



T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
KİM-YL-2009-0003

**KATI DESTEK ÜZERİNE İMMOBİLİZE EDİLMİŞ BAZI
BAKTERİLER İLE AĞIR METAL İYONLARININ
AYIRMA VE DERİŞTİRME ŞARTLARININ
ARAŞTIRILMASI**

S. Ebru SOYSAL

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa DEMİR

AYDIN-2009

**T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
KİM-YL-2009-0003**

**KATI DESTEK ÜZERİNE İMMOBİLİZE EDİLMİŞ BAZI
BAKTERİLER İLE AĞIR METAL İYONLARININ
AYIRMA VE DERİŞTİRME ŞARTLARININ
ARAŞTIRILMASI**

S. Ebru SOYSAL

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Mustafa DEMİR**

AYDIN-2009

T.C YÜKSEKÖĞRETİM KURULU TEZ MERKEZİ
TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No **349579**
Yazar Adı / Soyadı S. Ebru SOYSAL
Uyruğu / T.C.Kimlik No T.C. 56944057280
Telefon / Cep Telefonu / e-Posta 02562124870 05052655162 ebruguzelsoylu@gmail.com
Tezin Dili Türkçe
Tezin Özgün Adı Katı Destek Üzerine İmmobilize Edilmiş Bazı Bakteriler ile Ağır Metal İyonlarının Ayırma ve Deriştirme Şartlarının Araştırılması
Tezin Tercümesi The Investigation of Seperation And Preconcentration Conditions of Heavy Metal Ions by Some Bacterias Immobilized on Solid Support
Konu Başlıkları Kimya
Üniversite Adnan Menderes Üniversitesi
Enstitü / Hastane Fen Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı Analitik Kimya Anabilim Dalı
Bilim Dalı / Bölüm Analitik Kimya Bilim Dalı Kimya Bölümü
Tez Türü Yüksek Lisans
Yılı 2009
Sayfa 57
Tez Danışmanları Prof. Dr. Mustafa DEMİR
Dizin Terimleri Katı faz özütlemesi=Solid phase extraction
Önerilen Dizin Terimleri Ağır Metal=Heavy Metals
İndüklenmiş Eşleşmiş Plazma=Inductively Coupled Plasma
Anoxybacillus flavithermus HBB 134=Anoxybacillus flavithermus
HBB 134
Kısıtlama / Kısıt Süresi Var 3 Yıl




b. Tezimin Yükseköğretim Kurulu Tez Merkezi tarafından çoğaltılması veya yayımının 14.09.2012 tarihine kadar ertelenmesini talep ediyorum. Bu tarihten sonra (a) maddesindeki koşulların geçerli olacağını kabul ve beyan ederim. (Erteleme süresi formun imzalandığı tarihten itibaren en fazla 3 (üç) yıldır.)

12.10.2009

İmza:.....

T.C.
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE
AYDIN

Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi S. Ebru SOYSAL tarafından hazırlanan ‘Katı Destek Üzerine İmmobilize Edilmiş Bazı Bakteriler ile Ağır Metal İyonlarının Ayırma ve Deriştirme Şartlarının Araştırılması’ başlıklı tez, 11.09.2009 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan: Prof. Dr. Mustafa DEMİR	ADÜ-FEF Kimya Böl.	
Üye : Doç. Dr. Yüksel ŞAHİN	ADÜ-FEF Kimya Böl.	
Üye : Yrd. Doç. Dr. Halil BIYIK	ADÜ-FEF Biyoloji Böl.	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Yüksek Lisans tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun 22 / 1 sayılı kararıyla 30.09.2009 tarihinde onaylanmıştır.

Ünvanı, Adı Soyadı
Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Serap AÇIKGÖZ

İntihal (Aşırma) Beyan Sayfası

Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Adı Soyadı: **S. Ebru SOYSAL**

İmza:

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

**KATI DESTEK ÜZERİNE İMMOBİLİZE EDİLMİŞ BAZI BAKTERİLER
İLE AĞIR METAL İYONLARININ AYIRMA VE DERİŞTİRME
ŞARTLARININ ARAŞTIRILMASI**

S. Ebru SOYSAL

Adnan Menderes Üniversitesi

Fen-Edebiyat Fakültesi

Kimya Bölümü

Danışman: Prof. Dr. Mustafa DEMİR

Bu tez kapsamında, destek maddesi olarak *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajel kullanılmıştır. Bu adsorbent kullanılarak katı faz ekstraksiyonu yöntemi ile Cu ve Cd metal iyonlarının zenginleştirme şartları incelendi. Bu metal iyonlarının belirlenmesi ise indüklenmiş eşleşmiş plazma (ICP) ile yapıldı. Çalışmada elementlerin geri kazanım verimlerine, silikajeldeki bakteri kütlesi, çözelti pH'sı, eluentin türü ve hacmi, çözelti hacminin ve derişiminin etkisi incelenmiş ve en uygun (optimum) şartlar belirlenmiştir. *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajelde Cu ve Cd için geri kazanımlar sırasıyla %97.58 ve %95.57 olarak bulunmuştur. Ayrıca *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajelin adsorpsiyon kapasitesi belirlenmiş ve adsorpsiyon kapasitesi Cu ve Cd için sırasıyla 3.09 mg/g, 7.73 mg/g olarak bulunmuştur. Geliştirilen yöntem ile çeşme suyunda Cu ve Cd elementlerin tayini gerçekleştirilmiştir. Çeşme suyu örneği için bağıl standart sapma ve bağıl hata değerleri sırasıyla yaklaşık olarak %6, %7.5 olarak bulunmuştur.

2009, 57 sayfa**Anahtar kelimeler:** Ağır metal, Katı faz ekstraksiyon (SPE), İndüklenmiş eşleşmiş plazma (ICP), *Anoxybacillus flavithermus HBB 134*

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

**THE INVESTIGATION OF SEPERATION AND PRECONCENTRATION
CONDITIONS OF HEAVY METAL IONS BY SOME BACTERIAS IMMOBILIZED
ON SOLID SUPPORT**

S. Ebru SOYSAL

Adnan Menderes University

Faculty of Arts and Sciences

Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa DEMİR

In this thesis, silicagel has been used as a support material, immobilized with *Anoxybacillus flavithermus HBB 134*. Pre-concentration conditions of Cu^{2+} and Cd^{2+} elements are researched with solid phase extraction method by using the resulting adsorbent. The determination of these metals was made by inductively coupled plasma atomic emission spectrometer (ICP-AES). In this study, the effects of the amount of bacteria immobilized on silicagel, the pH of solution, types and volume of eluent, and volume of solution on the recovery yields of the elements were investigated and optimum conditions have been determined. The recoveries of Cu^{2+} and Cd^{2+} by *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilized silicagel were obtained as %97.58 and %95.57, respectively. The adsorption capacity of *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilized silicagel was investigated and adsorption capacities of Cu^{2+} and Cd^{2+} were determined as 3.09 mg/g, 7.73 mg/g, respectively. The proposed method was applied to tap water samples for the determination of the Cu^{2+} and Cd^{2+} . Relative Standard deviation and relative error were found as about 6% and 7.5% respectively for tap water samples.

2009, 57 pages**Keywords:** Heavy metals, Solid phase extraction (SPE), Inductively coupled plasma (ICP), *Anoxybacillus flavithermus HBB 134*

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans öğrenimim boyunca her türlü olanak ve imkanı sağlayan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, bu tezin konu seçiminden yazımına kadar her aşamada yoğun emeğini ve desteğini gördüğüm sevgili hocam Prof. Dr. Mustafa DEMİR'e,

Laboratuvarlarında, çalışmamı sağlayan Kimya Bölüm Başkanlığı'na ve A.D.Ü Fen–Edebiyat Fakültesi Dekanlığı'na,

Laboratuvar çalışmaları sırasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. H. Halil BIYIK, Yrd. Doç. Dr. Kubilay METİN, Arş. Gör. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL, Arş. Gör. Z. Burcu BAKIR ATEŞLİER, Arş. Gör. Gülşen GÜVEN'e, ve Arş. Gör. Mert SOYSAL'a

Çalışmamı FBE–08008 nolu proje ile destekleyen Adnan Menderes Üniversitesi Rektörlüğü'ne,

ICP cihazının kullanımı konusunda desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ADÜ Merkez Araştırma Laboratuvarı çalışanlarına,

Çalışmalarım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve emeklerinin karşılığını asla ödeyemeyeceğim ailem, eşim ve dostlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

S. Ebru SOYSAL

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 3.1 İndüktif Eşleşmiş Plazma	21
Şekil 3.2 İndüktif eşleşmiş plazma kaynağındaki sıcaklıklar.....	24
Şekil 3.3 Atomlaşma ve uyarılmanın şematik gösterimi.....	25
Şekil 3.4 ICP-OES Spektrofotometresi.....	26
Şekil 4.1 Adsorpsiyon kolonunun şematik gösterimi.....	30
Şekil 4.2 Silikajelin SEM fotoğrafı (200 µm).....	35
Şekil 4.3 Silikajel üzerine <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edildikten sonraki SEM fotoğrafı (200 µm).....	35
Şekil 4.4 Silikajel üzerine <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edildikten sonraki SEM fotoğrafı (20 µm).....	36
Şekil 4.5 Silikajel üzerine <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edildikten sonraki SEM fotoğrafı (5 µm).....	36
Şekil 4.6 Kolonun hazırlanmasının şematik gösterimi.....	37
Şekil 4.7 <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajelde pH' ın bakır' ın geri kazanım verimine etkisi.....	39
Şekil 4.8 <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajelde pH' ın kadmiyum' un geri kazanım verimine etkisi.....	40
Şekil 4.9 Silikajel üzerine immobilize edilen <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> miktarını Cu ²⁺ nin geri kazanım verimine etkisi.....	41
Şekil 4.10 Silikajel üzerine immobilize edilen <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> miktarını Cd ²⁺ nin geri kazanım verimine etkisi.....	42
Şekil 4.11 <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edilmiş silikajelde geri alma çözeltisi hacminin Cu ²⁺ nin geri kazanma verimine etkisi.....	44
Şekil 4.12 <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edilmiş silikajelde geri alma çözeltisinin cinsi ve derişiminin Cd ²⁺ nin geri kazanma verimine etkisi.....	44
Şekil 4.13 <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edilmiş çözelti derişiminin geri kazanım verimine etkisi.....	45
Şekil 4.14 <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edilmiş silikajelde çözelti hacminin Cu ²⁺ nin geri kazanma verimine etkisi.....	46
Şekil 4.15 <i>Anoxybacillus flavithermus HBB 134</i> immobilize edilmiş silikajelde çözelti hacminin Cd ²⁺ nin geri kazanma verimine etkisi.....	47

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 1.1 Bakır içeren bazı enzimler ve biyolojik işlevleri.....	2
Çizelge 1.2 Bakır iyonlarının kan ve idrardaki sınır değerleri, fazlalığında görülen hastalıklar.....	3
Çizelge 1.3 Kadmiyum iyonlarının kan ve idrardaki sınır değerleri, fazlalığında görülen hastalıklar.....	4
Çizelge 4.1 <i>Anoxybacillus flavithermus</i> HBB 134 immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajelde geri alma çözeltisini cinsi ve derişiminin geri kazanma verimine etkisi.....	43
Çizelge 4.2 <i>Anoxybacillus flavithermus</i> HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde Cu^{2+} 'nin geri kazanma verimine diğer iyonları etkisi.....	48
Çizelge 4.3 <i>Anoxybacillus flavithermus</i> HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde Cd^{2+} 'nin geri kazanma verimine diğer iyonları etkisi.....	48
Çizelge 4.4 <i>Anoxybacillus flavithermus</i> HBB 134 immobilize edilmiş silikajel ile Aydın çeşme suyu örneğinde Cu(II) ve Cd(II) tayini.....	49

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	i
İNTİHAL BEYAN SAYFASI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	vii
1. GİRİŞ	1
1.1. Bakır.....	2
1.2. Kadmiyum.....	3
1.3. Termofilik Bakteriler.....	4
1.4. Mikroorganizmaların Metalleri Tutma Mekanizması.....	6
1.5. Bakterilerin Metal Tutması	7
2. AYIRMA ve ZENGİNLEŞTİRME YÖNTEMLERİ.....	8
2.1. Elektrolitik Zenginleştirme (Elektroliz).....	11
2.2. Sıvı-Sıvı Özütleme.....	11
2.3. Birlikte Çöktürme.....	11
2.4. İyon Değişirme Yöntemi	13
2.5. Uçuculaştırma Yöntemi	13
2.6. Katı Faz Ekstraksiyonu.....	14
2.7. Adsorpsiyon.....	14
2.7.1. Adsorpsiyon Mekanizmaları.....	15

