i < j}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (3.3)$$

Yanıt yüzey yönteminin MKT, Box-Behnken, karışım tasarımı gibi farklı türleri bulunmaktadır.

Merkezi Kompozit Tasarım (MKT)

Merkezi kompozit tasarım, deney tasarımında yaygın olarak kullanılan YYY kapsamında bir yöntemdir. MKT, deneyde kullanılan değişkenlere bağlı olarak ikinci dereceden bir polinom derecesini takip eder. MKT, 3^k faktöriyel tasarım ve Box-Behnken tasarımı dışında en sık kullanılan ikinci dereceden tasarımdır (Hanapi vd., 2021).

MKT, elde edilen bilgiler ve gerçekleştirilen deneyin doğruluğu açısından klasik yaklaşıma göre daha avantajlıdır (Priyadharshini ve Bakthavatsalam, 2016). Shanmugam vd.ne (2017) göre, MKT, değişkenler arasındaki etkileşimi değerlendirmek için kullanılan standart, güvenilir ve popüler bir tasarım olarak tanımlanmıştır. MKT, seçilen tasarıma, faktörlere ve seviyelere göre istatistiksel olarak tasarlanmış deneylerin gerçekleştirilmesi; yanıt tahmin etmek ve yeterliliğini kontrol etmek için matematiksel modelin katsayılarını tahmin etme adımlarını içerir (Balan vd., 2012).

MKT deney stratejisi Box ve Wilson tarafından 1951 yılında 3^k faktöriyel tasarımlara alternatif olarak bulunmuştur. MKT deney stratejisi düzeyleri genellikle -1 ve +1 şeklinde kodlanan 2^k faktöriyel bölümden, n_c sayıda ve düzeyi 0 olarak kodlanan merkez noktadan ve merkez noktadan α kadar uzaklıkta $2k$ sayıda eksen (yıldız) noktadan oluşur. Gerçekleştirilecek olan toplam deney sayısı $N=2^k+2k+n_c$ şeklinde hesaplanır (Er, 2016). Toplam deney sayısı (N), faktörlerin sayısına ve merkez noktaların sayısına (n_c) bağlıdır. Merkez noktaların makul sayısı genellikle üç ile beş arasındadır (Hang vd., 2011). Alfa (α), deneysel tasarım uzayında eksen noktalarının konumunu tanımladığı için belirlenmesi gereken bir parametredir. Bu yüzden α denklem (3.4)'den hesaplanır (Shiravi vd., 2022).

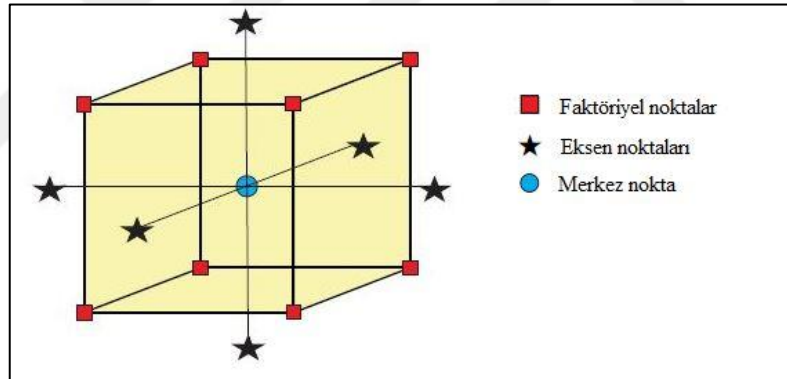
$$\alpha = (2^k)^{1/4} \quad (3.4)$$

$k=2$, $\alpha=\sqrt{2}$ ve $n_c=2$ iken MKT deney matrisi örneği Çizelge 3.2'deki gibidir (Hanapi vd., 2021.)

Çizelge 3.2. 2 faktörlü MKT düzeni

$$D = \begin{bmatrix} -1 & -1 \\ 1 & -1 \\ -1 & 1 \\ 1 & 1 \\ -\sqrt{2} & 0 \\ \sqrt{2} & 0 \\ 0 & -\sqrt{2} \\ 0 & \sqrt{2} \\ 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix}$$

Şekil 3.5'te üç değişken için merkezi kompozit tasarım gösterilmiştir.



Şekil 3.5. 3 değişken için MKT deneysel noktaları ve tasarım uzayı (Imanian ve Biglari, 2022)

3.2.5. Deniz Yırtıcıları Algoritması (DYA)

Deniz yırtıcıları algoritması, en son ve en yeni metasezgisel algoritmadır. DYA, deniz yırtıcılarından (köpekbalıkları, monitör kertenkeleleri, güneş balığı, at balığı vb.) ilham alınarak 2020'de Faramarzi ve ark. tarafından geliştirilmiştir. DYA, deniz yırtıcıları arasındaki farklı yiyecek arama stratejilerine ve biyolojik etkileşimde optimal karşılaşma oranı politikasına dayanır. Lévy ve Brownian hareketi, optimal yiyecek arama için deniz yırtıcıları tarafından kullanılan iki tür harekettir. Avın hareket tipine ve hızına bağlı olarak, bir avcı için av ile karşılaşma oranını en üst düzeye çıkaracak şekilde optimal bir hareket

politikası vardır. Deniz yırtıcıları av yoğunluğunun düşük olduğu alanlarda Lévy hareketini, av yoğunluğunun yüksek olduğu alanlarda Brownian hareketini kullanırlar (Faramarzi vd., 2020; Abd Elminaam vd., 2021). Deniz yırtıcıları av ile karşılaşma oranlarını artırmak için en güçlü olanın yaşamını sürdürmesi ilkesini izler. Av-avcı arasındaki hız oranı, optimizasyon sürecini bir aşamadan diğerine aktarmada kilit faktördür (Soliman vd., 2020).

Metasezgisellerin çoğuna benzer şekilde DYA da popülasyon tabanlı bir optimizasyon yöntemidir. DYA başlangıç çözümü denklem (3.5)'te gösterildiği gibi arama uzayında rasgele ve düzgün dağılımlı seçilir. Denklem 3.5'teki X_{min} ve X_{max} , değişkenler için alt ve üst sınırdır. $rand$ ise 0 ile 1 aralığında rasgele vektördür.

$$X_0 = X_{min} + rand (X_{max} - X_{min}) \quad (3.5)$$

En güçlü olanın yaşamını sürdürme teorisine göre, doğadaki en iyi yırtıcıların yiyecek arama konusunda daha yetenekli olduğu söylenebilir. Böylelikle en uygun çözüm, Elit (Elite) adı verilen bir matrisi oluşturmak için en iyi yırtıcı olarak aday gösterilir. Bu matrisin dizileri, avın konumu hakkındaki bilgilere dayanarak avı aramayı ve bulmayı denetler.

$$Elit = \begin{bmatrix} X_{1,1}^I & X_{1,2}^I & \dots & X_{1,d}^I \\ X_{2,1}^I & X_{2,2}^I & \dots & X_{2,d}^I \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ X_{n,1}^I & X_{n,2}^I & \dots & X_{n,d}^I \end{bmatrix}_{n \times d} \quad (3.6)$$

Burada \vec{X}^I vektörü Elit matrisini oluşturmak için n kez çoğaltılan en iyi yırtıcı vektörü temsil eder. n, arama ajanı sayısı, d ise değişken boyutudur. Hem avcı hem de av arama ajanları olarak kabul edilir. Çünkü bir avcı avını ararken, av da kendi yiyeceğini arıyordu. Her yinelemenin sonunda en iyi avcı daha iyi bir avcı ile değiştirilirse Elit matrisi güncellenir.

Av (Prey), Elit ile aynı boyuta sahip bir başka matristir. Avcıların konumları bu matrise göre güncellenir. Burada $X_{i,j}$, i'inci avın j'inci boyutudur. Tüm optimizasyon sürecinin doğrudan bu iki matrisle ilgili olduğuna dikkat edilmelidir.

$$Av = \begin{bmatrix} X_{1,1} & X_{1,2} & \cdots & X_{1,d} \\ X_{2,1} & X_{2,2} & \cdots & X_{2,d} \\ X_{3,1} & X_{3,2} & \cdots & X_{3,d} \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \\ X_{n,1} & X_{n,2} & \cdots & X_{n,d} \end{bmatrix}_{n \times d} \quad (3.7)$$

DYA, optimizasyon süreci farklı hız oranları dikkate alınarak üç ana aşamaya ayrılır. Her aşama için belirli bir yineleme periyodu belirlenir.

Birinci aşamada av avcıdan daha hızlı hareket eder (Yüksek Hız Oranı). Bu senaryo iterasyonların ilk üçte biri için gerçekleşir. Bu kuralın matematiksel modeli denklem (3.8)'deki gibi uygulanır. Bu denklemde Iter mevcut iterasyonu, Max_Iter ise en büyük iterasyon sayısını gösterir.

$$\text{Iter} < \frac{1}{3} \text{Max_Iter}$$

$$\overrightarrow{\text{stepsize}}_i = \overrightarrow{R}_B \otimes (\overrightarrow{\text{Elite}}_i - \overrightarrow{R}_B \otimes \overrightarrow{\text{Prey}}_i) \quad i = 1, \dots, n \quad (3.8)$$

$$\overrightarrow{\text{Prey}}_i = \overrightarrow{\text{Prey}}_i + P \cdot \overrightarrow{R} \otimes \overrightarrow{\text{stepsize}}_i$$

Denklem (3.8)'de R_B Brownian hareketini temsil eden normal dağılıma dayalı rasgele sayılar içeren bir vektördür. \otimes karşılıklı eleman çarpım (entry-wise multiplication) işlemini ifade eder. Stepsize, avcının bir sonraki hareketini temsil eden adım boyutu vektörüdür. P 0,5 değerine sahip sabit bir sayıdır ve R [0,1] aralığında uniform rasgele sayı vektörüdür. R_B 'nin av ile çarpımı avın hareketini simüle eder.

İkinci aşamada av ve avcı aynı hızda hareket eder (Birim Hız Oranı). Bu senaryo hem avın hem avcının kendi avlarını aramasını taklit eder ve keşfin geçici olarak sömürüye dönüştürülmeye çalışıldığı optimizasyonun orta aşamalarında gerçekleşir. Bu aşamada hem keşif hem de sömürü önemlidir. Nüfus ikiye bölünerek ilk bölüm keşif, ikinci bölüm sömürü için seçilir. Av sömürüden sorumlu iken avcı keşiften sorumludur. Denklem (3.9) nüfusun ilk yarısına uygulanan kuralı temsil eder.

$$\frac{1}{3} \text{Max_Iter} < \text{Iter} < \frac{2}{3} \text{Max_Iter}$$

$$\overrightarrow{stepsize}_i = \overrightarrow{R}_L \otimes (\overrightarrow{Elite}_i - \overrightarrow{R}_L \otimes \overrightarrow{Prey}_i) \quad i = 1, \dots, n/2 \quad (3.9)$$

$$\overrightarrow{Prey}_i = \overrightarrow{Prey}_i + P \cdot \overrightarrow{R} \otimes \overrightarrow{stepsize}_i$$

Denklem (3.9)' da \overrightarrow{R}_L , Lévy hareketini temsil eden Lévy dağılımına dayalı rasgele sayıların bir vektörüdür. \overrightarrow{R}_L ile \overrightarrow{Prey}_i çarpımı avın hareketini taklit eder. Nüfusun ikinci yarısına uygulanan kuralı denklem (3.10) temsil eder. Denklem (3.10)'da \overrightarrow{R}_B ile \overrightarrow{Elite}_i çarpımı avcının hareketini Brownian tarzında simüle ederken, av konumunu avcıların Brownian hareketindeki hareketine dayalı olarak günceller.

$$\overrightarrow{stepsize}_i = \overrightarrow{R}_B \otimes (\overrightarrow{R}_B \otimes \overrightarrow{Elite}_i - \overrightarrow{Prey}_i) \quad i = n/2, \dots, n$$

$$\overrightarrow{Prey}_i = \overrightarrow{Elite}_i + P \cdot CF \otimes \overrightarrow{stepsize}_i \quad (3.10)$$

Burada uyarlanabilir parametre (CF), denklem (3.11)'deki gibi ifade edilir. Avcı için adım boyutu bu uyarlanabilir parametre tarafından kontrol edilir.

$$CF = \left(1 - \frac{\text{Iter}}{\text{Max_Iter}}\right)^{\left(2 \frac{\text{Iter}}{\text{Max_Iter}}\right)} \quad (3.11)$$

Üçüncü aşamada avcı avdan daha hızlı hareket eder (Düşük Hız Oranı). Bu senaryo yüksek sömürü yeteneği ile ilişkilendirilen optimizasyon sürecinin son aşamasıdır. Son aşama denklem (3.12)'deki gibi uygulanır.

$$\begin{aligned} \text{Iter} &> \frac{2}{3} \text{Max_Iter} \\ \overrightarrow{\text{stepsize}}_i &= \overrightarrow{R}_L \otimes (\overrightarrow{R}_L \otimes \overrightarrow{\text{Elite}}_i - \overrightarrow{\text{Prey}}_i) \quad i = 1, \dots, n \\ \overrightarrow{\text{Prey}}_i &= \overrightarrow{\text{Elite}}_i + P.CF \otimes \overrightarrow{\text{stepsize}}_i \end{aligned} \quad (3.12)$$

Denklem (3.12)'de \overrightarrow{R}_L ile Elit matrisi çarpımı avcının Lévy tarzında hareketini simüle eder. Adım boyutunu Elit'e eklemek av konumunun güncellenmesine yardımcı olmak için avcının hareketini simüle eder.

Deniz yırtıcılarının davranışlarını çevresel sorunlar da etkiler. Balık Toplama Cihazları (FAD) ve girdap oluşumu çevresel sorunlara bir örnektir. FAD'ler keşif alanında yerel optimaliteyi temsil eder. Optimizasyon süreci boyunca daha uzun atlamalar yerel optimalde sıkışmayı önler. Denklem (3.13) FAD etkisinin matematiksel modelini temsil eder.

$$\overrightarrow{\text{Prey}}_i = \begin{cases} \overrightarrow{\text{Prey}}_i + CF[\overrightarrow{X}_{min} + \overrightarrow{R} \otimes (\overrightarrow{X}_{max} - \overrightarrow{X}_{min})] \otimes \overrightarrow{U} & \text{if } r \leq FADs \\ \overrightarrow{\text{Prey}}_i + [FADs(1 - r) + r](\overrightarrow{\text{Prey}}_{r1} - \overrightarrow{\text{Prey}}_{r2}) & \text{if } r \geq FADs \end{cases} \quad (3.13)$$

Burada FADS 0,2 olarak seçilmiş olup, FAD'lerin optimizasyon süreci üzerindeki etkisinin olasılığıdır. \overrightarrow{U} , 0 ve 1 içeren dizeleri olan ikili vektördür. Dizinin 0,2'den küçük olması durumunda diziyi sıfıra, 0,2'den büyük olması durumunda bire değiştirir. r , [0,1] aralığında rasgele bir sayıdır. X_{min} ve X_{max} , boyutların alt ve üst sınırlarını içeren vektörlerdir. $r1$ ve $r2$, av matrisinin rasgele indekslerini belirtir.

Deniz yırtıcıları yiyecek aramada başarılı oldukları yeri hatırlatma konusunda iyi bir hafızaya sahiptir. Bu DYA'da bellek birikimi ile simüle edilir. Av güncellendikten ve FAD efekti uygulandıktan sonra bu matris Elit'i güncellemeye uygunluk açısından değerlendirilir. Mevcut iterasyonun her bir çözümünün uygunluğu, önceki iterasyon eşdeğerleriyle

karşılaştırılır. Mevcut çözüm daha uygunsa çözümün yerini alır. Bu süreç aynı zamanda iterasyonun sapmasıyla çözüm kalitesini artırır ve başarılı bir yiyecek arama ile avcıların bol av bölgelerine geri dönüşünü simüle eder. DYA'nın sözde kodu Şekil 3.6'da verilmiştir.

```

Popülasyon büyüklüğü  $n$  ve iterasyon sınırı  $Maks_{iter}$  değerleri belirle
Başlangıç Popülasyonu oluştur;  $Pop = [x_1, x_2, \dots, x_n]^T$ 
While  $iter < Maks_{iter}$  tüm do // iterasyonlar tamamlanmadığı sürece
    Bireylerin uyum değerleri  $f(x_i)$  hesapla. Av ( $\overline{Elite}$ ) ve Avcı ( $\overline{Prey}$ ) belirle
    If  $iter \leq Maks_{iter}/3$  // başlangıç iterasyonları için
        Popülasyonu Denklem 3.8 ile güncelle
    Else If  $Maks_{iter}/3 < iter \leq 2 \times Maks_{iter}/3$  // iterasyonların orta aşamaları için
        Popülasyonun ilk yarısını Denklem 3.9 ile güncelle
        Popülasyonun diğer yarısını ise Denklem 3.10 ile güncelle
    Else If  $iter > 2 \times Maks_{iter}/3$  // iterasyonların son aşamaları için
        Popülasyonu Denklem 3.12 ile güncelle
    End If
    Güncellenmiş popülasyon üzerinden avcıyı güncelle
    Girdap oluşumunun ve Balık Toplama düzeneklerinin popülasyona etkisini Denklem 3.13 ile uygula
End While

```

Şekil 3.6. DYA sözde kodu

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Reactive Blue 49 için Merkezi Kompozit Tasarım Yöntemi ile % Boya Giderimi Veriminin Optimizasyonu

Lakkaz enzimi ile renk giderimini etkileyen parametreler ve seviyeleri literatür çalışmaları dikkate alınarak süre, enzim miktarı, çalkalama hızı, başlangıç boyarmadde konsantrasyonu olarak belirlenmiştir (Valliyaparambil vd., 2019; Rana ve Chakraborty, 2020). Deneysel tasarımı renk gideriminin optimizasyonu için YYY'nin MKT metodu kullanılmıştır ve sonuçlar Design Expert 7.0 programına girilerek analiz edilmiştir. Tasarımda 4 parametre ve bunların 3 farklı seviyesi ile 6 merkez deney bulunmaktadır. Parametreler ve seviyeleri Çizelge 4.1'de verilmiştir.

Çizelge 4.1. MKT parametre ve seviyeleri

Faktörler (Parametre)	Birim	Seviyeler				
		-alpha	-1	0	+1	+alpha
Süre	dk	30	45	60	75	90
Enzim miktarı	ml	1	1,5	2	2,5	3
Çalkalama hızı	rpm	0	25	50	75	100
Boyarmadde konsantrasyonu	ppm	25	50	75	100	125

Belirlenen parametre ve seviyeler ile MKT metodu kullanılarak deneyler gerçekleştirilmiş ve her deneyin çalışma koşulları ve yanıt değerlerine Çizelge 4.2'de yer verilmiştir.

Çizelge 4.2. RB49 için MKT deney planı

Std	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Faktör 4	Yanıt
	A: Süre (dk)	B: Enzim miktarı (mL)	C: Çalkalama hızı (rpm)	D: Boyarmadde konsantrasyonu (ppm)	RB49 (%)
1	45	1,5	25	50	79,91
2	75	1,5	25	50	83,4
3	45	2,5	25	50	67,04
4	75	2,5	25	50	72,13
5	45	1,5	75	50	82,67
6	75	1,5	75	50	83,71
7	45	2,5	75	50	69,39
8	75	2,5	75	50	74,97
9	45	1,5	25	100	88,5
10	75	1,5	25	100	89,17
11	45	2,5	25	100	84,89
12	75	2,5	25	100	90,47
13	45	1,5	75	100	87,1
14	75	1,5	75	100	81,92
15	45	2,5	75	100	81,52
16	75	2,5	75	100	87,1
17	30	2	50	75	81,3
18	90	2	50	75	83,74
19	60	1	50	75	92,08
20	60	3	50	75	77,32
21	60	2	0	75	80,86
22	60	2	100	75	80,67
23	60	2	50	25	64,86
24	60	2	50	125	84,65
25	60	2	50	75	84,28
26	60	2	50	75	89,38
27	60	2	50	75	88,28
28	60	2	50	75	85,47
29	60	2	50	75	88,12
30	60	2	50	75	85,56

Gerçekleştirilen deneyler sonucunda elde edilen sonuçlara göre RB49 için model olarak karesel (quadratic) model önerilmiştir. Model seçimi sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Çizelge 4.3'te görüldüğü gibi programın önerisi ile yüksek R^2 ve düşük standart sapma değerlerine sahip karesel model seçilmiştir.

Çizelge 4.3. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için model seçimi

Lack of Fit Tests						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Linear	474.82	20	23.74	5.87	0.0294	
2FI	282.74	14	20.20	4.99	0.0430	
<u>Quadratic</u>	<u>21.57</u>	<u>10</u>	<u>2.16</u>	<u>0.53</u>	<u>0.8142</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	4.01	2	2.01	0.50	0.6362	Aliased
Pure Error	20.23	5	4.05			

Model Summary Statistics						
Source	Std. Dev.	R-Squared	Adjusted R-Squared	Predicted R-Squared	PRESS	
Linear	4.45	0.6343	0.5758	0.4802	703.75	
2FI	3.99	0.7762	0.6584	0.6264	505.87	
<u>Quadratic</u>	<u>1.67</u>	<u>0.9691</u>	<u>0.9403</u>	<u>0.8867</u>	<u>153.39</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	1.86	0.9821	0.9258	0.5517	606.90	Aliased

RB49 için her bir terimin etkileşim etkilerini ve istatistiksel önemini açıklayan varyans analizi (ANOVA) sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için varyans analizi tablosu

Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1298.24	10	129.82	44.33	< 0.0001	significant
A-Sure (dk)	29.77	1	29.77	10.17	0.0048	
B-Enzim miktarı (mL)	256.04	1	256.04	87.43	< 0.0001	
C-Calkalama hızı (rpm)	2.35	1	2.35	0.80	0.3816	
D-Konsantrasyon (mg/L)	570.67	1	570.67	194.87	< 0.0001	
AB	29.73	1	29.73	10.15	0.0049	
BD	117.99	1	117.99	40.29	< 0.0001	
CD	34.96	1	34.96	11.94	0.0027	
A ²	22.17	1	22.17	7.57	0.0127	
C ²	49.43	1	49.43	16.88	0.0006	
D ²	224.43	1	224.43	76.64	< 0.0001	
Residual	55.64	19	2.93			
Lack of Fit	35.41	14	2.53	0.63	0.7759	not significant
Pure Error	20.23	5	4.05			
Cor Total	1353.88	29				

ANOVA tablosuna göre modelin F değerinin 44,33 ve p-değerinin <0,05 olması modelin anlamlı olduğunu göstermektedir (Najafpour vd., 2020). Oluşturulan modelde 0,05'ten küçük p değerleri model parametrelerinin anlamlı olduğunu gösterir ve modele dahil edilir (Bashir vd., 2010). Bu durumda tabloda görüldüğü gibi A, B, D, AB, BD, CD, A², C², D² anlamlı model parametreleridir. A, B, D ana etkileri, AB, BD, CD parametrelerinin etkileşim etkisini, A², C², D² ise A, C ve D parametrelerinin karesel etkilerini gösterir.

Model istatistikleri Çizelge 4.5'te verilmiştir.

Çizelge 4.5. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için istatistikler

Std. Dev.	1.71	R-Squared	0.9589
Mean	82.35	Adj R-Squared	0.9373
C.V. %	2.08	Pred R-Squared	0.9086
PRESS	123.71	Adeq Precision	26.644

‘Adeq Precision’ değeri sinyal/gürültü oranını ölçer ve bu oranının 4’ten büyük olması istenir (Daassi vd., 2012). 26,644 olarak hesaplanan Adeq Precision değeri modelin uygun olduğunu göstermektedir.