2.7.1.1. Fiziksel adsorpsiyon.....	15
2.7.1.2. Kimyasal adsorpsiyon	16
2.7.1.3. İyonik adsorpsiyon.....	16
2.7.2. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler	16
2.7.2.1. pH.....	16
2.7.2.2. Sıcaklık.....	17
2.7.2.3. Yüzey alanı.....	17
2.7.2.4. Çözünen maddenin cinsi ve özellikleri.....	17
3. ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ.....	18
3.1. Atomik Spektroskopisi.....	18
3.2. Atomik Emisyon Spektroskopisi.....	19
3.3. İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP).....	20
3.3.1. Numune Verilmesi	23
3.3.2. ICP ile İşlem.....	25
3.3.3. Plazma Tekniği.....	26
3.4. İndüktif Eşleşmiş Plazma–Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES)..	26
4. DENEYSEL KISIM.....	29
4.1. Cihaz ve Malzemeler.....	29
4.1.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES)	29
4.1.1.1. pH metre.....	29

4.1.1.2. Peristaltik pompa.....	29
4.1.1.3. Adsorpsiyon kolonu.....	29
4.1.1.4. Kimyasal maddeler ve hazırlanmaları.....	30
4.1.1.5. Kalibrasyon çözeltileri.....	32
4.1.1.6. Numune çözeltileri.....	33
4.1.2. Bakteri Üretimi	33
4.1.2.1. Besi ortamı.....	33
4.1.2.2. Deney kültürü.....	33
4.1.2.3. Ölü bakteri eldesi.....	34
4.1.3. Bakterilerin Silikajel Üzerine İmmobilizasyonu	34
4.1.4. Adsorpsiyon Kolonunu Hazırlanması.....	37
4.1.5. Zenginleştirme İşlemi.....	38
4.1.6. Geri Kazanım Veriminin Hesaplanması.....	38
4.1.7. Geri Kazanım Verimine Etki Eden Faktörler.....	38
4.1.7.1. pH' ın geri kazanım verimine etkisi.....	39
4.1.7.2. Bakteri kütlelerinin geri kazanım verimine etkisi.....	40
4.1.7.3. Eluent cinsinin geri kazanım verimine etkisi.....	42
4.1.7.4. Eluent hacminin geri kazanım verimine etkisi.....	43
4.1.7.5. Çözelti derişiminin geri kazanım verimine etkisi.....	45
4.1.7.6. Çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi.....	46

4.1.7.7. <i>Anoxybacillus Flavithermus Hbb 134</i> immobilize edilmiş silikajelde Cu^{2+} ve Cd^{2+} nin geri kazanma verimine diğer iyonların etkisi.....	47
4.1.7.8. Adsorpsiyon kapasitesi.....	48
4.1.7.9. Çeşme suyu örneğinde $Cu(II)$ ve $Cd(II)$ tayini.....	49
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	50
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	57

1. GİRİŞ

Biyolojik sistemler normal gelişimlerini devam ettirmek için bazı elementlere ihtiyaç duyarlar. Örneğin, normal insan dokularında 40'dan fazla element bulunur. Bunlardan canlı sistemlerde metabolik bir role sahip olanlarına gerekli elementler denir. Fazla miktarda tüketilen ve biyolojik sistemlerde fazla oranda bulunan gerekli elementlere makro elementler, bitkinin veya hayvanın yaşam döngüsünü tamamlayabilmesi için alması gereken fakat çok azı yeterli olan elementlere de mikro elementler denir (Ergene, 1982).

Bu güne kadar 19 elementin biyolojik sistemler için gerekli olduğu anlaşılmıştır. Bunlar C, H, O, P, K, N, S, Ca, Mg, Fe, Mn, B, Mo, Cu, Zn, Cl, Na, Co ve Ni' dir. Bunlardan ilk dokuzu makro besin elementi, sonraki on element ise mikro besin elementidir. Bazı araştırmacılar mikro besin elementi listesine I, Si, Sn, Se, Cr, V elementlerini de eklemektedirler.

Bazı ağır metaller (örneğin bakır, kadmiyum, selenyum, çinko vb.) insan vücudunun metabolizmasını sürdürmek için gereklidirler. Ancak bunlar, yüksek derişimlerde toksik olabilirler. Ağır metal zehirlenmesi içme sularından (örneğin kurşun borularda), emisyon kaynaklarına yakın ortamlardaki havalardan veya gıda zinciri yoluyla oluşabilmektedir. Endüstriyel işlem ve ürünlerde ağır metal kullanımı son yıllarda hızla artmış ve buna bağlı olarak insanlar üzerindeki etkisi de tehlikeli değerlere ulaşmıştır.

Teknolojik gelişme ile birlikte artan çevre kirliliği ve dolayısıyla eser elementlerin nitelik ve nicelik açısından daha fazla araştırılması, canlı hayat açısından zorunlu hale gelmiştir. İnsan ve diğer canlılardaki yararlı eser element miktarlarının, belirli düzeyde olması gerektiği bu konudaki hassasiyeti daha da artırmaktadır. Bazı elementlerin çok az miktarlarının bile canlı organizmayı yok edecek durumda olması, eser elementlerin yaşamsal faaliyetler üzerindeki etkilerini açıkça ortaya koymaktadır. Bu nedenle eser elementler biyoloji, tıp, ziraat, elektronik, ham madde,

kalite kontrol, farmakoloji, ilaç sanayi, ileri teknoloji ürünü malzemeler ve çevre kirliliği açısından oldukça önem taşımaktadır (Kartal, 2004).

Bu çalışmada; bakır ve kadmiyum iyonlarının katı destek üzerine immobilize edilmiş mikroorganizmalar ile ayırma ve deriştirme şartları araştırılmıştır. Bakır iyonları insan metabolizması için yaşamsal öneme sahiptir fakat yüksek derişimlerde alındığında tıpkı kadmiyum gibi toksik olmaktadır. Bu iki metalin vücuttaki işlevlerinden aşağıda kısaca bahsedilmiştir.

1.1. BAKIR

Bakır; demir ve mangan gibi elementler bitki metabolizmasında yükseltgenme-indirgenme tepkimelerinde görev alırlar. Bakır, bir düzineden fazla enzimin yapısında bulunur ve işlevleri demirin faydalı kılınmasından, deriye renk verilmesine kadar değişir. Bu enzimler ve vücuttaki biyolojik işlevleri çizelge 1.1' de verilmiştir.

Metal	Enzim	Biyolojik işlem
Bakır	Serulaplazmin	Demiri faydalı kılma
	Sitokrom oksidaz	Oksitlenme
	Lisin oksidaz	Kalp damarlarının duvar elastikliğini sağlama
	Tirosinaz	Deriye rengini verme
	Plastosiyanın	Fotosentez
	Hemosiyanın	Oksijen transferi

Çizelge 1.1 Bakır içeren bazı enzimler ve biyolojik işlevleri (Frieden, 1972)

Sitokrom oksidaz, hücrelerde en önemli enzimlerden biridir. Çünkü bu enzim elektronun oksijene taşınmasından sorumludur. Elektron taşınmasını sağlayan iki bakır atomu içerir.

Bakır insan vücudu için bu kadar gerekliyen yüksek derişimler de toksik olabilir. Bu nedenle vücuttaki bakır miktarı belirli değerlerde tutulmalıdır. Bu değerler çizelge 1.2' de verilmiştir.

Element/D erişim	Matriks	Sağlık Kontrolü için Referans Aralık	Patolojik Değişim	Görülen Hastalık
Bakır mmol/L	Serum	12-26	< 10 > 30	Wilson hastalığı, Menkes belirtisi, beslenme bozukluğu, tümör oluşumu, siroz, enfeksiyon
	İdrar	0,2-0,8	> 1	Wilson hastalığı, böbrek rahatsızlıkları

Çizelge 1.2 Bakır iyonlarının kan ve idrardaki sınır değerleri, fazlalığında görülen hastalıklar (Delves, 1981)

1.2. KADMIYUM

Kadmiyum gümüş benzeri renginde bir metaldir. Havada hızla kadmiyum okside dönüşür. Kadmiyum sülfat, kadmiyum nitrat, kadmiyum klorür gibi inorganik tuzları suda çözünür.

Havadaki kadmiyumun, 0,001 ppm limitini aşması durumunda, solunumdaki akut etkileri gözlenir. Kadmiyumun vücuttan atılımını zordur. Olumsuz etkileri zamanla ortaya çıkar.

Uzun süreli temasta en fazla etkilenecek organ böbreklerdir. Akciğer ve prostat kanserlerinin oluşumunda kadmiyumun etkisi kesin olarak belirlenmiştir.

İnsan vücudu için gerekli olan elementler yüksek derişimler de toksik olabilirler. Bu nedenle vücuttaki bakır ve kadmiyum miktarı belirli değerlerde tutulmalıdır. İdrar ve kandaki kadmiyum derişiminin sınır değerleri ve aşılması durumunda görülen hastalıklar çizelge 1.3’de verilmiştir.

Element/ Derişim	Matriks	Sağlık Kontrolü için Referans Aralık	Patolojik Derişim	Görülen Hastalık
Kadmiyum mmol/L	Kan/İdrar	5-130	> 130	Aşırı maruz kalınırsa böbrek hasarı ve kemik bozukluğu

Çizelge 1.3 Kadmiyum iyonlarının kan ve idrardaki sınır değerleri, fazlalığında görülen hastalıklar (Delves, 1981)

1.3. TERMOFİLİK BAKTERİLER

Dünya üzerinde yaşayan canlılara bakıldığında üç grup altında toplandığı görülmektedir. Bunlar; bakteriler (öbakteriler), arkebakteriler ve ökaryotlardır (Woese et al., 1990).

Bakteriler; havada, toprakta, suda yaşayabilen çomak, filament, küre veya disk şeklinde olan mikroorganizmalardır. Bakteriler; enerji elde etme yollarına, kullandıkları enerji kaynaklarına, oksijen ihtiyaçlarına ve en uygun (optimum) sıcaklık isteği gibi parametrelere göre sınıflandırılabilirler.

Bakteriler sıcaklık optimumlarına göre psikrofiller, mezofiller, termofiller ve hipertermofiller olarak dört farklı grupta sınıflandırılırlar. Psikrofillerin optimum sıcaklıkları düşüktür. Mezofiler, orta derecede bir optimum sıcaklığa sahiptirler. Termofiller yüksek sıcaklık optimumlarına; hipertermofiller çok daha yüksek sıcaklık optimumlarına sahip mikroorganizmalardır.

Bakteriler içerisinde ekstrem (aşırı derece, yüksek) sıcaklık değerlerine karşı toleranslı olan tek mikroorganizma grubu termofilik mikroorganizmalardır. Bazı mikroorganizmalar, 0°C'nin altında bazıları ise 100°C ve üzerinde yaşamsal faaliyetlerini sürdürebilmektedir. Yapılan çalışmalar sonucunda 80-85°C'de, ve hatta suyun kaynama sıcaklığı üzerindeki sıcaklık değerlerinde bile mikrobiyal yaşamın olduğu tespit edilmiştir. Bu mikroorganizmalar hipertermofilikler olarak adlandırılmaktadır.

Termofilik mikroorganizmalar, ilk kez 1879 yılında Miquel tarafından topraktan, çöpten, kanalizasyondan, nehir çamurlarından ve kirliliklerden, 1982 yılında ise Stetter tarafından suyun kaynama noktasına yakın bir sıcaklığa sahip olan deniz volkanik çukurlarından izole edilmiştir (Adams 1993; Dülger 2003). İlk tespit edilen termofilik mikroorganizma, 85°C ve üzeri sıcaklıklarda yaşayabilen ve optimum gelişme sıcaklığı 75°C olan *Sulfolobus acidocaldarius*' dir (Huber and Stetter 1992). O dönemden beri çok sayıda çalışma gerçekleştirilmiştir. Üzerinde en çok çalışılan mikroorganizma *Bacillus sterothermophilus* olup bu türe ait çok sayıda suş tespit edilerek tanımlanmıştır (Guagliardi et al. 1996).