Modelin varyasyon katsayısı (CV) %2,08’dir. CV, ortalamaya göre varyasyonu dikkate almak için uygun bir ölçüdür. CV boyutsuz bir sayı olduğu için model varyasyonlarını karşılaştırmak için standart sapma yerine kullanmak daha iyidir. CV değeri ne kadar düşüğe tahmin edilen değerler gerçek değerlere o kadar yakındır. Düşük bir CV değeri, yürütülen deneylerin kesinlik ve güvenilirliğini gösterir (Sabour vd., 2017; Lakshminarayanan vd., 2009). Model için gerçekleştirilen uyum yetersizliği testi sonucunda F değeri 0,63 ve p-değeri 0,7759>0,05 olduğu için uyum yetersizliği anlamsız çıkmaktadır.

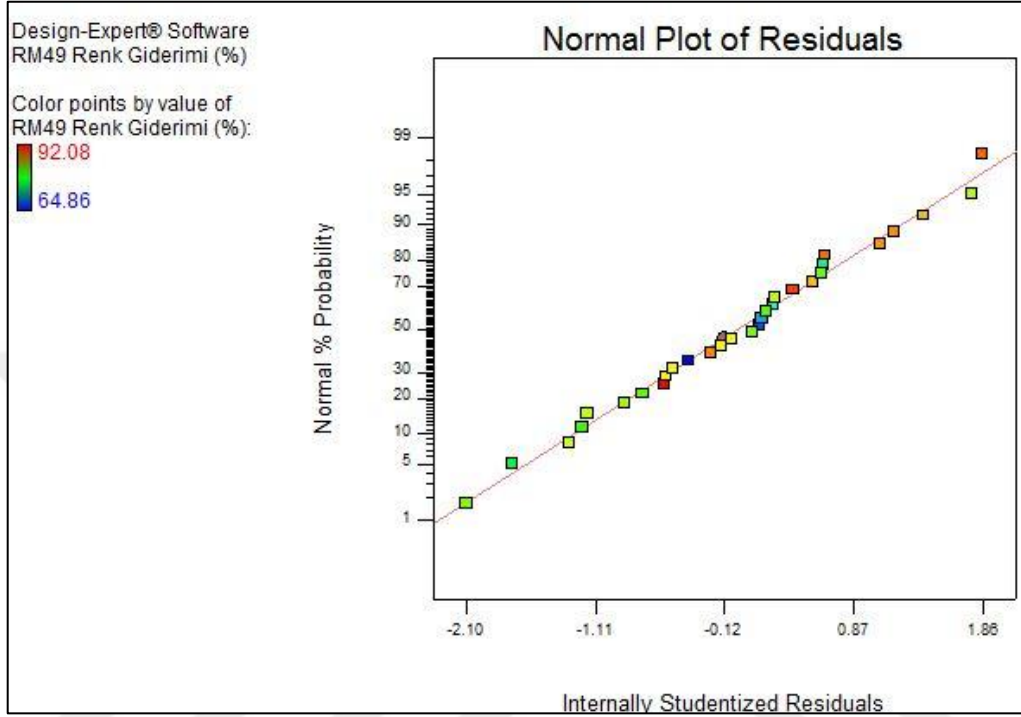
Çizelge 4.5’te verilen modelin belirlilik katsayısı (R^2) değerlerine göre, modelin uygunluğu doğrulanabilmektedir. R^2 yanıt değerlerindeki değişkenliğin ne kadarının deneysel faktörler ve bunların etkileşimleri tarafından açıklanabileceğini gösterir. R^2 değeri her zaman 0 ile 1 arasındadır ve 1’e ne kadar yakınsa modelin uygunluğu o kadar güçlüdür (Liu ve Chiou, 2005). R^2 (0,9589) değeri modelin güçlü olduğunu ve deneysel verilerdeki değişkenliğin %95,89’unun bu model ile açıklanabildiğini gösterir.

RB49 renk giderimi için regresyon denklemi denklem (4.1)’de gösterilmektedir. Bu denklemde A, süre; B, enzim miktarı; C, çalkalama hızı ve D, boyarmadde konsantrasyonudur. Denklem incelendiğinde renk giderimi üzerinde boyarmadde konsantrasyonunun 4,88 katsayı ile en yüksek etkiye, çalkalama hızının 0,31 katsayı ile en az etkiye sahip olduğu görülmüştür.

$$\begin{aligned} \text{Renk giderimi (RB49)} = & 86,39 + 1,11 * A - 3,27 * B - 0,31 * C + & (4.1) \\ & 4,88 * D + 1,36 * A * B + 2,72 * B * D - 1,48 * C * D \\ & - 0,89 * A^2 - 1,33 * C^2 - 2,83 * D^2 \end{aligned}$$

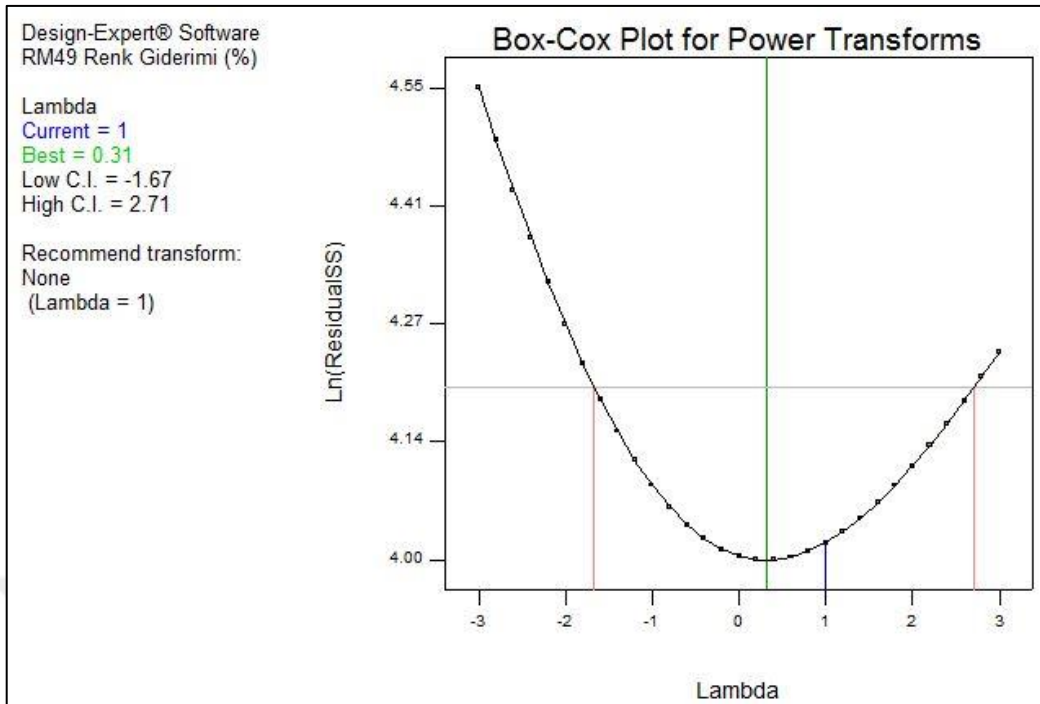
Modelin normal dağılıma uygunluğu Şekil 4.1’de yer alan standartlaştırılmış içsel artıklar grafiği ile gösterilmiştir. Artıklar, model yeterliliğini değerlendirmede önemli bir rol oynamaktadır. Normallik varsayımının sağlanması için artıklar düz bir çizgi izlemelidir.

Tüm artıklar doğrunun üzerine gelirse, model verilere iyi uyar yani artıklar normal bir dağılım izler. Grafiğe bakıldığında artıkların düz bir çizgi izlediği ve normal bir dağılıma sahip olduğu görülmektedir.



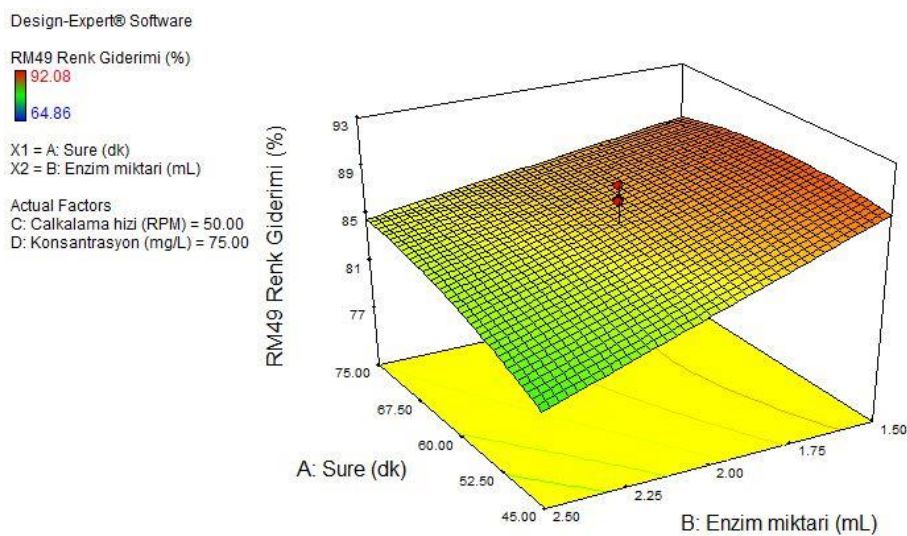
Şekil 4.1. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için standartlaştırılmış içsel artıklar grafiği

Herhangi bir dönüşüme ihtiyaç olup olmadığının görülmesi amacıyla Box-Cox grafiği incelenmiştir. Box-Cox dönüşümü artıkların normallliğini iyileştirmek için kullanılır ve uygun bir Lambda (λ) belirleyerek normal olarak dağılmayan verileri normalleştirecek bir dönüşüm sağlar. Kırmızı çizgi %95 sınırdaki bir güven aralığını gösterir. Güven aralığı çizgileri arasına düşen mavi model çizgisi mevcut dönüşümün uygun olduğunu gösterir. $\lambda=1$ değeri, dönüşümün gerekli olmadığını gösterir (Bhardwaj vd., 2014). Box-Cox grafiği Şekil 4.2’de verilmiştir. RB49 yanıt değişkeni için grafiğe bakıldığında lambda değerinin 1 olduğu görülmektedir ve program tarafından herhangi bir dönüşüm önerilmemektedir.



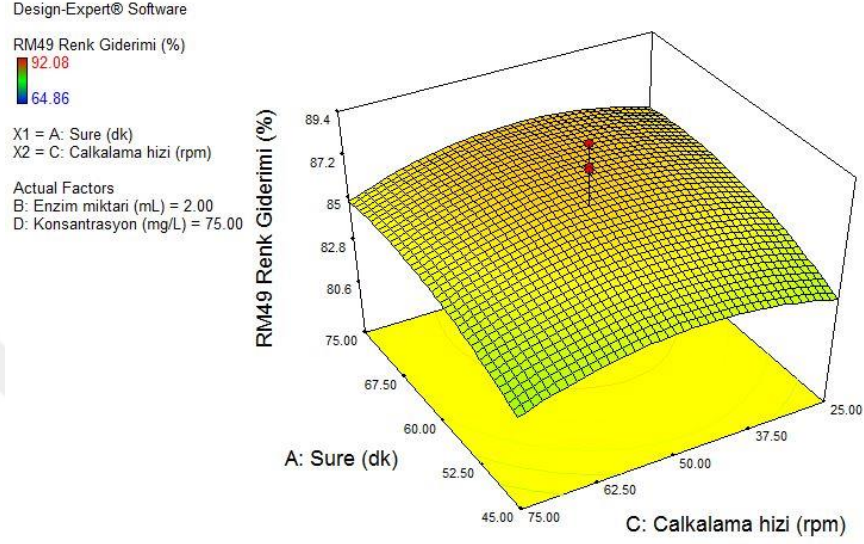
Şekil 4.2. RB49 renk giderimi yanıt değişkeni için Box-Cox grafiği

Modeldeki faktörlerin RB49 giderimi üzerinde birlikte oluşturdukları etkiler incelenmiş ve elde edilen bulgular üç boyutlu yüzey grafikleri ile Şekil 4.3-4.8'de verilmiştir. Üç boyutlu yüzey grafikleri, regresyon denkleminin grafiksel temsilidir. YYY tarafından oluşturulan üç boyutlu yüzey grafikleri değişkenler arasındaki etkileşimlerin tanımlanmasına yardımcı olur (Balan vd., 2012).