Termofilik mikroorganizmaların ekstrem sıcaklık değerlerinde yaşamsal faaliyetlerini sürdürmeleri; membran lipitlerinin erime noktasının mezofillere göre yüksek olmasından, G-C (guanin-sitozin bağı) içeriğinin dolayısıyla hidrojen bağlarının sayılarının fazlalığından, sitoplazmik membranın iyon geçirgenliğini değiştirebilmelerinden, düşük su aktivitesine sahip olmalarından, temel termofiliklerin DNA'larının süper sarmal yapıda olmasından, içerdikleri proteinlerin çok sayıda alt birimden oluşmasından, daha az polar aminoasit ve daha fazla sayıda yüklü aminoasit ihtiva etmelerinden, içerdikleri küçük moleküllerin kararlılığından kaynaklanmaktadır (Kristjansson, 1992, Dülger 2003).

Termofilik organizmalar gelişimleri için ihtiyaç duydukları optimum sıcaklıklara göre 3 gruba ayrılırlar;

1. Zorunlu veya eksterm termofiller: Optimum gelişim sıcaklıkları 65-75°C'dir ve 40-42°C' nin altında çoğalamazlar.
2. Fakültatif termofiller: 50-65°C arasında gelişirler, fakat 30°C'de gelişebilmektedirler.
3. Termotolerant termofiller : Maksimum gelişim sıcaklıkları 45-50°C'dir ve 30°C'nin altında da gelişebilirler. (Brock 1967).

Birçok bakteri cinsinde, termofilik türlere rastlanmakta olup, bunlar genellikle morfolojik olarak mezofilik eşlerine benzerlik gösterirler. Aynı karbonhidratları

fermente edip, benzer azot kaynaklarını kullanır ve aynı oksidatif yolu izlerler. Aerop, anaerop ve fakültatif aerop olanlar vardır (Son, 1999).

Termofilik bakterilerin yayılım gösterdikleri alanlar çok çeşitlidir. Bu mikroorganizmalara tüm jeotermal alanlarda, termal topraklarda ve çöllerde rastlanmaktadır. Jeotermal bölgelere örnek olarak; nötral pH'lı kaplıcalar, kükürtçe zengin asidik kaplıcalar ve derin deniz dipleri verilmektedir. Doğal jeotermal alanlar yer kabuğu hareketlerinin görüldüğü tektonik aktif bölgelerinde bulunur. Çok sayıda araştırmanın gerçekleştirildiği jeotermal alanlar; İzlanda, Yeni Zelanda, Japonya, İtalya, Rusya ve Amerika Birleşik Devletlerinde yer alan Yellowstone uluslararası parkıdır.

Termofilik bakterilerin bazıları, uranyum madenlerinde bile bulunabilmektedir. Yapılan bir araştırmada, Almanya'daki bir uranyum madeninden *metallosphaera prunae* olarak tanımlanan, yeni bir termoasidofilik arkeum (eski adıyla arkebakteri) izole edildiği bildirilmiştir (Fuchs et al 1995).

1.4. MİKROORGANİZMALARIN METALLERİ TUTMA MEKANİZMASI

Hücre tarafından metal tutulması, mikroorganizma yapısının karmaşıklığı nedeniyle çeşitli şekilde açıklanabilir. Bu nedenle biyosorpsiyon mekanizması çok çeşitlidir ve hala tam olarak anlaşılammıştır. Bu mekanizma farklı kriterlere göre sınıflandırılabilir.

Hücre metabolizmasına bağlılığına göre biyosorpsiyon mekanizması ikiye ayrılabilir.

1. Metabolizmaya bağlı olan
2. Metabolizmaya bağlı olmayan

Uzaklaştırılmış metalin bulunduğu yere bağlı olarak da biyosorpsiyon sınıflandırılabilir.

1. Hücre dışı birikme/çökme
2. Hücre yüzeyi adsorpsiyonu/çökme
3. Hücre içi birikme

Metabolizmaya bağlı olan biyosorpsiyon tipinde hücre içi birikim söz konusudur ve biyosorpsiyonun bu çeşidi yalnız canlı hücrelerle gerçekleşir. Bu olay; toksik metallerin varlığında reaksiyon veren mikroorganizmanın aktif savunma sistemi ile ilişkilidir. Biyosorpsiyon aniden gerçekleşen bir olay değildir, mikroorganizmanın reaksiyonu için zaman gereklidir (Veglio and Beolchini, 1997).

Metabolizmaya bağlı olmayan biyosorpsiyon çeşidinde ise metal ve hücre yüzeyinin fonksiyonel grupları arasında fizikokimyasal etkileşim vardır ve bu değişim fiziksel adsorpsiyon, iyon değişimi ve kompleks oluşumuna dayanmaktadır.

Mikrobiyal biyokütlenin hücre duvarı; başlıca polisakkarit, protein ve lipitlerden oluşmaktadır. Bunlar, metal bağlama fonksiyonel grupları olan karboksilat, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino gruplarını bolca içermektedir. Bu çeşit biyosorpsiyon çabuk ve tersinirdir (Kuyucak et al., 1988). Bu özelliklere sahip olan biyokütle, iyon değiştirici reçinelerin veya aktif karbonun kimyasal karakteristiklerine sahiptir, bu durum da biyosorpsiyonun endüstriye uygulanmasında birçok avantaj sağlar.

Çökme halinin sınıflandırılması tek değildir. Mekanizma hücre metabolizmasına bağlı olabilir veya olmayabilir (Ercile vd, 1994). Toksik metal varlığında, şayet mikroorganizma çökme prosesini destekleyen ürünler üretirse çökme hücre metabolizmasına bağlı olabilir. Öte yandan çökme işlemi, metal ile hücre yüzeyi arasındaki bir kimyasal etkileşimden sonra gerçekleşirse hücre metabolizmasından bağımsızdır (Veglio ve Beolchini, 1997).

1.5. BAKTERİLERİN METAL TUTMASI

Bakteri hücrelerinin yüzeyleri, kendilerine özgü kimyasal gruplarla iyonik bağ yapma kabiliyeti ile çeşitli ağır metalleri adsorplayabilirler (Rho et al., 2002).

Metal bağlanma bölgeleri bakteri türlerine ve metallere göre farklılık gösterir. Örneğin bir gram negatif bakteri olan *Pseudomonas fluorescens* de galyum ve uranyum tüm hücre zarına bağlanırken, platinin hücre zarının lipopolisakkaritlerine bağlı olduğu görülür (Krueger et al., 1993). *Pseudomonas stutzeri*'nin sitoplazmasında adsorplanmış bakır ve kurşun gibi metallerin homojen olarak dağılımı gözlenir (Mattuschka et al., 1994).

Diğer taraftan gram pozitif bakterilerin hücre duvarında daha güçlü bir ağır metal adsorpsiyonu gözlenir. *Bacillus subtilis*'da hücre duvarındaki metal bağlanma bölgeleri belirlenmiştir (Beveridge et al., 1976). Peptidoglikan ve teikoik aside ait fosfat ve karboksil gibi anyonik grupların ana metal bağlama bölgeleri olduğu düşünülmektedir (Beveridge et al., 1980). Gram pozitif bakteri grubuna dâhil olan *Streptomyces* ile ağır metal adsorpsiyonunda, ağır metal bağlama kapasitesin çok fazla olduğu düşünülmekte ve atık sulardan metallerin geri kazanılması için alternatif bir yöntem olarak da kabul edilmektedir. *Streptomyces* ile uranyum adsorpsiyonu, hücre ve hücre elemanları kullanılarak yaygın olarak çalışılmıştır. Uranyumun geri kazanılmasında immobilize hücreler kullanılarak daha iyi gelişmeler elde edilmiştir (Rho et al., 2002).

2. AYIRMA VE ZENGİNLEŞTİRME YÖNTEMLERİ

Saf olmayan bir bileşiğin saflaştırılması veya bir karışımın bileşenlerine ayrılabilmesi işlemlerinin tümü "ayırma ve saflaştırma işlemleri" olarak bilinirler. Ayırma ve saflaştırma işlemlerindeki temel amaç, maddelerin fiziksel veya kimyasal özelliklerindeki farklılıklarından yararlanarak, ayırma ve saflaştırma gerçekleştirmek ve "saf maddeler" elde edebilmektir.

Bütün ayırma yöntemlerinde katı-sıvı, sıvı-sıvı, sıvı-gaz ve katı-gaz şeklinde olabilen iki faz bulunmaktadır. Genel olarak eser element çalışmalarında ayırma yöntemlerinin üç ayrı uygulaması vardır. Bunlar şöyle sıralanabilir:

- 1- Makro-mikro ayırma: Ana bileşen numuneden uzaklaştırılırken, eser bileşenler çözültide kalır
- 2- Mikro-makro ayırma: Eser bileşenler katı veya çözülmüş numuneden uzaklaştırılırken ana bileşen çözültide kalır.
- 3- Mikro-mikro ayırma: Eser bileşenler diğer eser bileşenlerden ayrılır.

Ana bileşen numuneden uzaklaştırılırken beraberinde eser elementleri de sürükleyebileceği için eser analizlerde makro- mikro ayırma işlemine pek rastlanmaz. Diğer iki uygulama ise eser element analizlerinde daha çok kullanılmaktadır. Eser elementlerin birbirleri üzerine girişimleri varsa (örneğin, spektral girişimler), eser bileşenlerin birbirlerinden ayrılmaları da gerekebilir.

Analiz öncesi yapılan ön işlemler, numunenin çözülmesi, bileşenlerin ayrılması, eser elementlerin deriştirilmesi ve uygun ortama alınmasıdır. Ön işlemler esnasında eser elementlerin başka bir ortama alınarak daha küçük hacme toplanması “zenginleştirme yöntemleri “ olarak adlandırılır.

Eser element analizinde kompleks oluşumu ve ortam, analizi farklı şekillerde etkiler (Balcerzak, 2002). Bununla birlikte bazı analitlerin derişimleri analizin tayin sınırına yakın yada altındadır. Zenginleştirme bu sorunları çözerek kolay bir analiz sağlar (Daorattanachai et al., 2005).

Eser element analizlerinde kullanılan ayırma ve zenginleştirme yöntemleri ile yapılan tayinlerde sağlanan gelişmeler şöyledir:

- 1- Eser element derişimi artırılarak yöntemin tayin kapasitesi genişletilir.
- 2- Yöntemin duyarlılığının artması için eser elementin uygun ortama alınmasıyla, ortamdaki gelebilecek girişimler giderilir.
- 3- Büyük numune miktarları ile çalışılabildiği için numunenin homojen olmayışından kaynaklanan hatalar engellenir.
- 4- Ayırma işlemi ile eser elementler bilinen ortam (matriks) içine alındığından, standartlar ile numune ortamını benzetmek kolaylaşır.

5- Bozucu etki gösteren ortam, uygun ortam ile yer değiştirdiği için zemin girişimleri azalır.

Eser analizde kullanılan zenginleştirme yöntemlerinin değerlendirilmesinde iki önemli kriter vardır. Bunlardan birincisi, istenilen eser elementin ortamdan ayrılmasının ölçüsü olan geri kazanım verimi R (recovery)'dir. Geri kazanım verimi aşağıdaki formül ile hesaplanır.(Bağ, 1998)

$$\%R = \frac{Q}{Q_0} \times 100$$

Burada;

Q_0 : Numunede bulunan analiz elementinin miktarı,

Q : Zenginleştirme sonrası analiz elementinin bulunan miktarıdır. İdeal olan, R değerinin %100 olmasıdır, fakat pratikte %99'dan büyük geri kazanım verimine ulaşmak her zaman mümkün değildir. İkinci kriter ise, zenginleştirme katsayısıdır ($K_{T/M}$). Zenginleştirme katsayısı aşağıdaki formül ile hesaplanır.

$$K_{T/M} = \frac{C_t / C_m}{Q_t / Q_m}$$

Burada;

M : Matriks,

T : Söz konusu eser elementi gösteren simge

Q_T ve Q_M : Numunedeki analiz elementinin (T) ve matriksin (M) derişimi,

C_T ve C_M : Zenginleştirme sonrası analiz elementi (T) ve matriks (M) derişimi

Eser elementlerin ayrılma ve zenginleştirilmesi elektrolitik zenginleştirme, sıvı-sıvı özütleme, birlikte çöktürme, iyon değerleştirme, uçuculaştırma, katı faz ekstraksiyonu gibi yöntemlerle yapılabilir. Bu zenginleştirme işlemlerinin temel prensipleri aşağıda kısaca özetlenmiştir.