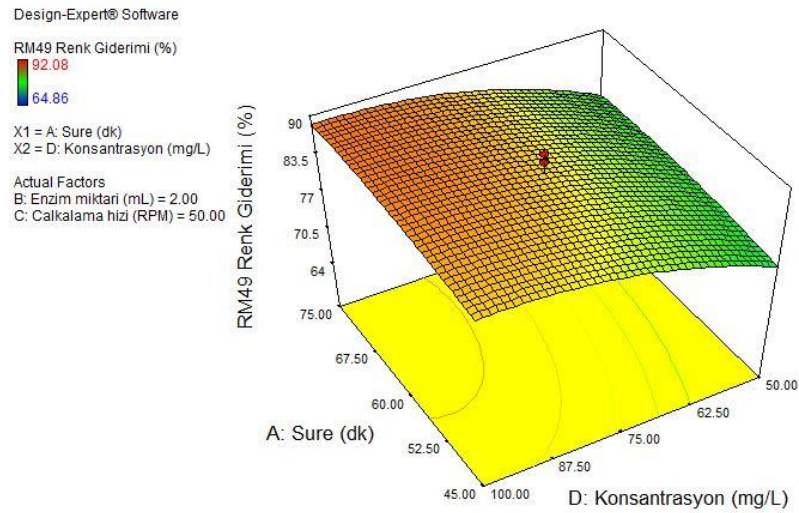
Şekil 4.3. Süre ve enzim miktarının RB49 giderimi üzerine etkisi

Çalkalama hızının 50 rpm ve boyarmadde konsantrasyonunun 75 mg/L olduğu koşullarda süre ve enzim miktarı arasındaki ilişki Şekil 4.3'te gösterilmiştir. Grafiğe göre sürenin artan ve enzim miktarının azalan düzeylerinde yüksek renk giderimi elde edildiği görülmüştür. Maksimum renk giderimi enzim miktarı 2 ml ve süre 60 dk iken elde edilmiştir.



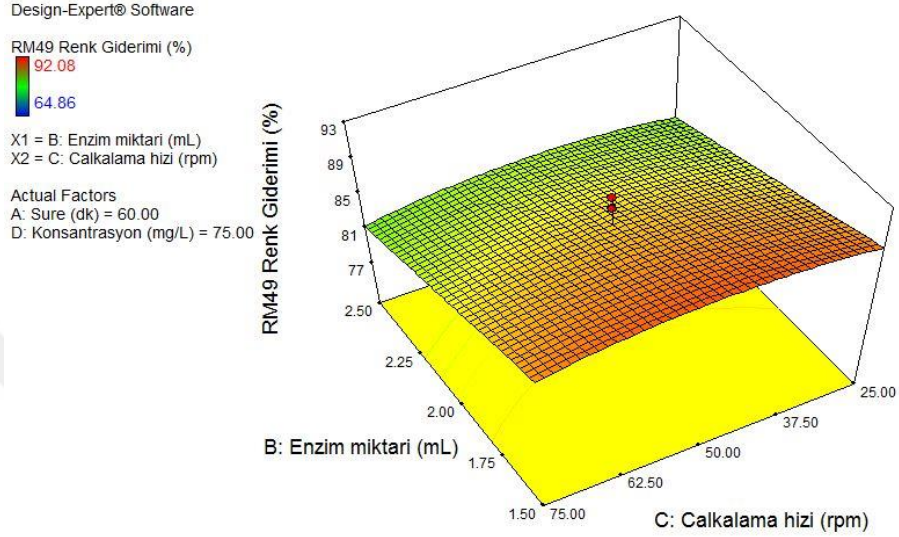
Şekil 4.4. Süre ve çalkalama hızının RB49 giderimi üzerine etkisi

Şekil 4.4'te enzim miktarı 2 ml ve boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/L iken süre ve çalkalama hızı arasındaki ilişkinin giderim üzerine etkisi gösterilmiştir. Grafiğe bakıldığında, sürenin artan, çalkalama hızının azalan düzeylerinde giderimin yükseldiği görülmektedir.



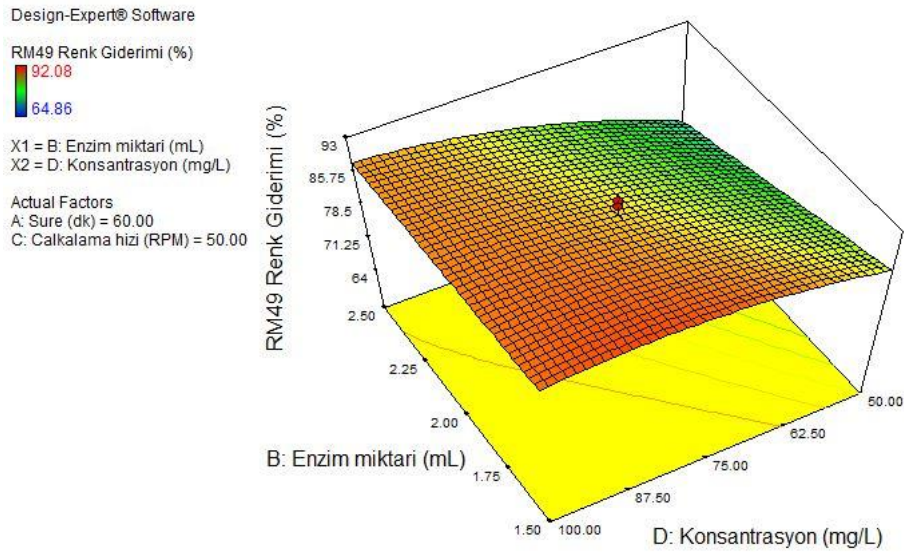
Şekil 4.5. Süre ve boyarmadde konsantrasyonunun RB49 giderimi üzerine etkisi

Şekil 4.5'te enzim miktarının 2 ml ve çalkalama hızının 50 rpm olduğu koşullarda, süre ve boyarmadde konsantrasyonu etkileşiminin giderim üzerine etkisi verilmiştir. Artan reaksiyon süresi değerleri ve yüksek boyarmadde konsantrasyonu değerleri ile giderimin arttığı gözlemlenmiştir.



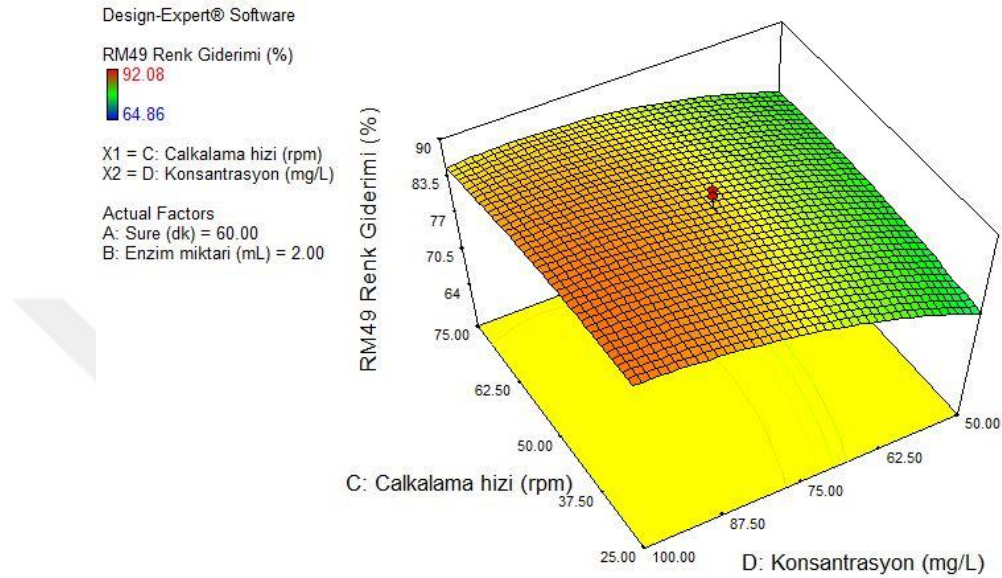
Şekil 4.6. Enzim miktarı ve çalkalama hızının RB49 giderimi üzerine etkisi

Şekil 4.6'da boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/L ve süre 60 dk olarak sabit tutulduğunda enzim miktarı ve çalkalama hızının giderim üzerine olan etkisi gösterilmiştir. Enzim miktarının azalan ve çalkalama hızının azalan düzeylerinde giderimin arttığı görülmüştür.



Şekil 4.7. Enzim miktarı ve boyarmadde konsantrasyonunun RB49 giderimi üzerine etkisi

Reaksiyon süresi 60 dk ve çalkalama hızı 50 rpm iken enzim miktarı ve boyarmadde konsantrasyonunun giderim üzerine etkisi Şekil 4.7’de verilmiştir. Maksimum renk gideriminin düşük enzim miktarı ile yüksek boyarmadde konsantrasyonun kesişiminde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.8. Çalkalama hızı ve boyarmadde konsantrasyonunun RB49 giderimi üzerine etkisi

Reaksiyon süresi 60 dk ve enzim miktarı 2 ml iken çalkalama hızı ve boyarmadde konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Grafiğe göre, düşük çalkalama hızı ve yüksek boyarmadde konsantrasyonunda giderimin en yüksek elde edildiği görülmektedir. Maksimum renk giderimi çalkalama hızı 50 rpm ve boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/L iken gerçekleşmiştir.

4.2. Reactive Violet 1 için Merkezi Kompozit Tasarım Yöntemi ile % Boya Giderimi Veriminin Optimizasyonu

RB49 için lakkaz enzimi ile renk giderimini etkileyen parametreler ve seviyeleri RV1 için de aynı değerler seçilmiştir. Gerçekleştirilen deneylerin renk giderimi sonuçları Design Expert 7.0 programı ile analiz edilmiştir. Belirlenen parametre ve seviyelerle MKT için oluşturulan deney planı Çizelge 4.6’da verilmiştir.

Çizelge 4.6. RV1 için MKT deney planı

Std	Faktör 1	Faktör 2	Faktör 3	Faktör 4	Yanıt
	A: Süre (dk)	B: Enzim miktarı (mL)	C: Çalkalama hızı (rpm)	D: Boyarmadde konsantrasyonu (ppm)	RV1 (%)
1	45	1,5	25	50	52,04
2	75	1,5	25	50	59,05
3	45	2,5	25	50	61,52
4	75	2,5	25	50	70,39
5	45	1,5	75	50	51,62
6	75	1,5	75	50	60,7
7	45	2,5	75	50	59,78
8	75	2,5	75	50	68,42
9	45	1,5	25	100	45,4
10	75	1,5	25	100	55,63
11	45	2,5	25	100	59,3
12	75	2,5	25	100	71,84
13	45	1,5	75	100	44,96
14	75	1,5	75	100	57,49
15	45	2,5	75	100	61,03
16	75	2,5	75	100	73,46
17	30	2	50	75	45,5
18	90	2	50	75	68,18
19	60	1	50	75	42,51
20	60	3	50	75	69,43
21	60	2	0	75	60,32
22	60	2	100	75	66,04
23	60	2	50	25	58,94
24	60	2	50	125	60,76
25	60	2	50	75	59,83
26	60	2	50	75	61,51
27	60	2	50	75	62,48
28	60	2	50	75	60,81
29	60	2	50	75	62,9
30	60	2	50	75	61,64

Deneyler sonucunda elde edilen sonuçlara göre yüksek R^2 ve düşük standart sapma değerlerine karşılık gelen karesel model yazılım tarafından önerilmiştir. Model seçimi sonuçları Çizelge 4.7’de verilmiştir.

Çizelge 4.7. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için model seçimi

Lack of Fit Tests						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Linear	173.84	20	8.69	7.01	0.0200	
2FI	115.19	14	8.23	6.64	0.0236	
<u>Quadratic</u>	<u>28.27</u>	<u>10</u>	<u>2.83</u>	<u>2.28</u>	<u>0.1879</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	1.79	2	0.90	0.72	0.5303	Aliased
Pure Error	6.20	5	1.24			

Model Summary Statistics						
Source	Std. Dev.	R-Squared	Adjusted R-Squared	Predicted R-Squared	PRESS	
Linear	2.68	0.9018	0.8861	0.8531	269.26	
2FI	2.53	0.9338	0.8989	0.8756	228.07	
<u>Quadratic</u>	<u>1.52</u>	<u>0.9812</u>	<u>0.9636</u>	<u>0.9063</u>	<u>171.76</u>	<u>Suggested</u>
Cubic	1.07	0.9956	0.9819	0.8544	266.84	Aliased

Model seçimi gerçekleştirilen RV1 yanıt değişkeni için ANOVA sonuçları Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.8. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için varyans analizi tablosu

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic Model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	1789.90	9	198.88	92.46	< 0.0001	significant
A-Sure (dk)	668.76	1	668.76	310.90	< 0.0001	
B-Enzim miktarı (mL)	971.43	1	971.43	451.61	< 0.0001	
C-Calkalama hızı (rpm)	7.85	1	7.85	3.65	0.0705	
D-Konsantrasyon (mg/L)	4.83	1	4.83	2.25	0.1495	
AD	12.48	1	12.48	5.80	0.0258	
BD	40.48	1	40.48	18.82	0.0003	
A ²	29.67	1	29.67	13.79	0.0014	
B ²	43.53	1	43.53	20.24	0.0002	
C ²	8.64	1	8.64	4.02	0.0587	
Residual	43.02	20	2.15			
Lack of Fit	36.82	15	2.45	1.98	0.2320	not significant
Pure Error	6.20	5	1.24			
Cor Total	1832.92	29				

Modelin F-değerinin 92,46 p-değerinin<0,05 olması modelin anlamlı olduğunu göstermektedir. Oluşturulan modelde 0,05'ten küçük p değerlerine sahip olan A, B, AD, BD, A² ve B² değerleri anlamlı model parametreleridir. Burada A ve B ana etkileri, AD ve BD parametrelerin etkileşim etkisini, A² ve B² parametrelerin karesel etkilerini gösterir. Model için gerçekleştirilen uyum yetersizliği testi sonucunda F değeri 1,98 ve p-değeri 0,2320>0,05 olduğu için uyum yetersizliği anlamsız çıkmaktadır.

Modelin istatistikleri Çizelge 4.9'da verilmiştir. RV1 için 0,9765 olarak bulunan R² değeri modelin güçlü olduğunu ve deneysel verilerdeki değişkenliğin %97,65'inin bu model ile açıklanabildiğini gösterir.

Çizelge 4.9. Reaktif Mor 1 renk giderimi yanıt değişkeni için istatistikler

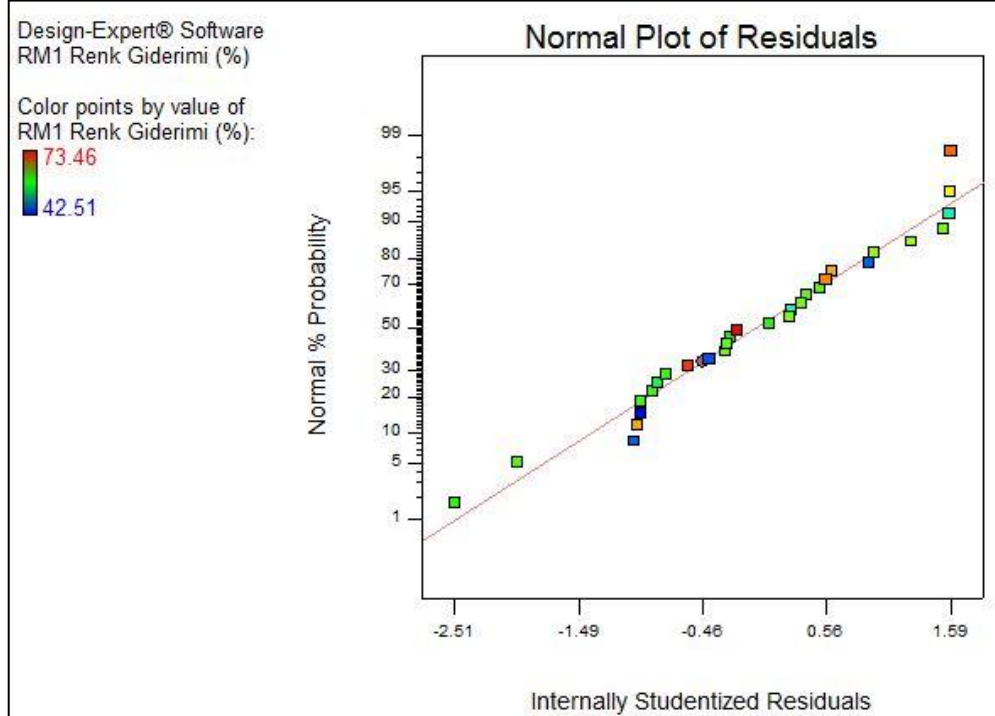
Std. Dev.	1.47	R-Squared	0.9765
Mean	59.78	Adj R-Squared	0.9660
C.V. %	2.45	Pred R-Squared	0.9379
PRESS	113.77	Adeq Precision	35.699

Model için Adeq Precision değeri 35,699 olarak hesaplanmıştır ve bu modelin uygun olduğunu göstermektedir. Modelin varyasyon değeri, CV= %2,45'tir.

RV1 renk giderimi için regresyon denklemi denklem (4.2)'de verilmiştir. Denklem incelendiğinde renk giderimi üzerinde enzim miktarının 6,36 katsayı ile en yüksek etkiye, boyarmadde konsantrasyonunun 0,45 katsayı ile en az etkiye sahip olduğu görülmüştür.

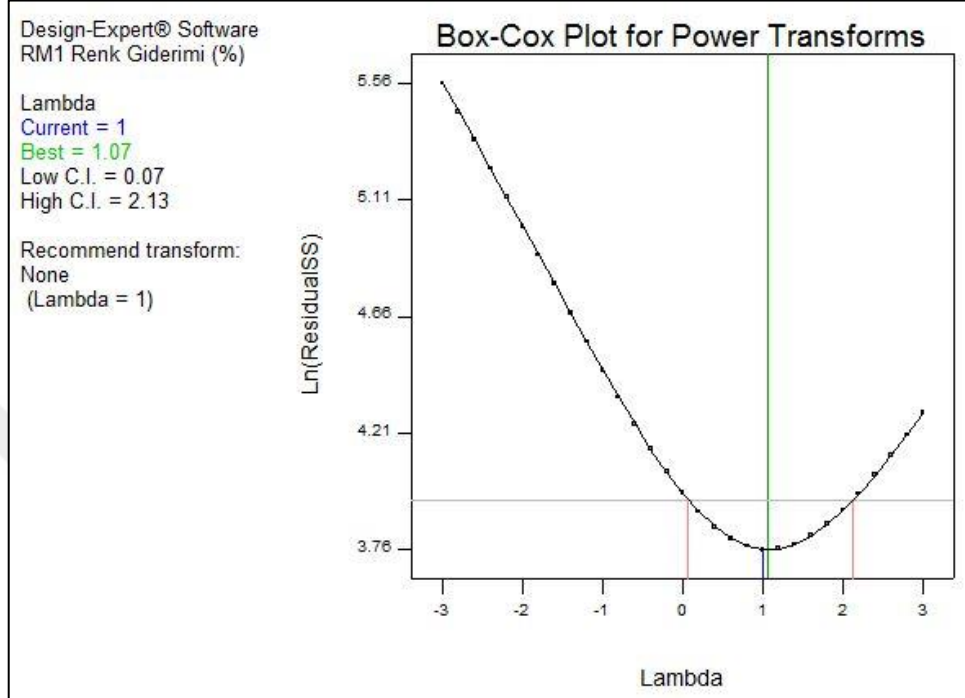
$$\begin{aligned} \text{Renk giderimi (RV1)} = & 61,16 + 5,28 * A + 6,36 * B + 0,57 * C \\ & - 0,45 * D + 0,88 * A * D + 1,59 * B * D \\ & - 1,03 * A^2 - 1,25 * B^2 + 0,56 * C^2 \end{aligned} \quad (4.2)$$

Modelin normal dağılıma uygunluğunu gösteren standartlaştırılmış içsel artıklar grafiği Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Grafiğe göre modelin normal dağılıma sahip olduğu görülmektedir.



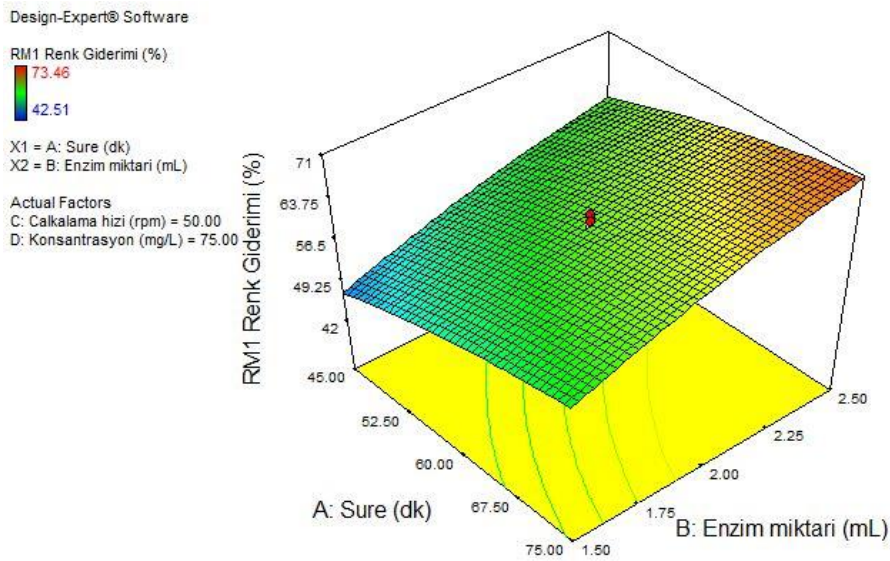
Şekil 4.9. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için standartlaştırılmış içsel artıklar grafiği

RV1 yanıt değişkeni için Box-Cox dönüşüm grafiği Şekil 4.10'da verilmiştir. Grafiğe göre herhangi bir dönüşüm (Lambda=1) önerilmemiştir.



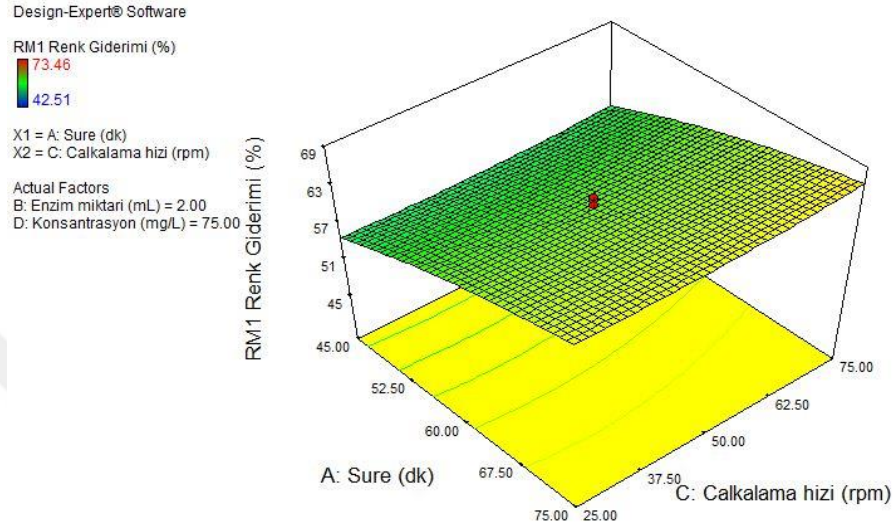
Şekil 4.10. RV1 renk giderimi yanıt değişkeni için Box-Cox grafiği

Modeldeki faktörlerin RV1 giderimi üzerinde birlikte oluşturdukları etkiler üç boyutlu yüzey grafikleri ile Şekil 4.11-4.16'da verilmiştir.