2.1. ELEKTROLİTİK ZENGİNLEŞTİRME (ELEKTROLİZ)

Elektroliz yönteminde eser elementin indirgenme potansiyeline dayanarak ayırma ve zenginleştirme yapılır. Bir elementin elektrolitik olarak biriktirilmesi elektrolit ve numunenin bileşimine, elektrot türüne ve şekline, elektroliz hücresine ve diğer deneysel değişkenlere bağlıdır. Eser elementlerin ayırma ve zenginleştirilmesinde potansiyel kontrollü elektrolizin yanı sıra, sıyırma yöntemleri de yaygın olarak kullanılır. (Bağ,1998).

2.2. SIVI-SIVI ÖZÜTLEME

Özütleme, bir kimyasal bileşiğin bir sıvı fazdan bununla karışmayan başka bir sıvı faza geçirilmesi işlemidir. Özütleme yöntemi eser analizde kullanılan zenginleştirme yöntemleri arasında basitliği, geniş ve hızlı uygulanabilirliği sebebiyle önemli bir yer tutar. Eser element uygulamalarında, özütleme yönteminin bir fazı genellikle su, diğer fazı ise su ile karışmayan uygun bir organik çözücüdür. Herhangi bir bileşenin su fazından organik faza geçmesi bir denge olayıdır. Özütleme işleminde sulu fazdan organik faza geçen madde miktarının büyüklüğü olarak tanımlanan özütleme verimi, dağılım katsayısı D ile belirlenir. D , denge kurulduğunda, elementin organik fazdaki toplam derişiminin, sulu fazdaki toplam derişimine oranıdır. Özütleme yönteminin iki uygulama şekli vardır. Bunlardan birincisinde; ana bileşen ortamdan uzaklaştırılıp eser elementler sulu fazda bırakılırken diğerinde sulu fazdaki eser elementler, çoğunlukla şelatları veya farklı iyonik kompleksleri şeklinde organik faza geçirilirler. En yaygın uygulama şekli ikincisidir.

2.3. BİRLİKTE ÇÖKTÜRME

Elementlerin ayrılmasında çöktürme yöntemlerinin kullanımı, sulu çözeltilerdeki bileşiklerinin çözünürlüklerinin farklı olmasına dayanır. Çöktürme yöntemleri çoğunlukla eser elementlerin tek başına ayrılmasında kullanıldığı gibi, ana bileşenin eser bileşenlerden ayrılmasında da kullanılır.

Yöntemde metal iyonları bir toplayıcı çökelek yardımıyla birlikte çöktürülmekte, çökelek uygun bir çözücüde küçük hacimde çözüldükten sonra, son çözeltideki metal derişimleri AAS, ICP-MS gibi bir enstrümantal yöntemle tayin edilmektedir (Özcan vd, 2001). Birlikte çöktürme vasıtası olarak; hafniyum, alüminyum, demir(III), magnezyum ve indiyum(III)'ün hidroksitleri, kobalt, bakır ve demir(III)'ün pirolidinditiyokarbamatları (APDC) kompleksleri, nikel ve çinko'nun dietilditiyokarbomat (DDTC) kompleksleri, mangan dioksit ve kalsiyum florür gibi birçok toplayıcı veya taşıyıcı bu amaçla kullanılmış ve halen kullanılmaktadır (Tokalıoğlu vd, 2001). Birlikte çöktürme yaygın olarak doğal suların analizlerinde kullanılmaktadır (Saraçoğlu vd, 2002). Birlikte çöktürme deneysel şartlara ve eser elementler ile taşıyıcının (analiz elementini birlikte çöktüren madde) fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlı olarak; hapsolma, karışık kristal oluşumu veya adsorpsiyon şeklinde üç tür mekanizma gösterir. Taşıyıcı ve eser elementlerin benzer kimyasal özellik göstermeleri durumunda birlikte çöktürülme sırasında istenilmeyen karışık-kristal yapı oluşumu gösterebilirler. Zıt özellikler (asit ve baz özelliği gibi) gösterirlerse, birlikte çöktürme işlemi kimyasal bileşikler oluşumu ile sonuçlanır.

Karışık kristal oluşumunda çöktürme işlemi ne kadar yavaş gerçekleşirse, birlikte çökme o kadar çok olur. Eğer kristal oluşumu hızlı gerçekleşirse, kristal hızla büyürken çökelek yüzeyinde bulunan yabancı iyonlar ve çözücü molekülleri mekanik olarak hapsolur. Yavaş çökmede hapsolma ihtimali çok daha azdır.

Numune çözeltisine, oluşan çökeleğin santrifüjlenerek veya süzülerek kolayca ayrılacağı miktarda taşıyıcı ilave edilmelidir. Aynı zamanda girişim yapan iyonların adsorpsiyonunu önlemek için taşıyıcı miktarının mümkün olduğu kadar az olması da gerekmektedir. Pratikte 50–200 mL' lik numune çözeltisi için 2–5 mg taşıyıcı kullanılır.

Ana bileşeni eser bileşenden ayırmak için çöktürme işleminin kullanılması yaygın değildir. Çünkü ana bileşen çökerken eser bileşenleri de sürükleyip birlikte çöktürebilir. Bu da madde kaybına yol açar.

2.4. İYON DEĞİŞTİRME YÖNTEMİ

İyon değiştirme tekniği, bir katı maddenin yapısında bulunan iyonları temasta bulunduğu çözelti içindeki aynı cinsten yüklü başka iyonlarla bir dengeye göre değiştirmesi özelliğine dayanır. Bu amaçla kullanılan katı maddeler, çözelti ortamında çözünmeyen büyük molekülü doğal ve yapay maddelerdir. Bunlar organik ve inorganik olmak üzere ikiye ayrılırlar. İnorganik olan katı maddeler çok eskiden beri bilinen killer ve zeolitlerdir. Organik iyon değiştiriciler ise 1937'den beri kullanılmakta olan, yapılarında sayılamayacak kadar çok sayıda iyonlarına ayrılabilen fonksiyonel gruplar içeren, çapraz bağlı, büyük molekülü polimerik maddelerdir.

İyon değiştirme tekniği ile büyük hacimli çözeltiler küçük bir hacimden geçirilirken, eser elementlerin seçimli olarak tutunmaları sağlanır. Tutulan eser elementler küçük hacimli bir geri alma çözeltisi ile ikinci faza alınarak zenginleştirilir. Bu yolla elde edilen zenginleştirme katsayısı başlangıçtaki numune hacmine bağlı olarak $10^3 - 10^5$ büyüklüğündedir. Bu yöntemde, eser elementlerin dağılma katsayısının matriks elementinin katsayısından büyük olması durumunda eser element iyon değiştirici kolonda tutulur.

2.5. UÇUCULAŞTIRMA YÖNTEMİ

Uçurma ile ayırma işlemi iki şekilde yapılabilir, yani matriks veya eser element uçurularak ayrılabilir. Prensip olarak hangisi daha uçucu ise o uçurulur. Eser elementlerin uçurulması işlemi, metalik özellik göstermeyen elementlere uygulandığı gibi elementel halde veya halojen, hidrojen ve oksijen ile yapmış oldukları komplekslerinde yüksek buhar basıncı gösteren amfoter elementlere de uygulanır.

Ana bileşenin uçurularak (destilasyon, süblimleşme) uzaklaştırılması halinde, büyük miktarda reaktife ihtiyaç duyulmadan eser elementler deşiştirilebilir. Tercih edilen bu durumda ana bileşen özellikle su gibi bir sıvı, bir organik çözücü, uçucu bir asit veya amonyak çözeltisidir. Ana bileşenin buharlaştırılması esnasında bazen eser bileşenlerin uçuculuğunu azaltıcı maddeler ilave edilebilir.

2.6. KATI FAZ EKSTRAKSİYONU

Katı faz ekstraksiyonu eser ağır metal iyonlarının zenginleştirilmesinde etkili bir yöntemdir. Bu yöntemde adsorbent üzerine analit iyonları adsorbe edilir ve daha sonra uygun bir elüat yardımı ile desorbe edilir. Metal belirlemesi bu çözültide yapılır. Yöntem, adsorbentin çözelti ortamına ilavesi ile (Batch yöntemi) veya adsorbentin bir kolona doldurulması ile (kolon yöntemi) gerçekleştirilir. Katı faz ekstraksiyonunda aktif karbon, Amberlit XAD reçineleri, HP-20 reçinesi, fulllorenes, naftalin gibi sorbentler çeşitli matrikslerden ağır metal iyonlarının eser miktarının zenginleştirilmesi ve ayrılması için kullanılmaktadır. Katı faz ekstraksiyonu, solvent ekstraksiyonuna kıyasla basit ve hızlı ekstraksiyon sistemidir. Yüksek konsantrasyon faktörüne ve büyük hacimlerde çalışılmasına olanak sağlar.

Son yıllarda katı faz ekstraksiyonunda, sepiolit veya silika üzerine immobilize edilmiş mikroorganizmalarla, eser metal iyonlarının zenginleştirilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır (Saraçoğlu vd, 2002).

2.7. ADSORPSİYON

Atom, iyon ya da moleküllerin bir katı yüzeyinde tutulmasına adsorpsiyon, tutunan taneciklerin yüzeyden ayrılmasına desorpsiyon, katıya adsorplayıcı (adsorbent), katı yüzeyinde tutunan maddeye ise adsorplanan (adsorban) adı verilir. Adsorpsiyon olayı sabit sıcaklık ve sabit basınçta kendiliğinden gerçekleştiği için, adsorpsiyon sırasındaki serbest entalpi değişimi daima negatif işaretlidir. Diğer taraftan, gaz ya da sıvı ortamında daha düzensiz olan tanecikler katı yüzeyinde tutunarak daha düzenli hale geldiğinden, adsorpsiyon sırasındaki entropi değişimi de daima negatif işaretlidir.

Metaller ve plastikler de dâhil olmak üzere bir kristal yapıya sahip olsun ya da olmasın tüm katılar az veya çok adsorplama gücüne sahiptirler. Adsorplama gücü yüksek olan bazı doğal katılar kömürler, killer, zeolitler ve çeşitli metal filizleri,

yapay katılar ise aktif kömür, moleküler elekler (yapay zeolitler), silikajeller, metal oksitleri katalizörler ve bazı özel seramikler şeklinde sıralanabilir.

Çözültiden bir katıya adsorpsiyon, belirli bir çözücüde çözünen katı sistemi için iki belirgin özelliğinin birinin ya da ikisinin sonucu olarak oluşur. Bunlar:

1. Adsorpsiyon için ana sürücü güç, çözücüye göre çözünenin hidrofobik özelliği
2. Katı için çözünenin yüksek bir ilgiye sahip olmasıdır.

Adsorpsiyona etki eden bu iki ana nedenin her biri değişen derecelerde etkili olabilir. Çözünmüş bir maddenin çözünürlük derecesi iki sürücü gücün birincisinin şiddetinin saptanmasında önemli bir etkidir.

Adsorpsiyonda ikinci ana sürücü güç katı maddenin çözünece karşı ilgisinden kaynaklanır. Bu yüzey olayı, çözünenin adsorbente elektriksel çekilmesinden, Van der Waals çekiminden ya da kimyasal yapıdan kaynaklanır (Weber, 1972; Sarıkaya, 1993; Gönen, 2000).

2.7.1. Adsorpsiyon Mekanizmaları

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

2.7.1.1. Fiziksel adsorpsiyon (Van der waals adsorpsiyonu)

Fiziksel adsorpsiyonda yüzeye tutunmayı sağlayan, zayıf Van der Waals kuvvetleridir. Bu adsorpsiyon türü, katı yüzey ile adsorplanan madde molekülleri arasındaki çekim kuvvetlerinin etkisiyle gerçekleşir. Adsorplanan madde katının kristal örgüsü içine girmez ve çözünmez fakat yüzeyi tamamen kaplar. Düşük sıcaklık aralığında oluşabildiği gibi çok tabakalı ve rejenerasyonu kolay bir adsorpsiyon türüdür. Adsorpsiyon sonucu, ekzotermik olarak yoğunlaşma enerjisinden biraz fazla ısı açığa çıkar. Aktivasyon enerjisi düşük, bağlar tersinir ve zayıftır.

2.7.1.2. Kimyasal adsorpsiyon

Adsorplanan madde ve katı yüzey arasında kimyasal bağ oluşumu sonucu görülen adsorpsiyon tipidir. Kimyasal adsorpsiyon, tersinmez ve tek tabakalı olup genellikle yüksek sıcaklık aralığında gerçekleşir, ayrıca rejenerasyonu da oldukça zordur. Adsorpsiyon sırasında açığa çıkan ısı, reaksiyon ısısından daha büyüktür ve aktivasyon enerjisi de yüksektir.

2.7.1.3. İyonik adsorpsiyon

İyonik adsorpsiyon, elektrostatik çekim kuvvetlerinin etkisiyle, yüzeydeki yüklü bölgelere iyonik özelliklere sahip adsorbatların tutunması olarak tanımlanabilir. Burada adsorplayan ile adsorplananın iyonik güçleri ve moleküler büyüklükleri önemlidir. Çünkü adsorpsiyon bu değerlere göre seçimli olarak oluşur. İyonlar eş yüklü ise daha küçük olan tercihli olarak yüzeye tutulur. İyon değişimi, katılar ve elektrolit çözelti arasındaki iyonların tersinir değişimidir. Fiziksel, kimyasal ve iyonik adsorpsiyon arasında kesin bir ayırım yapılamaz, üçü aynı anda veya ardı ardına görülebilir (Weber, 1972; Treybal, 1981; Oguz, 1986; Metcalf, 1991; Gönen, 2000).

2.7.2. Adsorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Tek bileşenli sistemlerde adsorpsiyonu etkileyen bazı temel faktörler aşağıda özetlenmiştir.

2.7.2.1. pH

Adsorpsiyonu etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Hidronyum ve hidsoksil iyonları kuvvetle adsorbe olduklarından, diğer iyonların adsorpsiyonunda çözelti pH'sı etkilidir. Ayrıca asidik veya bazik bileşiklerin iyonizasyon derecesi de adsorpsiyonu etkiler.

2.7.2.2. Sıcaklık

Adsorpsiyon işlemi genellikle ısıveren bir tepkime biçiminde gerçekleşir. Bu nedenle azalan sıcaklık ile adsorpsiyon büyüklüğü artar. Açığa çıkan ısının genellikle fiziksel adsorpsiyonda yoğunlaşma ve kristalizasyon ısıları şeklinde, kimyasal adsorpsiyonda ise kimyasal reaksiyon ısıları şeklinde olduğu bilinmektedir.

2.7.2.3. Yüzey alanı

Adsorpsiyon bir yüzey işlemi olduğundan, adsorpsiyon büyüklüğü spesifik yüzey alanı ile orantılıdır. Adsorplayıcının partikül boyutunun küçük, yüzey alanının geniş ve gözenekli yapıda olması adsorpsiyonu artırır.

2.7.2.4 Çözünen maddenin cinsi ve özellikleri

Çözünen maddenin çözünürlüğü, adsorpsiyon dengesi için kontrol edici bir faktördür. Genel olarak, çözünen maddenin adsorpsiyon hızı ile sıvı fazdaki çözünürlüğü arasında ters bir ilişki vardır. Çözünürlük arttıkça çözücü-çözünen bağı kuvvetlenir, adsorpsiyon derecesi azalır. Çoğu zaman, herhangi bir organik bileşiğin zincir uzunluğu arttıkça, suda çözünürlüğü azalır. Çünkü karbon sayısı arttıkça, bileşik hidrokarbona daha fazla benzer. Bu, çözünen cinsi ve adsorpsiyon arasındaki bağıntıyı belirten ikinci temel ifadedir. Hidrokarbon yapı ağır bastıkça da çözünenin hidrofob özelliği artar. Hidrofob maddeler tercihli olarak adsorplanırlar.

İyonlaşma arttıkça, adsorpsiyon azalır. Yüklü türler için adsorpsiyon minimum, nötral olanlar için maksimumdur (Harward et al., 1964; Hassler, 1974; Oğuz, 1986; Aksu, 1988; Gönen, 2000).

Çok bileşenli sistemlerde ise yukarıdaki faktörlere ek olarak karışımdaki kirleticilerin türü, sayısı ve derişim düzeyleri adsorpsiyonu etkileyen önemli parametrelerdendir (Aksu vd, 1999; Gönen, 2000).

3. ÖLÇÜM YÖNTEMLERİ

Spektrometrik yöntemler, atomik ve moleküler spektroskopiye dayanan geniş bir analitik yöntemler grubudur. Spektroskopi, çeşitli tipte ışınların madde ile etkileşimini inceleyen bilim dalı için genel bir terimdir. Spektrometri ve spektrometrik yöntem terimleri ışın şiddetinin bir fotoelektrik transduser veya başka türden bir elektronik araç ile ölçülmesi ile ilgilidir.

Madde numunelerinde bulunan elementlerin tanınması ve derişimlerinin tayini için başlıca üç tip spektrometrik yöntem vardır. Bunlar;

Optik spektrometri,
Kütle spektrometri ve
X-ışını spektrometrisidir.

Optik spektrometride, bir numunede bulunan elementler, atomlaştırma denilen bir işlem ile gaz halinde atomlarına veya basit iyonlarına dönüştürülür. Sonra, buhar içindeki atomik türlerin ultraviyole/görünür bölge adsorpsiyonu, emisyonu veya floresansı ölçülür. Atomik kütle spektrometride de, numuneler atomlaştırılır, fakat burada gaz halindeki atomlar pozitif iyonlarına (genellikle tek yüklü) dönüştürülür ve kütle/yük oranlarına göre ayrılır. Sonra, ayrılan iyonların sayımı ile kantitatif veriler elde edilir. Pek çok element için X-ışını spektrumlarının bir numunede bulunan elementleri kimyasal olarak nasıl birleştiklerinden büyük ölçüde bağımsız olması

nedeniyle atomlaşma gerekli değildir. Bu yüzden ölçümler numunenin floresans, absorpsiyon veya emisyon spektrumlarının doğrudan ölçümüne dayanır.

3.1. ATOMİK SPEKTROSKOPİSİ

Atomik spektroskopi, atomik tanecikler tarafından elektromanyetik ışının absorpsiyonu, emisyonu veya floresansını temel alan yöntemleri kapsamaktadır. Atomik spektroskopi, elektromanyetik spektrumun UV-VIS bölgesini ve X-ışınları bölgesi olmak üzere iki bölgesinde spektrum oluşturur.

Atomik absorpsiyon spektroskopisi atomik hale getirilen analitin kendine özgü dalgaboyunda ışın absorplamasını ve sonuçta düşük enerjili düzeyinden yüksek enerjili düzeyine geçişi esas alır. AAS'de geçiş, rezonans geçiştir. Yani temel düzeyden, ilk yüksek enerjili düzeye geçiş önemlidir. Çünkü, AAS'de ilk basamak, atomlaştırıcılar yardımıyla temel enerji düzeyinde atomların eldesidir ve bunların sayısının en fazla olması, absorpsiyon sinyalinin büyük olması demektir. Bu yüzden ışın absorpsiyonu da, temel düzeyde en yüksektir.

3.2. ATOMİK EMİSYON SPEKTROSKOPİSİ

Uyarılmış enerji düzeyine çıkarılan atomların ve tek atomlu iyonların daha düşük enerjili düzeylere geçişlerinde yaydıkları ultraviyole ve görünür bölge ışımalarının ölçülmesi, yaygın olarak kullanılan bir atomik spektroskopi yönteminin temelini oluşturur. Eğer atom veya iyonların uyarılmış enerji düzeylerine çıkmaları, bunların ultraviyole veya görünür bölge ışımalarını absorplamaları dışında bir işlemle gerçekleşmemişse, yayılan ışımının ölçülmesi yöntemine atomik emisyon spektroskopisi (AES) adı verilir.

Atomik emisyon spektroskopisi daha çok elementlerin nicel analizinde kullanılır. Atomik emisyon spektroskopisinde duyarlık, atomik absorpsiyon spektroskopisinde olduğu gibi, temel enerji düzeyinde oluşturulan atomların sayısına bağlıdır ve spektral engellemelerin dışında kalan tüm engelleme türleri temel düzeydeki atom sayısını etkiler. Atomik absorpsiyon yönteminin duyarlığı sadece temel düzeydeki

atom sayısına bağımlı iken, atomik emisyon yönteminde, uyarılmış düzeydeki atom sayısı kadar atomların uyarılmış düzeydeki hayat süreleri de önem taşır.

Atomik emisyon spektrometresi ilk geliştirildiğinde alev, elektrik arkı ve kıvılcım atomlaştırmasına ve uyarmasına dayanmaktaydı. Günümüzde hala geçerliliğini koruyan bu yöntemlerle beraber atomik emisyon spektrometride plazma kaynakları, en önemli ve en yaygın kullanılan kaynaklardır.

Plazma, önemli derişimde katyon ve elektron içeren elektriksel olarak iletken gaz karışımı olarak tanımlanır. Emisyon analizlerinde sık sık kullanılan argon plazmada, numuneden gelen bazı katyonlar az miktarda bulunsa bile, argon iyonları ve elektronlar başlıca iletken türlerdir. Bir plazmada argon iyonları oluştuktan sonra bu iyonlar, daha fazla iyonlaşma ile plazma halinin sürdürülmesini sağlayacak bir düzeyde sıcaklık oluşturmak için bir dış kaynaktan yeterli güç absorplama yeteneğine sahiptir; bu sıcaklık 10000 K kadar büyük olabilir. Üç tip yüksek sıcaklı plazma vardır.

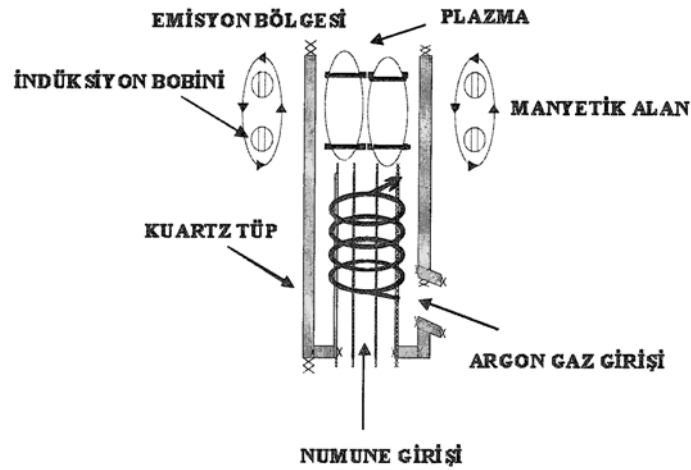
1. İndüktif eşleşmiş plazma (ICP)
2. Doğru akım plazması (DCP)
3. Mikrodalga plazma (MIP)

Bu tür plazmalar önce Reed tarafından geliştirildi. Ancak bunlar Greenfield ve arkadaşları (1964) tarafından analiz amacıyla kullanılmak üzere geliştirildi.

Daha sonra Fassel, Robin, Mermet, Boumans, Beroekaert ve Barnes'in çalışmaları ile geliştirilen bu kaynak son yıllarda emisyon spektroskopisinin özellikle çözelti analizleri için en uygun uyarma kaynağı olarak yerini almıştır. En çok kullanılan plazma türü ICP (Inductively Coupled Plasma)'dır. (Skoog et. al., 1993).

3.3. İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA (ICP)

Kolay iyonlaştırılabilmesi ve inert olması nedeniyle ICP tekniğindeki plazma argon gazı ile oluşturulur. Birçok değişik yöntemle plazma oluşturmak mümkün olmakla birlikte; bu yöntemde plazma, elektromagnetik olarak argon gazının, induksiyon sarımlarında bir radyo frekans (rf) jeneratörü ile etkileştirilmesiyle elde edilir.



Şekil 3.1 İndüktif eşleşmiş plazma

İndüktif eşleşmiş plazma kaynağı iç içe geçmiş eş merkezli üç kuvars borudan (torch) yapılmıştır. Torch' un tasarımına bağlı olarak toplam argon tüketim hızı 5-20 ml/dakika' dır.. En geniş borunun çapı genellikle 2,5 cm'dir. Bu borunun üst kısmında suyla soğutulan radyo induksiyon bobini bulunur. Radyo induksiyon jeneratörünün gücü 27 veya 41Mhz ve 0,5-2 kW'dır. şekilde görüldüğü gibi örnek çözeltisi argon gazı ile birlikte silindirik bir kuvartz tüp içinden plazmaya pompalanır (Gündüz, T., 2003).