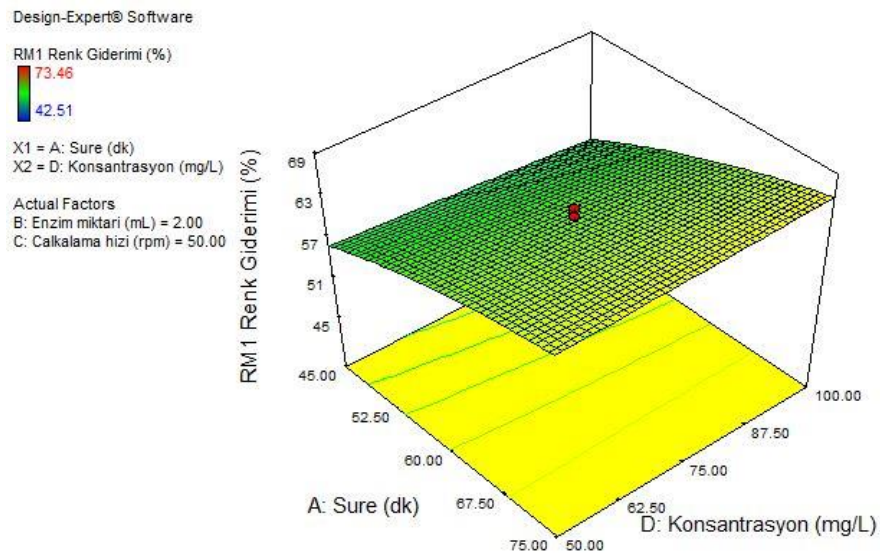
Şekil 4.11. Süre ve enzim miktarının RV1 giderimi üzerine etkisi

Çalkalama hızının 50 rpm ve boyarmadde konsantrasyonunun 75 mg/L olduğu koşullarda süre ve enzim miktarı arasındaki ilişki Şekil 4.11’de gösterilmiştir. Grafiğe göre süre ve enzim miktarının artan düzeylerinde yüksek renk giderimi elde edildiği görülmüştür. Maksimum renk giderimi enzim miktarı 2 ml, süre 60 dk iken gerçekleşmiştir.



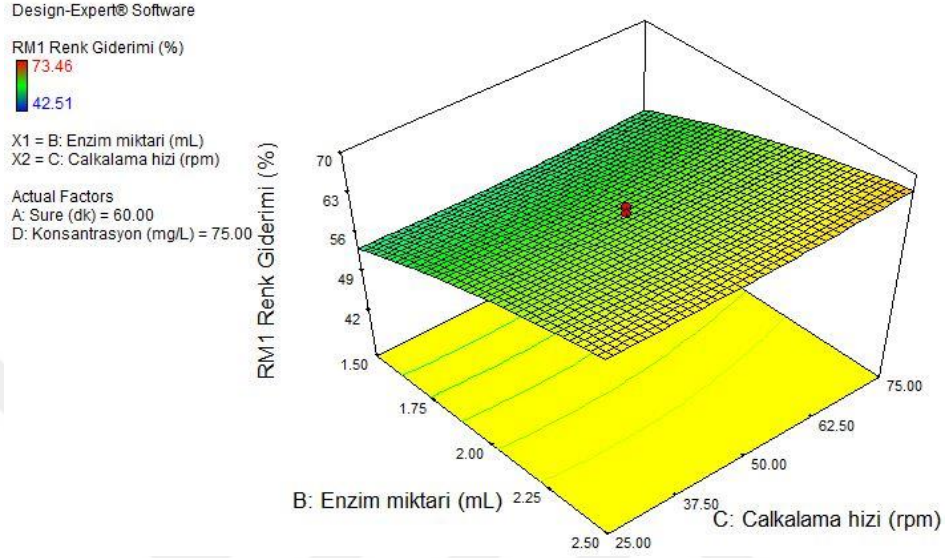
Şekil 4.12. Süre ve çalkalama hızının RV1 giderimi üzerine etkisi

Şekil 4.12’de enzim miktarı 2 ml ve boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/L olarak sabit tutulduğunda süre ve çalkalama hızı arasındaki etkileşimin giderim üzerine olan etkisi gösterilmiştir. Süre ve çalkalama hızının artan düzeylerinde yüksek giderim elde edildiği görülmüştür.



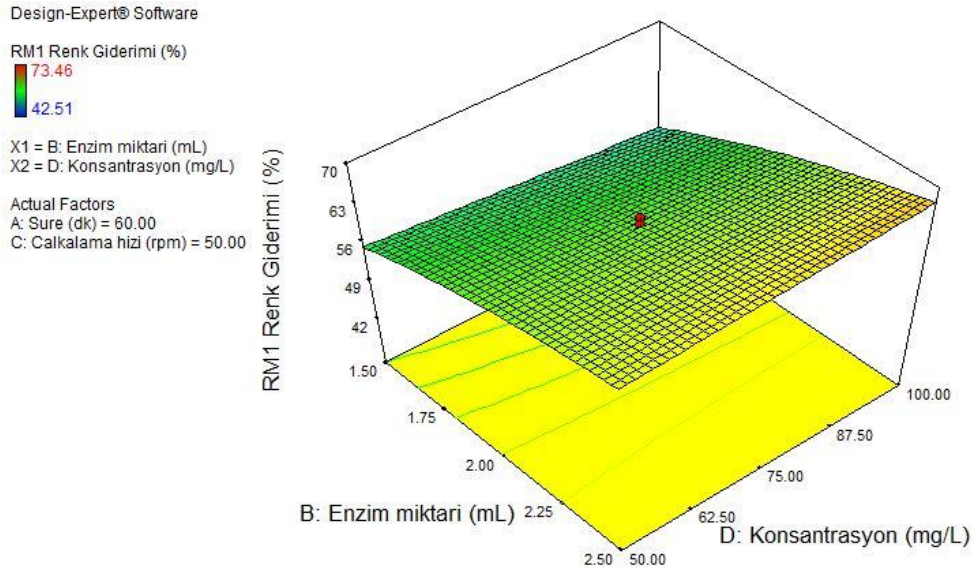
Şekil 4.13. Süre ve boyarmadde konsantrasyonunun RV1 giderimi üzerine etkisi

Enzim miktarı 2 ml ve çalkalama hızı 50 rpm iken süre ve boyarmadde konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4.13'te gösterilmiştir. Grafiğe göre, boyarmadde konsantrasyonu ve sürenin artan olduğu düzeylerde giderimin arttığı görülmektedir.



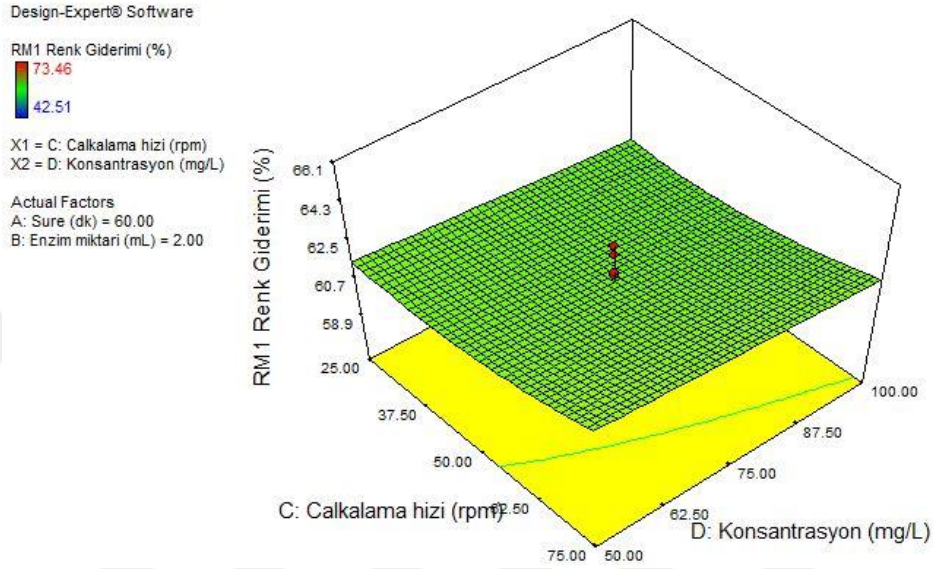
Şekil 4.14. Enzim miktarı ve çalkalama hızının RV1 giderimi üzerine etkisi

Şekil 4.14'te süre 60 dk ve boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/L iken enzim miktarı ve çalkalama hızı arasındaki ilişkinin giderim üzerine etkisi verilmiştir. Grafiğe göre, enzim miktarı ve çalkalama hızının artan koşullarında yüksek giderim elde edildiği görülmektedir.



Şekil 4.15. Enzim miktarı ve boyarmadde konsantrasyonunun RV1 giderimi üzerine etkisi

Çalkalama hızının 50 rpm ve sürenin 60 dk olduğu reaksiyon koşullarında enzim miktarı ve boyarmadde konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4.15'te verilmiştir. Grafiğe göre, enzim miktarı ve boyarmadde konsantrasyonunun artan koşullarında yüksek giderim elde edilmiştir.



Şekil 4.16. Çalkalama hızı ve boyarmadde konsantrasyonunun RV1 giderimi üzerine etkisi

Reaksiyon süresi 60 dk ve enzim miktarı 2 ml iken çalkalama hızı ve boyarmadde konsantrasyonu arasındaki ilişki Şekil 4.16'da gösterilmiştir. Grafiğe göre, çalkalama hızı ve boyarmadde konsantrasyonunun artan düzeylerinde giderimin en yüksek elde edildiği görülmektedir. Maksimum renk giderimi çalkalama hızı 50 rpm ve boyarmadde konsantrasyonu 75 mg/L iken gerçekleşmiştir.

4.3. Optimizasyon ve Doğrulama

Yapılan çalışmada, YYY'nin istatistiksel analizi Design Expert 7.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DYA için ise tüm deneyler, Windows 7 işletim sistemli 8 GB RAM'e sahip bilgisayarda (Intel® Core— i7-4510U CPU @ 2.00GHz) MATLAB R2017b kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

YYY optimizasyonu, RB49 ve RV1'in renk gideriminde optimum proses parametrelerini elde etmek için çekicilik (desirability) fonksiyonu yaklaşımına dayalı olarak gerçekleştirilmiştir. Maksimizasyon kriterleri dikkate alınarak en iyi çözüm en yüksek

çekicilik değeri ile seçilmiştir. RB49 için seçilen seviyeler çekicilik değeri 0,933 olan 57,93 dakika reaksiyon süresi, 1,5 ml enzim miktarı, 40,39 rpm çalkalama hızı ve 87,09 ppm boyarmadde konsantrasyonudur. RV1 için seçilen seviyeler çekicilik değeri 1 olan 75 dakika reaksiyon süresi, 2,5 ml enzim miktarı, 75 rpm çalkalama hızı ve 100 ppm boyarmadde konsantrasyonudur.