Çapı bir silindirik tüpten biraz daha büyük olan ikinci bir kuvartz silindirin içinden ise plazmayı oluşturacak argon gazı geçer. Dış silindirin uç kısmına değişik sayıda induksiyon sarımı sarılır ve bu sarımlar bir radyo frekans jeneratörüne bağlanır. Akan argonun iyonlaşması bir tesla bobininden kıvılcım ile başlatılır. Oluşan iyon ve elektronlar induksiyon bobini tarafından oluşturulan magnetik alan sarımları ile etkileşir. Bu etkileşim sonucunda iyonlar ve elektronlar aynı yöne doğru akmaya başlar. Ortamın bu akmaya karşı gösterdiği direnç (ortamdaki argon iyonu ve elektron sayısının artması sonucu oluşan plazma) ile ortamın sıcaklığı 6000-10000°K arasında değişen bir sıcaklığa ulaşır.

Bu yolla oluşan plazma sıcaklığı, dıştaki kuvars silindirin termal izolasyonunu gerektirecek kadar yüksektir. Bu izolasyon, şekil 3.1'de belirtildiği gibi borunun duvarına teğet olacak şekilde argon akışıyla sağlanır. Teğet akış, radyal olarak plazma merkezini ve içindeki tüpün iç merkezini soğutur.

Torch tasarımındaki yeniliklerde, torch'un spektrometre sistemiyle yatay olarak düzenlenerek 90° döndürüldüğü görülür. Bu düzenleme, gözlenebilme sınırını 4-10 kat kadar iyileştirdi.

Torch'un spektrometre sistemiyle dikey olarak düzenlendiği plazma sistemi radyal sistemler olarak adlandırılır.

Radyal sistemlerde yüksek konsantrasyonlarda (ppm) ölçüm yapılır. Düşük konsantrasyonlarda hassasiyet azdır. Daha az spektral girişim gözlenir. Gözlem yüksekliği önemlidir. Self absorpsiyon sadece yüksek konsantrasyonlarda gözlenir.

Torch'un spektrometre sistemiyle yatay olarak düzenlendiği plazma sistemi aksiyal sistemler olarak adlandırılır.

Aksiyal sistemlerde düşük konsantrasyonlarda (ppb) ölçüm yapılır. Dedeksiyon limitleri iyidir. S/N (sinyal/gürültü) oranı iyidir. Matriks etkisi azaltmak için numune seyreltilebilir. Plazmada self absorpsiyon gözlenebilir.

Farklı elementlerin sıcak bölgede farklı yüksekliklerde emisyon vermesi nedeniyle radyal plazma tekniğinde gözlem yüksekliği çok önemlidir. Aksiyal sistemlerde ise plazma ekseni boyunca daha yoğun olarak gelen emisyonlar kullanılmaktadır. Bu da duyarlılığın artmasına fakat çalışabilir üst sınırı düşmesin neden olmaktadır. Bu nedenle düşük konsantrasyonlu ölçümlerde aksiyal sistem tercih edilmelidir. Plazmanın aksiyal olarak gözlemlediği uç kısımdaki soğuk bölgede bulunan temel enerji düzeyindeki atomlar emisyonları absorbe ederek self-absorpsiyona neden olur. Bunu engellemek için soğuk bölge hava bıçağı olarak adlandırılan bir yöntemle basınçlı hava kullanılarak kesilir.

Sonuç olarak, Plazma teknikleri açısından bakıldığında, ne yazık ki Aksiyal ve Radyal teknikler geniş kapsamlı uygulamalarda tek başlarına yeterli olamamaktadır. Radyal teknikler kullanım kolaylığı sağlarken yeterli düzeyde düşük dedeksiyon limitlerine inememekte, buna karşılık, Aksiyal sistemlerin dedeksiyon limitleri düşük olmakla birlikte kullanım bakımından bazı kısıtlamalar getirmektedir.

3.3.1. Numune Verilmesi

En içteki kuvarz borudan 0,3-1.5 L/dk'lık argon gazı akışıyla plazma içerisinde numune taşınır. Numune, cihaza üç şekilde verilebilir

1- Aerosol halinde: Sıvı örneklerin kullanımında çoğunlukla bu yöntem kullanılır. . Ultrasonik bir sisleştirici vasıtasıyla oluşan çok küçük damlacıklar argon gazı yardımıyla plazmaya taşınır. Sisleştirme tekniklerinin basit, güvenilir ve ucuz olmasına karşın yavaş oluşu, girişim oluşturması ve %99,5 oranına kadar numunenin atık olması dezavantajdır.

ICP-OES için birçok tipte pnömatik sisleştirici kullanılır. Bunlar arasında Eş merkezli sisleştirici, Çapraz akışlı sisleştirici, Babington sisleştirici ve Ultrasonik Sisleştiriciler sayılabilir.

Çapraz akışlı sisleştiricide analit çözeltisi dikey bir kapilerden beslenir ve numune kapilerinin bittiği noktada yatay olarak uygulanan gaz ile sisleştirilir. Birçok çapraz akış sisleştirici numune çözeltisinin peristaltik pompa yardımıyla iletilmesini gerektirir. Ayrıca bu tip sisleştiriciler kararlıdır ancak tıkanma riski vardır.

Babington sisleştiricide aerosol oluşumu, sıvı bir filmin duvara karşı püskürtülmesi ile sağlanır. Bu yöntemin faydası, numune ince bir kapiler içerisinden geçmediği için olası tıkanmalar önlenmiş olur.

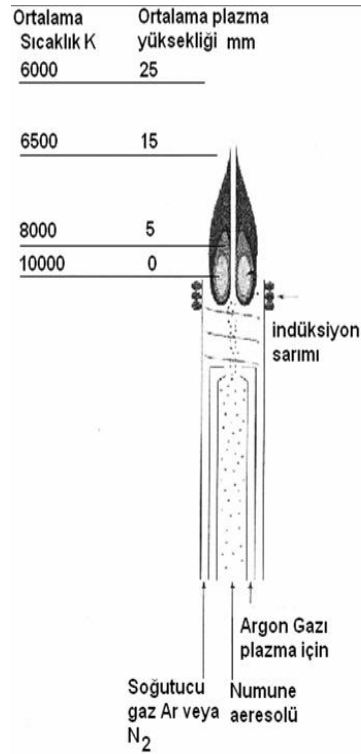
ICP-OES için Babington sisleştiricinin geliştirilmiş bir türü kullanılır. Bu tipte çözelti V-şekilli tüp içerisinden geçer ve numune deliğinin altından sürekli olarak geçen bir gaz yardımıyla darbe uygulayıcıya gönderilir.

Ultrasonik Sisleştiriciler oldukça başarılı tayin edebilme gücüne sahiptir, fakat özellikle yüksek tuz içeriği olan çözeltilerde gösterdikleri kararsızlıkları ve çözücünün uzaklaştırılma mecburiyeti dezavantajlarındandır.

2. Buhar halinde: Plazmaya katı ve sıvı numuneleri vermek için elektrotermal buharlaştırıcılar kullanılır. Elektrotermal buharlaşmada, katı ya da sıvı haldeki numunenin küçük bir miktarı bir iletken üzerine yerleştirilir. İletken buhar elde edebilmek için sürekli olarak ısıtılır, oluşan buhar ise ICP'ye enjektör gazı ile taşınır.

3. İnce toz halinde: Nebulizer yerine lazer kullanılır. Bu teknikte, odaklanmış lazer demeti formundaki enerji numuneye uygulanır ve lazer maddenin buharlaşmasını ve yüzeyden uzaklaşmasını sağlar. Buhar ve yüzeyden ayrılan tanecikler plazmaya argon buharı ile taşınır.

şekil 3.2'de, plazmanın çeşitli kısımlarındaki sıcaklıkları göstermektedir. Numune atomları, taşıyıcı argon gazı sayesinde 4000-8000°K sıcaklığındaki bölgeye ulaşır. Burada 2 milisaniye(ms) kadar kalırlar. Bu sıcaklıkta atomlaşma oluşur. Bu zaman ve sıcaklıklar, alev yönteminde kullanılan en sıcak alevlerde görülenen yaklaşık 2-3 kat daha büyüktür. Sonuç olarak daha iyi atomlaşma ve çok daha az kimyasal girişim sağlanır.



Şekil 3.2 İndüktif eşleşmiş plazma kaynağındaki sıcaklıklar

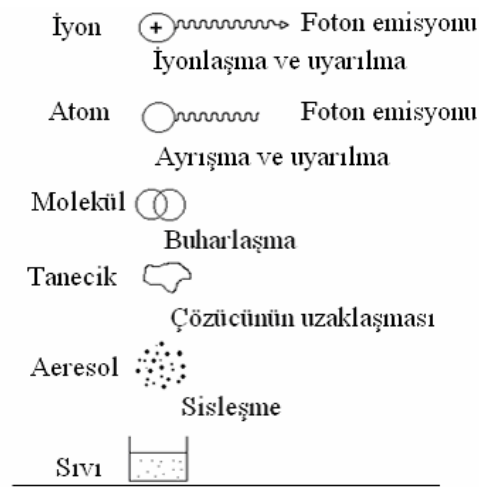
Sıcaklığın bu kadar yüksek olması;

- Atomlaşma derecesi ve buna bağlı olarak tayin kapasitesini yükseltirken aynı zamanda alev ve AAS'de görülen moleküler girişimi de önlenmiş olur.
- Çok çeşitli atom ve iyon hatları uyarabilir. Böylece değişik derişim aralığında değişik analiz hatları, hatta atom hatlarından daha şiddetli olan iyon hatları seçilebilir.
- Çalışma koşullarının uygun seçimiyle ve spektral tampon kullanımıyla iç element etkisi de önlenir. Plazma sıcaklığı her bölgede aynı olduğundan self absorpsiyon ve self dönüşüm etkileriyle karşılaşılmaz. (Welz, B. 1985)

3.3.2. ICP ile İşlem

Sisleştirme sonunda numune sulu bir aerosol olarak plazma içerisine gelir. Aerosol plazma içerisinde yukarıya doğru hareket ettikçe birçok olay meydana gelir.

İlk olarak; aerosol damlacıklarındaki çözücü buharlaşır ve katı bir tuz oluşur. Daha sonra, gaz fazındaki moleküler türlerin oluşumu için bu parçacıklar buharlaştırılır. Moleküler türler iyonlaşma için yeterli enerji ile atom veya iyonları oluştururlar. Atomlar ve iyonlar kararlı moleküler türlerin oluşumu için diğer serbest atomlarla bir araya gelebilirler.



Şekil 3.3 Atomlaşma ve uyarılmanın şematik gösterimi

Enerjinin korunumu yasasına göre; bir atom ısıya yapacaksa, öncelikle bu atomun plazma gibi yüksek enerjili bir harici kaynak tarafından yayılan yüksek enerjiyi absorplaması gereklidir. Sonra, atomlara sağlanacak daha fazla enerji ile elektronlar uyarılmış seviyeye geçerler.

Analitin hat emisyonu, uyarılmış atom veya iyonun daha düşük enerji seviyesine dönerken ışık yayması ile oluşur.

3.3.3. Plazma Kaynaklı Spektrofotometreler

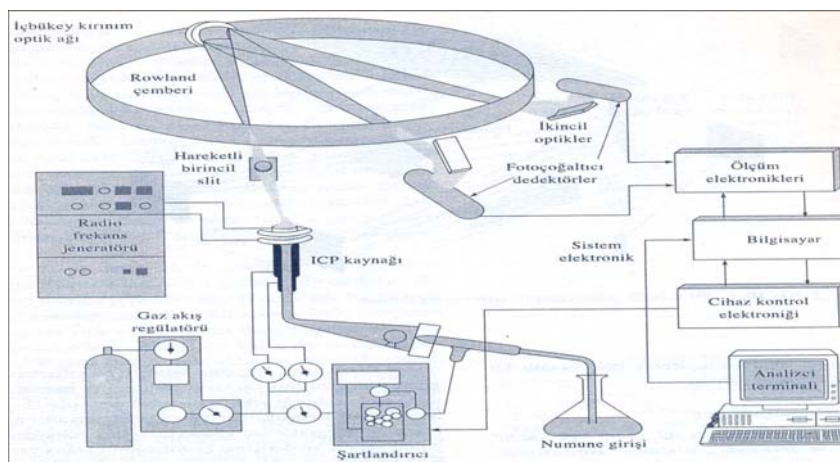
Emisyon spektroskopisinde cihazlar üç temel tiptedir.

Ardışık: Uyarma süresi uzundur, daha çok numune ve daha çok zaman gerektirir.

Simultane çok kanallı: Çok sayıda elementin emisyon çizgi şiddetlerini aynı anda ölçer, iyi analitik kesinlik sağlar.