Proses parametreleri aralığı maksimum renk giderim yüzdesini elde edecek şekilde seçilmiştir. Parametrelerin her biri, DYA sonuçlarını etkilediği varsayılan, ön denemelere dayalı olarak belirlenen alt ve üst sınır değerleri cinsinden verilmiştir. RB49 ve RV1'in renk giderim değerini etkileyen proses parametrelerini optimize etmek için DYA uygulanmıştır. ANOVA analizi ile elde edilen denklem (4.3) ve (4.4) DYA için amaç fonksiyonu haline gelmiştir.

$$\begin{aligned} \% \text{ Decolorization (RB49)}^{\text{actual}} = & 81.491 + 0.18537 * \text{süre} - 33.7313 * \text{enzim} & (4.3) \\ & \text{miktarı} - 0.7744 * \text{çalkalama hızı} + 0.58828 * \text{boyarmadde konsantrasyonu} + \\ & 0.18175 * \text{süre} * \text{enzim miktarı} + 0.21725 * \text{enzim miktarı} * \text{boyarmadde} \\ & \text{konsantrasyonu} - 0.00237 * \text{çalkalama hızı} * \text{boyarmadde konsantrasyonu} - \\ & 0.00396 * \text{süre}^2 - 0.00213 * \text{çalkalama hızı}^2 - 0.00453 * \\ & \text{boyarmadde konsantrasyonu}^2 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Decolorization (RV1)}^{\text{actual}} = & 10,28542 + 0,72429 * \text{süre} - 23,13042 * \text{enzim} & (4.4) \\ & \text{miktarı} - 0,066017 * \text{çalkalama hızı} - 0,41375 * \text{boyarmadde konsantrasyonu} + \\ & 0,002355 * \text{süre} * \text{boyarmadde konsantrasyonu} + 0,21725 * \text{enzim miktarı} * \\ & \text{boyarmadde konsantrasyonu} - 0,004575 * \text{süre}^2 - 4,98750 * \text{enzim miktarı}^2 + \\ & 0,000889 * \text{çalkalama hızı}^2 \end{aligned}$$

RB49 ve RV1 için YYY tasarımındaki parametrelere ait aralıklar denklem (4.5) - (4.8)'de verilmiştir.

$$30 \text{ dk} \leq A \leq 90 \text{ dk} \quad (4.5)$$

$$1 \text{ ml} \leq B \leq 3 \text{ ml} \quad (4.6)$$

$$0 \text{ rpm} \leq C \leq 100 \text{ rpm} \quad (4.7)$$

$$25 \text{ mg/l} \leq D \leq 125 \text{ mg/l} \quad (4.8)$$

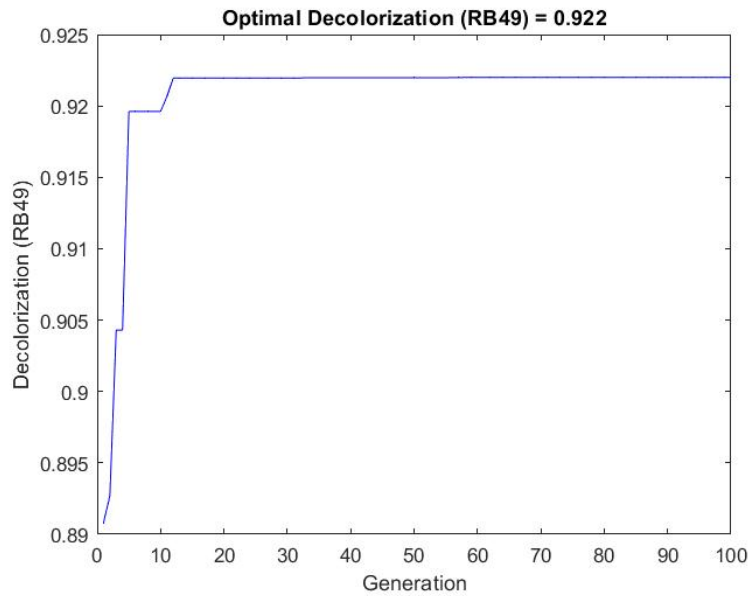
Çalışmada, proses parametrelerinin çeşitli kombinasyonları DYA kullanılarak optimize edilmiştir. DYA' nın P parametresi 0,5'tir ve maksimum iterasyon sayısı 100 olarak ayarlanmıştır.

Önerilen seviyelerde doğrulama testleri yapılmış ve sonuçlar Çizelge 4.10'da görüldüğü gibi tahmin aralığına düşmüştür. YYY ile RB49 için tahmin edilen maksimum renk giderim değeri 57,93 dk reaksiyon süresi, 1,5 ml enzim miktarı, 40,39 rpm çalkalama hızı ve 87,09 mg/l boyarmadde konsantrasyonu proses parametreleri ile %90,25'tir. RV1 için maksimum %73,68 renk giderim oranı elde etmek için proses parametrelerinin tahmin edilen değerleri 75 dk, 2,5 ml enzim miktarı, 75 rpm ve 100 mg/l'dir.

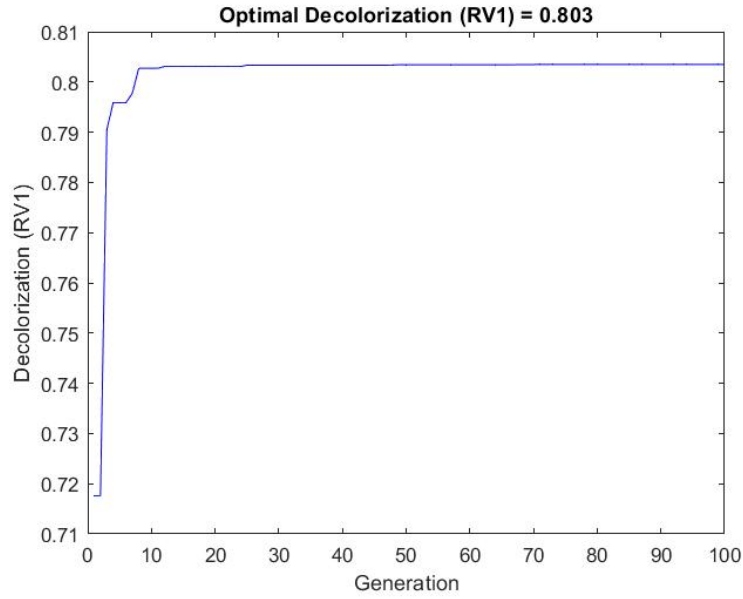
Çizelge 4.10. Yanıt değerleri için tahmin aralıkları

Yanıt	Tahmin %	95% Tahmin Aralığı Düşük	95% Tahmin Aralığı Yüksek	Doğrulama Deneyi
RB49	90,25	86,38	94,13	90,56
RV1	73,68	70,15	77,20	74,12

RB49 ve RV1 boyları için optimal renk giderimi değerlerine ait DYA yakınsama grafikleri Şekil 4.17'de verilmiştir.



(a)



(b)

Şekil 4.17. Renk giderimi yakınsama grafiği: a) RB49 için YYY tabanlı DYA, b) RV1 için YYY tabanlı DYA.

Her bir optimizasyon yöntemiyle geliştirilen parametrelere karşı gelen deneysel sonuçlar ve tahmin sonuçları Çizelge 4.11’de karşılaştırılmalı olarak sunulmuştur ve % hata değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.11. YYY ve YYY tabanlı DYA sonuçlarının karşılaştırılması

	Yöntem	Tahmin Değeri	Deneysel Sonuç	Hata %
RB49	MKT	90,25	90,56	0,34
	MKT tabanlı DYA	92,20	93,1	0,96
RV1	MKT	73,68	74,12	0,59
	MKT tabanlı DYA	80,35	80,60	0,31

RB49 için YYY tabanlı DYA yönteminde süre 39,69, enzim miktarı 1 ml, çalkalama hızı 72,07 rpm ve boyarmadde konsantrasyonu 74,41 ppm’dir. RV1 için ise YYY tabanlı DYA yönteminde süre 88,84, enzim miktarı 2,48 ml, çalkalama hızı 90,12 rpm ve boyarmadde konsantrasyonu 124,9 ppm’dir. Hem YYY hem de YYY tabanlı DYA için tahmin edilen ve deneysel değerler arasında yanıt değerlerine ilişkin küçük bir hata vardır.

YYY tabanlı DYA yöntemi klasik YYY'ne göre RB49 için tahmin edilen değerler açısından %2,11 ve deneysel değerler açısından %2,73 oranında iyileşme sağlamıştır. RV1 için ise YYY ve YYY tabanlı DYA karşılaştırıldığında, tahmin edilen değerler açısından %8,28 ve deneysel değerler açısından %8,03 oranında bir iyileşme elde edilmiştir.

Tahmin edilen ve deneysel değerler arasında biraz farklılık olsa da her iki doğrulama testi de DYA optimizasyon yönteminin YYY optimizasyon yöntemi ile karşılaştırıldığında RB49 ve RV1 için daha iyi renk giderim yüzdesi ürettiğini göstermiştir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Endüstriler su kirliliğinde önemli rol oynamaktadır. Tekstil endüstrisi de kullandığı boyarmaddeler nedeniyle bu kirliliğe neden olan endüstrilerden biridir. Yeterince arıtılmadan çevreye verilen atık sular suya yoğun bir renk verir ve tüm canlılar için tehlikeli bir durum oluşturarak büyük bir çevre sorununa neden olur. Bu nedenle boyarmadde içeren atık sulardan renk giderim süreçleri ekolojik açıdan önemlidir. Boyarmaddelerin giderimi fiziksel, kimyasal ve biyolojik olmak üzere farklı yollarla gerçekleştirilmektedir. Biyolojik sistemlerin kullanımı boya giderimi açısından daha uygun maliyetli, enerji açısından verimli ve çevre dostu bir yöntemdir.

Bu çalışmada Sarar firmasından temin edilen RB49 ve RV1 boyarmaddeleri ile çalışılmış ve ESOGÜ Biyoteknoloji Laboratuvarı'ndan temin edilen *Trametes versicolor* lakkaz enzimi ile bu boyarmaddelerin bulunduğu ortamdaki kirliliği maksimum düzeyde azaltabileceği koşullar araştırılmıştır. Renk giderim optimizasyonu, YYY ve YYY tabanlı DYA ile incelenmiştir. Maksimum renk gideriminde süre, enzim miktarı, çalkalama hızı ve başlangıç boyarmadde konsantrasyonu olmak üzere dört parametrenin etkisi incelenmiştir.

Çalışma sonucunda, RB49 ve RV1'in maksimum renk giderme verimi klasik YYY kullanıldığında sırasıyla %90,56 ve %74,12 olarak elde edilmiştir. YYY tabanlı DYA' da RB49 için maksimum verim 39,69 dk, 1 ml, 72,07 rpm ve 74,41 ppm'de %93,1 bulunmuştur. RV1 için maksimum verim 88,84 dk, 2,48 ml, 90,12 rpm ve 124,9 ppm'de %80,60 bulunmuştur. DYA'nın sonuçları, YYY ile birlikte metasezgisel yöntemlerin kullanılmasının, renk giderimi için parametreleri optimize etmede uygulanabilir bir yol olduğunu göstermiştir.

Bu çalışmada önerilen YYY tabanlı DYA yönteminin farklı kimyasal ve biyolojik süreçler üzerindeki etkinliği araştırılabilir. Yanı sıra, çalışmada sabit olarak ele alınan bazı faktörlerin kategorik düzeylerle tasarıma dahil edildiği, kategorik MKT uygulamaları da araştırmacılar için açık çalışma alanlardandır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