Fourier dönüşümlü: 170 nm-1000 nm dalgaboyu aralığında, yüksek ayırıcılık, büyük dinamik aralık, yüksek doğruluklu dalga boyu ölçümü yapar. Ayırma gücü ile sorunlar vardır.

3.4. İNDÜKTİF EŞLEŞMİŞ PLAZMA–OPTİK EMİSYON SPEKTROMETRİSİ (ICP-OES)



Şekil 3.4 ICP-OES Spektrofotometresi (Skoog, D.A., et al., 2002,)

ICP-OES cihazı; ICP kaynağından oluşan serbest atom ya da iyonların oluşturduğu emisyon spektrumu temeline dayanan bir elementel analiz tekniğidir. ICP-OES birçok araştırma alanında kullanılmaktadır. ICP kaynağı, argon gibi inert gazlardan yüksek enerjili ve yüksek frekanslı iyonlaşmış bir plazmayı üretir. Bir numune plazmanın merkezine enjekte edildiğinde, 10000 K sıcaklıktaki plazma, numunedeki elementlerin ayrışma, atomlaşma ve uyarılma işlemlerinin gerçekleşmesini sağlar. Bu olaylar, çalışılan elementlerin kendilerine özgü frekansta ışığı yayması ile sonuçlanır. Bu ışık şiddeti, numune içerisindeki elementlerin derişimi ile doğru orantılıdır ve bir emisyon spektrometresi ile ölçülür.

ICP-OES' in bazı avantajları;

_ Geniş doğrusal çalışma aralığı

- _ Düşük gözlenebilme sınırı
- _ Kimyasal girişimin olmaması
- _ Elementler arası en düşük etki
- _ Oldukça iyi kesinlik ve doğruluk

Çok sayıda örneğin hızlı bir şekilde ölçülmesine olanak tanıdığından çevresel analizler için uygundur ve tercih nedenidir.

ICP-OES'in çevresel analizleri için uygunluğunu gösteren bazı özellikler şunlardır;

1. ICP-OES'in element analizi tekniği yaklaşık yetmiş değişik kimyasal elementinin yüksek gerilimlerde izlenimlerine imkan sağlar.
2. ICP-OES çoğunlukla bilinen, izlenen metallerin (örneğin, Cu, Cr, Ni ve Zn) belirlenmesinde yeterli hassasiyete sahiptir. Diğer tekniklerden daha çok gözle görülen yüksek performans sağlar. Ti, W, V gibi elementlerin ve bazı ametallerin belirlenmesine de olanak sağlar.
3. Teoride örnekler sıvı, gaz veya katı olarak sunulabilir. Fakat pratikte çoğu örnek katı veya gaz çözeltisi halinde değil sıvı halde elde edilebilir. Gaz örneklerinin ölçümünde As, Se ve Sb gibi gaz halindeki kararlı hidrürler önemli ikincil (yardımcı) tekniktir.
4. ICP-OES oldukça geniş, dinamik, kalibrasyon aralığına sahiptir. Tek bir örnek hazırlanmasıyla yüksek ve düşük ppm seviyelerinde ölçüm yapılabilir (Welz, 1985; Medcalfe, (1987).

4. DENEYSEL KISIM

4.1. CİHAZ ve MALZEMELER

4.1.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma- Optik Emisyon Spektrometrisi (ICP-OES)

Üniversitemizin Merkez Araştırma laboratuvarında bulunan Teledyne Leemann Prodigy ICP-OES cihazı deneyler sırasında kullanıldı.

4.1.1.1. pH metre

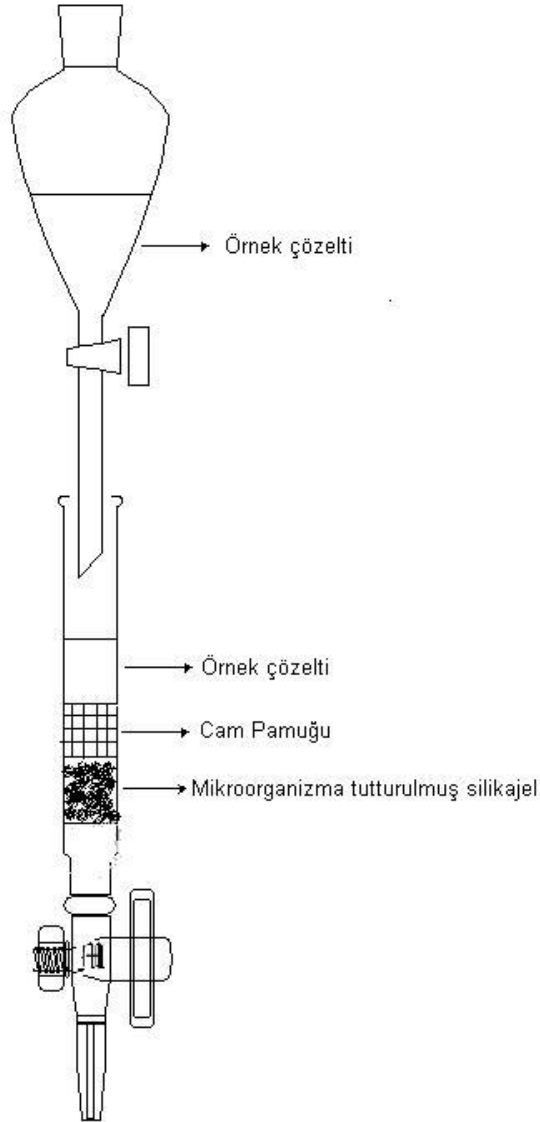
Deneylerde çözeltinin pH'sını ayarlamak için WTW 315i pH metre kullanıldı.

4.1.1.2. Peristaltik pompa

Çözeltilerin akış hızını ayarlamak amacıyla BT 100-1L marka, debi ayarlı peristaltik pompa kullanıldı.

4.1.1.3. Adsorpsiyon kolonu

Deneylerde 1 cm çapında 10 cm uzunluğunda, musluklu özel kolonlar kullanıldı. Kolonun üst kısmına 250 mL hacminde ayırma hunisi yerleştirildi. Kolonun alt kısmı dolgu maddesinin düzgün doldurulması amacı ile ince gözenekli camdan yapıldı. Kolonun şematik gösterimi şekil 4.1’de gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Adsorpsiyon kolonunun şematik gösterimi

Katı dolgu maddesi ile doldurulduktan sonra kurumaması ve bozulmaması için üzerine asit eklenerek buzdolabında saklandı.

4.1.1.4. Kimyasal maddeler ve hazırlanmaları

Deneyleerde Merkez Araştırma Laboratuvarında bulunan Millipore marka Simplicity-UV Model ultra saf su, aşağıdaki şekilde hazırlanan standart metal çözeltileri, hidroklorik asit (Merck, 100317), nitrik asit (Merck, 100443), kolonları uygun pH'lara şartlandırmak için aşağıdaki şekilde hazırlanan pH 6 ve pH 8 fosfat tamponları kullanıldı. Hazırlanan çözeltiler polietilen şişelerde, tampon çözeltiler buzdolabında saklandı.

- Standart Cd²⁺ iyonu çözeltileri; 100 mg/L'lik,

0,01 g Cd (Aldrich, 265349) metali 0,4 ml derişik HNO₃ (Merck, 100443)'de çözüldü. 0,8 mL derişik HNO₃ eklendi ve saf su ile 100 ml'ye tamamlandı.

- Standart Cu²⁺ iyonu çözeltileri; 100 mg/L'lik,

Cu (NO₃)₂. 3H₂O (Merck, 102752)'dan 0,0369 g alınarak saf su ile 100 mL'ye seyreltildi.

- Hidroklorik asit çözeltilisi; 0.5 M'lık,

% 37'lik (d:1.19 g/mL) HCl (Merck, 100317) çözeltilisinden 41.5 mL alınarak millipore saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

- Hidroklorik asit çözeltilisi; 1 M'lık,

% 37'lik (d:1.19 g/mL) HCl (Merck, 100317) çözeltilisinden 83.3 mL alınarak saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

- Nitrik asit çözeltisi; 0.5 M'lık,

%65'lik (d:1.41g/mL) nitrik asit (Merck, 100443) çözeltisinden 34.4 mL alınarak saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

- Nitrik asit çözeltisi;1 M'lık,

%65'lik (d:1.41g/mL) nitrik asit (Merck, 100443) çözeltisinden 68.8 mL alınarak saf su ile 1 L'ye tamamlandı.

- Na⁺ çözeltisi; 20000 mg/ L' lik,

63.577 g NaCl (Merck, 106404) tartılarak saf su ile 500 mL' ye tamamlandı.

- K⁺ çözeltisi; 3000 mg/ L' lik,

0.286 g KCl (Fluka, 19588) tartılarak saf su ile 100 mL' ye tamamlandı.

- Ca²⁺ çözeltisi; 750 mg/ L' lik,

0.1385 g CaCl₂. 2H₂O (Sigma Aldrich, C1016) tartılarak saf su ile 500 mL' ye tamamlandı.

- Mg²⁺ çözeltisi; 150 mg/ L' lik,

0.0979 g MgCl₂. 6H₂O (Sigma Aldrich, M-9272) tartılarak saf su ile 500 mL' ye tamamlandı.

- pH 6 fosfat tamponu,

27.2 g KH₂PO₄ (Merck, 104873) tartılıp millipore saf su ile 1L'ye tamamlanarak 0.2 M H₂PO₄⁻ çözeltisi elde edildi. 71.7 g Na₂HPO₄.12H₂O (Sigma Aldrich, 71652)

tartılıp saf su ile 1L'ye tamamlanarak 0.2 M HPO_4^{2-} çözeltisi elde edildi. Daha sonra; 0.2 M H_2PO_4^- çözeltisinden 438.5 mL, 0.2 M HPO_4^{2-} çözeltisinden 61.5 mL alınarak saf su ile 1L'ye tamamlandı. Hazırlan tampon çözelti buzdolabında muhafaza edildi.

- pH 8 fosfat tamponu,

0.2 M H_2PO_4^- çözeltisinden 26.5 mL, 0.2 M HPO_4^{2-} çözeltisinden 473.5 mL alınarak saf su ile 1 L'ye tamamlandı. Hazırlanan tampon çözelti buzdolabında muhafaza edildi.

4.1.1.5. Kalibrasyon çözeltileri

100 mg/L'lik standart Cu^{2+} ve Cd^{2+} iyonu çözeltilerinden 0.3 ppm, 0.6 ppm, 0.9 ppm ve 1.2 ppm 10 mL'lik kalibrasyon çözeltileri hazırlandı. Öncelikle 10 ppm'lik ara stok çözeltiler hazırlandı. 10 ppm'lik ara stok çözeltiden 0.3 mL, 0.6 mL, 0.9 mL, 1.2 mL alınarak 1M HCl ile 10 mL'ye seyreltildi.

4.1.1.6. Numune çözeltileri

Bakır ve kadmiyum için 0.2 ppm 50 mL numune çözeltileri hazırlandı. Bunun için 100 mg/L'lik stok çözeltiden 10 mg/L'lik ara stok çözelti hazırlandı. Cu^{2+} ve Cd^{2+} ara stok çözeltilerinden ayrı ayrı 1'er mL alınıp 50 mL'lik balonjojelere aktarıldı. Ortam pH'sını sağlamak amacıyla Cu^{2+} numunesi için pH 6, Cd^{2+} numunesi için pH 8 tamponlarından 10 mL eklendi ve saf su ile 100 mL'ye tamamlandı.

4.1.2. Bakteri Üretimi

Bu tez çalışmalarının başında 3 bakteri ile yola çıkılmış fakat istenilen geri kazanım verimlerine ulaşamaması ve bakteri üretiminde yaşanan sorunlar nedeniyle çalışmada sadece *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* kullanılmıştır.

4.1.2.1. Besi ortamı

Besi yeri olarak tryptic soy broth (Merck, 105459) kullanıldı. Besi yerinden 30 g alınarak saf su ile 1 L'ye seyreltilerek hazırlandı.