- Abd Elminaam, D.S., Nabil, A., Ibraheem, S.A., Houssein, E.H., 2021, An Efficient Marine Predators Algorithm for Feature Selection, *IEEE Access*, 9, 60136-60153.
- Akar, S. T., Gorgulu, A., Kaynak, Z., Anilan, B., 2009, Biosorption of Reactive Blue 49 Dye under Batch and Continuous Mode Using a Mixed Biosorbent of Macro-Fungus *Agaricus bisporus* and *Thuja orientallis* Cones, *Chemical Engineering Journal*, 148(1), 26-34.
- Ameenudeen, S., Unnikrishnan, S., Ramalingam, K., 2021, Statistical optimization for the efficacious degradation of reactive azo dyes using *Acinetobacter baumannii* JC359, *Journal of Environmental Management*, 279, 111512
- Apohan, E., Yesilada, O., 2005, Role of white rot fungus *Funalia trogii* in detoxification of textile dyes, *Journal of Basic Microbiology*, 45(2), 99-105.
- Ashrafi, S.D., Kamani, H., Safari, G.H., 2019, Evaluation of Basic Blue 41 Removal from Aqueous Solutions by Laccase Mediated System Using Response Surface Methodology, *Caspian Journal of Health Research*, 4(4), 99-104.
- Ayed, A.B., Hadrich, B., Sciara, G., Lomascolo, A., Bertrand, E., vd., 2022, Optimization of the Decolorization of the Reactive Black 5 by a Laccase-like Active Cell-Free Supernatant from *Coriolopsis gallica*, *Microorganisms*, 10(6), 1137.
- Balan, K., Sathishkumar, P., Palvannan, T., 2012, Decolourization of malachite green by laccase: Optimization by response surface methodology, *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 43, 776-782.
- Bashir, M.J.K., Aziz, H.A., Yusoff, M.S., Adlan, M.N., 2010, Application of response surface methodology (RSM) for optimization of ammoniacal nitrogen removal from semi-aerobic landfill leachate using ion exchange resin, *Desalination*, 254(1-3), 154-161.
- Benkhaya, S., M' rabet, S., El Harfi A., 2020, A review on classifications, recent synthesis and applications of textile dyes, *Inorganic Chemistry Communications*, 115, 107891.
- Bezerra, M.A., Santelli, R.E., Oliveira, E.P., Villar, L.S., Escaleira, L.A., 2008, Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry, *Talanta*, 76(5), 965-977.
- Bhardwaj, B., Kumar, R., Singh, P.K., 2014, An improved surface roughness prediction model using Box-Cox transformation with RSM in end milling of EN 353, *Journal of Mechanical Science and Technology*, 28(12), 5149-5157.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Çelik, P.A., Abutaha, A.M.K., Yaman, B.N., Çakmak, H., Hoşgün, S., Çabuk, A., 2021, Efficient removal of Reactive Orange 13 with magnetic *Mucor circinelloides* from mill scale, *Desalination and Water Treatment*, 226, 347-361.
- Daâssi, D., Frikha F., Zouari-Mechichi H., Belbahri L., Woodward S., Mechichi T., 2012, Application of response surface methodology to optimize decolourization of dyes by the laccase-mediator system, *Journal of Environmental Management*, 108, 84-91.
- Dai, S., Yao, Q., Yu, G., Liu, S., Yun, J., vd., 2021, Biochemical Characterization of a Novel Bacterial Laccase and Improvement of Its Efficiency by Directed Evolution on Dye Degredation, *Frontiers in Microbiology*, 12, 633004.
- Dean, A., Voss, D., Draguljić, D., 2017, *Design and Analysis of Experiments*, 978-3-319-52250-0, Springer International Publishing AG.
- Demiralp, B., Büyük, İ., Aras, S., Duman, D.C., 2015, Lakkaz enziminin endüstriyel ve biyoteknoloji alanında kullanımı, *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 72(4), 351-368.
- El-Badan, D.E., Naga, N.G., Mabrouk, M.E., Ghanem, K.M., 2020, Decolorization of Remazol Brilliant Blue Dye by *Escherichia coli* NG188 under Optimized Conditions, *Egyptian Journal of Botany*, 60(2), 461-475.
- Er, E., 2016, Yonga Levha Endüstrisi Atıksularının Kimyasal Arıtımı ve Yanıt Yüzey Yöntemi ile Optimizasyonu, Yüksek Lisans tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 69 s.
- Faramarzi, A., Heidarinejad, M., Mirjalili, S., Gandomi A.H., 2020, Marine Predators Algorithm: A nature-inspired metaheuristic, *Expert Systems With Applications*, 152, 113377.
- Ghosh, U., Ghosh, P., 2021, Biodegradation of Dyes by Laccase from Isolated Strain *Aspergillus flavus* PUF5, *Advances in Bioprocess Engineering and Technology*, 109-118.
- Hanapi, N.H.M., Abdullah, S.H.Y.S., Ismail, A., Juahir, H., 2021, Central Composite Design: a Response Surface Methodology Approach in Biodegradation of Textile Dye Wastewater, *Journal of Korean Society of Environmental Engineers*, 43(6), 461-475.
- Hang, Y., Qu, M., Ukkusuri, S., 2011, Optimizing the design of a solar cooling system using central composite design techniques, *Energy and Buildings*, 43(4), 988-994.
- Hussain, T., Wahab, A., 2018, A critical review of the current water conservation practices in textile wet processing, *Journal of Cleaner Production*, 198, 806-819.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Iqbal, K., Nadeem, A., Zafar, U., 2021, Biostoning of textile effluent with laccase enzyme, Bangladesh Journal of Scientific and Industrial Research, 56(2), 115-124.
- Imanian, M.E., Biglari, F.R., 2022, Modeling and prediction of surface roughness and dimensional accuracy in SLS 3D printing of PVA/CB composite using the central composite design, Journal of Manufacturing Processes, 75, 154-169.
- Jeffi, N., Hamid, N.H.A., 2021, Comparison of Central Composite and Box-Behnken Design in Optimization of Turbidity Removal using Nanocellulose Filter Paper (Neolamarckia cadamba), Progress in Engineering Application and Technology, 2(1), 350-360.
- Kamani, H., Safari, G.H., Asgari, G., Ashrafi, S.D., 2018, Data on modeling of enzymatic elimination of Direct Red 81 using Response Surface Methodology, Data in Brief, 18, 80-86.
- Kashefi, S., Borghei, S. M., Mahmoodi, N. M., 2019, Application of Face-Centered Central Composite Design (FCCCD) in Optimization of Enzymatic Decolorization of Two Azo Dyes: A Modeling vs. Empirical Comparison, Prog. Color Colorants Coat, 12(3), 179-190.
- Katar, Ş., Erol, S., Çelik, P.A., Özdemir, M., Çabuk, A., 2017, Talaromyces Aculeatus from Acidic Environment as A New Fungal Biosorbent for Removal of Some Reactive Textile Dyes, Anadolu University Journal of Science and Technology A-Applied Sciences and Engineering, 18(2), 521-534.
- Khatoon, H., Rai, J.P.N., 2020, Optimization studies on biodegradation of atrazine by Bacillus badius ABP6 strain using response surface methodology, Biotechnology Reports, 26, 446-459.
- Kumar, N., Sinha, S., Mehrotra, T., Singh, R., Tandon, S., Thakur, I.S., 2019, Biodecolorization of azo dye Acid Black 24 by Bacillus pseudomycoides: Process optimization using Box Behnken design model and toxicity asesment, Bioresource Technology Reports, 8, 100311.
- Lakshminarayanan, A.K., Balasubramanian, V., 2009, Comparison of RSM with ANN in predicting tensile strength of friction stir welded AA7039 aluminium alloy joints, Transactions of Nonferrous Metals Society of China, 19(1), 9-18.
- Lellis, B., Fávaro-Polonio, C.Z., Pamphile, J.A., Polonio, J.C., 2019, Effects of textile dyes on health and the environment and bioremediation potential of living organisms, Biotechnology Research and Innovation, 3(2), 275-290.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Liu, H.L., Chiou, Y.R., 2005, Optimal decolorization efficiency of Reactive Red 239 by UV/TiO₂ photocatalytic process coupled with response surface methodology, *Chemical Engineering Journal*, 112, 173-179.
- Mehrabian, F., Kamani, H., Safari, G.H., Asgari, G., Ashrafi S.D., 2018, Direct Blue 71 removal from aqueous solution by laccase-mediated system; A dataset, *Data in Brief*, 19, 437-443.
- Mohammed, Y.M.M., Mabrouk, M.E.M., 2020, Optimization of methylene blue degradation by *Aspergillus terreus* YESM 3 using response surface methodology, *Water Science & Technology*, 82(10), 2007-2018.
- Murugesan, K., Dhamija, A., Nam, I., Kim, Y., Chang, Y., 2007, Decolourization of reactive black 5 by laccase: Optimization by response surface methodology, 75, 176-184.
- Najafpour, A., Khorrami, A.R., Azar, P.A., Tehrani, M.S., 2020, Study of heavy metals biosorption by tea fungus in Kombucha drink using Central Composite Design, *Journal of Food Composition and Analysis*, 86, 103359.
- Othman, A.M., Elshafei, A.M., Elsayed, M.A., Hassan, M.M., 2018, Decolorization of Cibacron Blue 3G-A Dye by *Agaricus bisporus* CU13 Laccase-Mediator System: A Statistical Study for Optimization via Response Surface Methodology, *Annual Research & Review in Biology*, 25(6), 1-13.
- Othman, A.M., Rodriguez-Couto, S., Mechichi, T., 2022, Microbial Laccases: Recent Advances and Biotechnological Applications, *Frontiers Bioengineering and Biotechnology*, 10, 922223.
- Paz, A., Carballo, J., Perez, M.J., Domínguez, J.M., 2017, Biological treatment of model dyes and textile wastewaters, *Chemosphere*, 181, 168-177.
- Perrin, D.D., Dempsey, B., 1974, *Buffers for pH and Metal Ion Control*, Chapman and Hall, 176 p.
- Priyadharshini, S.D., Bakthavatsalam, A.K., 2016, Optimization of phenol degradation by the microalga *Chlorella pyrenoidosa* using Plackett-Burman Design and Response Surface Methodology, *Bioresource Technology*, 207, 150-156.
- Rana, B., Chakraborty, J.N., 2020, Decolorisation of Reactive Dyes Using Commercial Laccase-Mediator System-An Emerging Technology, *Journal of Textile and Clothing Science*, 3(3), 31-42.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Redhwan, A.A.M., Azmi, W.H., Sharif, M.Z., Zawawi, N.N.M., Ariffin, S.Z., 2020, Utilization of Response Surface Method (RSM) in Optimizing Automotive Air Conditioning (AAC) Performance Exerting Al₂O₃/PAG Nanolubricant, Journal of Physics Conference Series, 1532(1), 012003.
- Roriz, M.S., Osma, J.F., Teixeira, J.A., Couto, S.R., 2009, Application of response surface methodological approach to optimize Reactive Black 5 decolouration by crude laccase from *Trametes pubescens*, Journal of Hazardous Materials, 169, 691-696.
- Sabour, M.R., Amiri, A., 2017, Comparative study of ANN and RSM for simultaneous optimization of multiple targets in Fenton treatment of landfill leachate, Waste Management, 65, 54-62.
- Saraç, N., Uğur, A., Şimşek, Ö., Aytar, P., Toptaş, Y., vd., 2017, Phenol Tolerance and Biodegradation Optimization of *Serratia marcescens* NS09-1 Using Plackett-Burman and Box-Behnken Design, Environmental Engineering and Management Journal, 16(11), 2637-2645.
- Senthivelan, T., Kanagaraj, J., Panda, R.C., 2016, Recent Trends in Fungal Laccase for Various Industrial Applications: An Eco-friendly Approach-A Review, Biotechnology and Bioprocess Engineering, 21(1), 19-38.
- Shanmugam, S., Ulaganathan, P., Swaminathan, K., Sadhasivam, S., Wu, Y.R., 2017, Enhanced biodegradation and detoxification of malachite green by *Trichoderma asperellum* laccase: Degradation pathway and product analysis, International Biodeterioration&Biodegradation, 125, 258-268.
- Shiravi, A.H., Firoozzadeh, M., Lotfi, M., 2022, Experimental study on the effects of air blowing and irradiance intensity on the performance of photovoltaic modules, using Central Composite Design, Energy, 238, 121633.
- Soliman, M.A., Hasanien H.M., Alkuhayli, A., 2020, Marine Predators Algorithm for Parameters Identification of Triple-Diode Photovoltaic Models, IEEE Access, 8, 155832-155842.
- Soni, S., Bajpai, P.K., Mittal, J., Arora, C., 2021, Utilisation of cobalt doped Iron based MOF for enhanced removal and recovery of methylene blue dye from waste water, Journal of Molecular Liquids, 314, 113642.
- Tavares, A.P.M., Cristóvão, O.R., Loureiro, J.M., Boaventura, R.A.R., Macedo, E.A., 2009, Application of statistical experimental methodology to optimize reactive dye decolourization by commercial laccase, Journal of Hazardous Materials, 162, 1255-1260.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Valliyaparambil, P.T., Kaliyaperumal, K.A., Gopakumaran, N., 2019, *Pleurotus ostreatus* Laccase Decolorization of Remazol Brilliant Violet 5R Dye: Statistical Optimization and Toxicity Studies on Microbes and its Kinetics, *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 6(3), 88-95.

Yadav, A., Yadav, P., Singh, A.K., Kumar, V., Sonawane, V.C., vd., 2021, Decolourisation of textile dye by laccase: Process evaluation and assessment of its degradation bioproducts, *Bioresource Technology*, 340(7), 125591.