4.1.2.2. Deney kültürü

Bakterileri üretmek için hazırlanan sıvı besi yeri, 250 mL'lik erlenlere aktarıldı ve sterilizasyon işlemi için 121 °C'deki otoklavda 15 dakika süresince bekletildi. Steril olan sıvı besi yerini içeren erlenlerde bakteriler aşılandı ve bakterilerin üremesi için 65°C'deki etüvlere 24 saat süreyle bekletildi. Üreme işlemi sonrası, bakterileri besi yerinden ayırmak için santrifüj işlemi yapıldı. Santrifüj işlemi için bakteri içeren besi yerleri yaklaşık 15 mL hacimli falcon tüplerine alındı ve 5000 rpm'de 20 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonrası sıvı kısım atıldı. Besi yerini bakterilerden uzaklaştırmak için birkaç kez saf su ile yıkandı ve santrifüjlendi. Sözü geçen mikroorganizma Adnan Menderes Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiştir. (Başbülül, 2009).

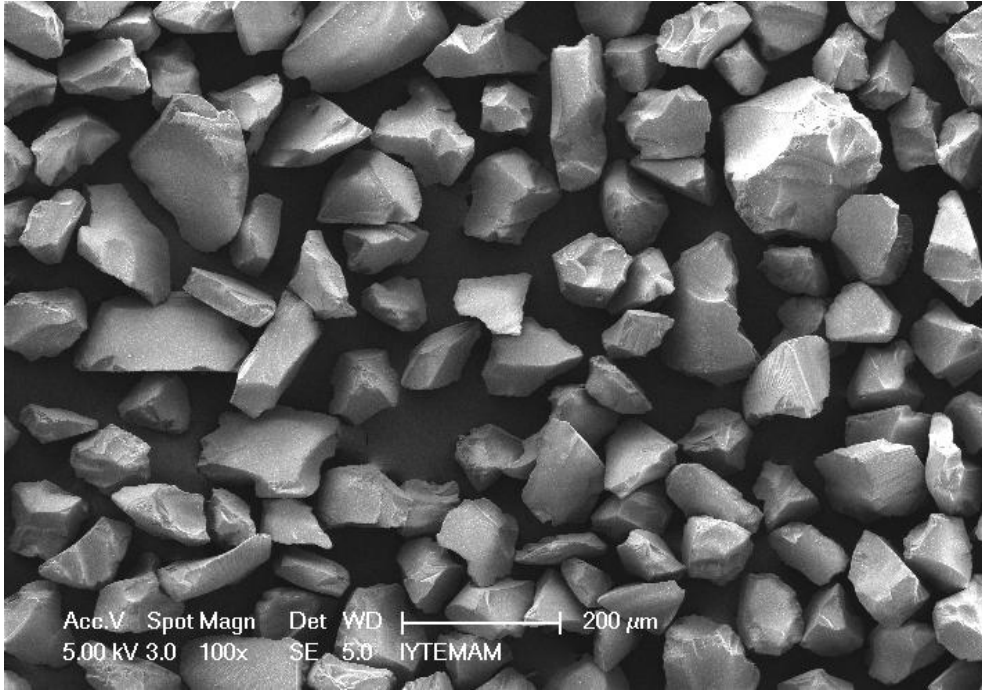
4.1.2.3. Ölü bakteri eldesi

Bakterilerin öldürülmesi işlemi için bakteri kütlesi üzerine 10 mL 0,1 M HCl çözeltisi eklendi, karıştırıldı ve 10 dakika bekletildi. Daha sonra santrifüjlenerek üstteki çözelti atıldı. Birkaç kez saf su ile yıkandı ve suyu uzaklaştırmak için santrifüjlendi. Elde edilen saf bakteri kütleleri 80°C'deki etüvde kurutuldu. Kuruyan saf bakteriler immobilizasyon işlemi için uygun boyuta getirmek amacıyla porselen havanda öğütüldü ve desikatör içerisinde saklandı.

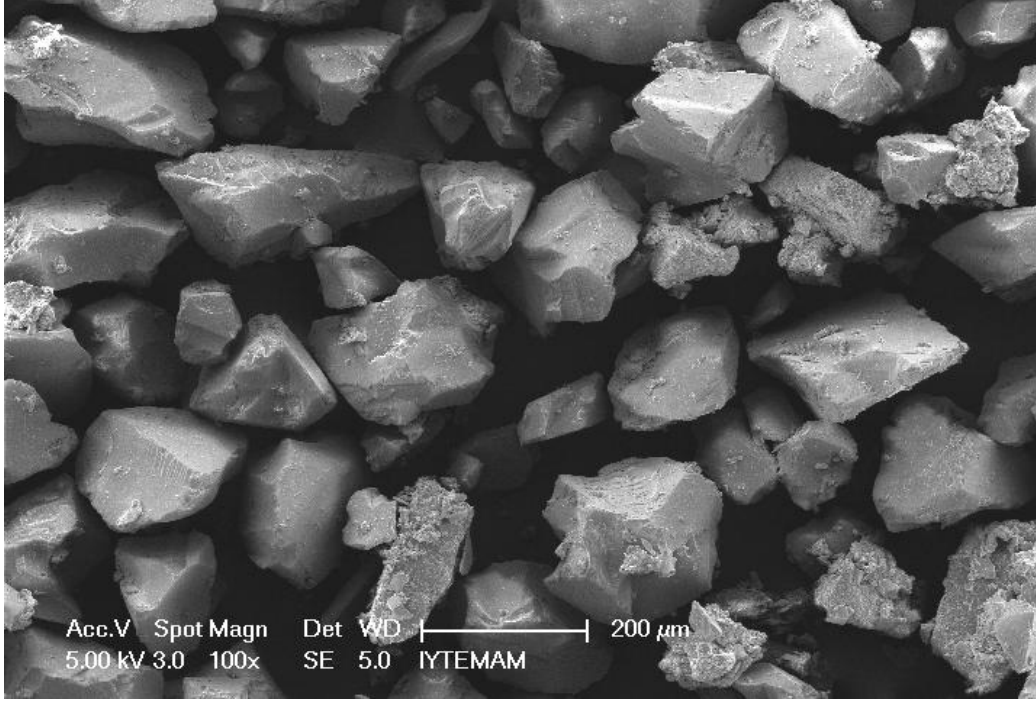
4.1.3. Bakterilerin Silikajel Üzerine İmmobilizasyonu

Ölü bakterilerin immobilizasyonu için katı destek maddesi olarak 0.063-0.200 mm boyutlarına sahip silikajel (Merck, 107734) kullanıldı. İmmobilizasyon öncesi ön hazırlık olarak silikajel 120°C'deki etüvde 1 saat süreyle bekletildi ve desikatör içerisine alındı.

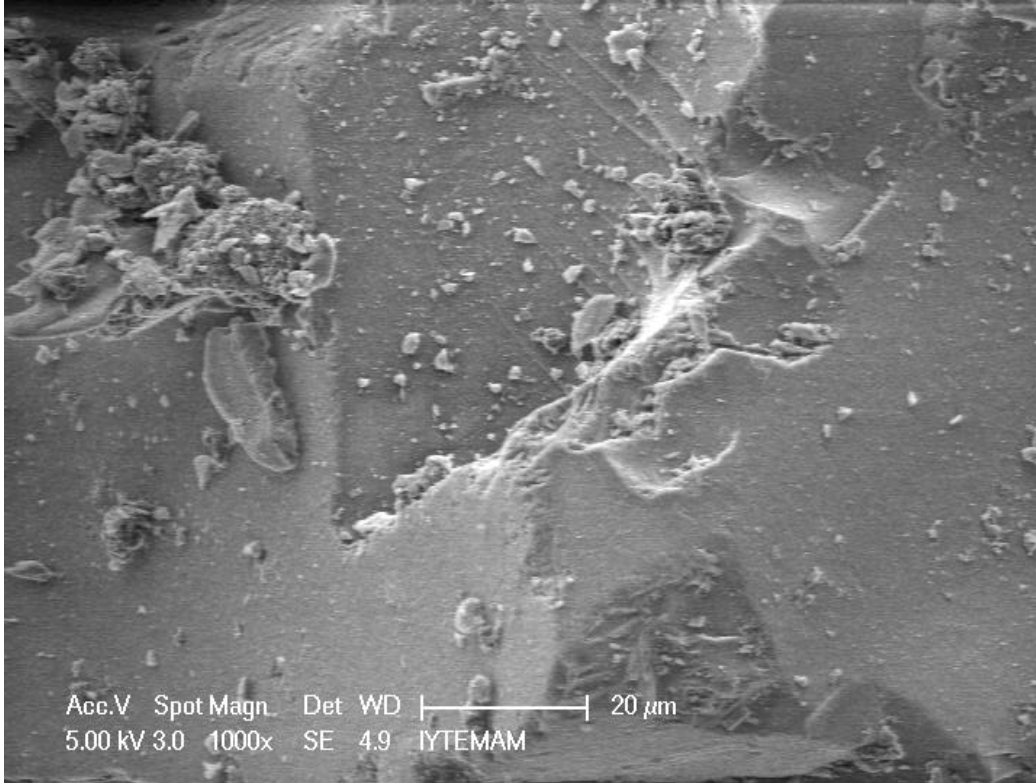
İmmobilizasyon işlemi için 250 mg silikajel ile 40 mg kuru bakteri karıştırıldı ve az miktar su yardımı ile bulamaç haline getirildi. Bu karışım 105°C'deki etüvde 20 dakika süreyle kurutuldu. Karışım üzerine tekrar yaklaşık 2 mL saf su eklenerek karıştırıldı ve etüvde kurutuldu. Bu işlem immobilizasyonu artırmak için birkaç kez daha tekrarlandı. Elde edilen katı destek maddesi, İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü Malzeme Araştırma Merkezi'nde altınla kaplandıktan sonra Phillips XL-30S FEG markalı taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile görüntülenmiştir. Şekil 4.2, şekil 4.3, şekil 4.4'de silikajel ve *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajelin SEM fotoğrafları verilmiştir.



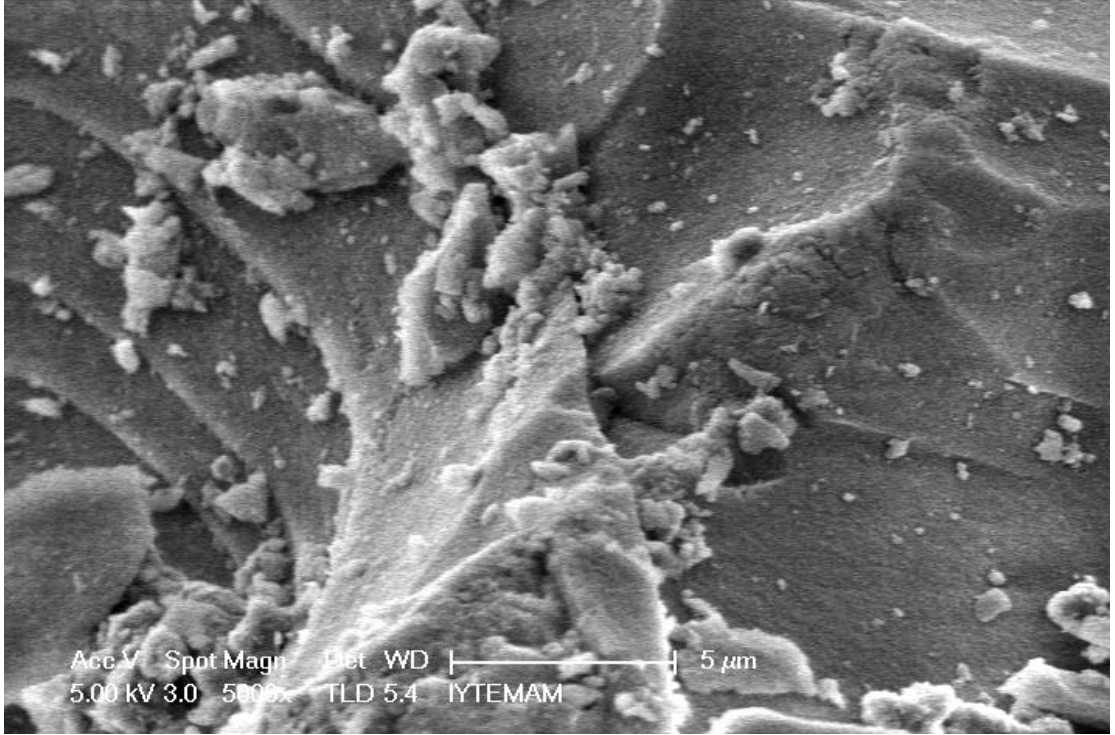
Şekil 4.2 Silikajelin SEM fotoğrafı (200 µm)



Şekil 4.3 Silikajel üzerine *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edildikten sonraki SEM fotoğrafı (200 µm)



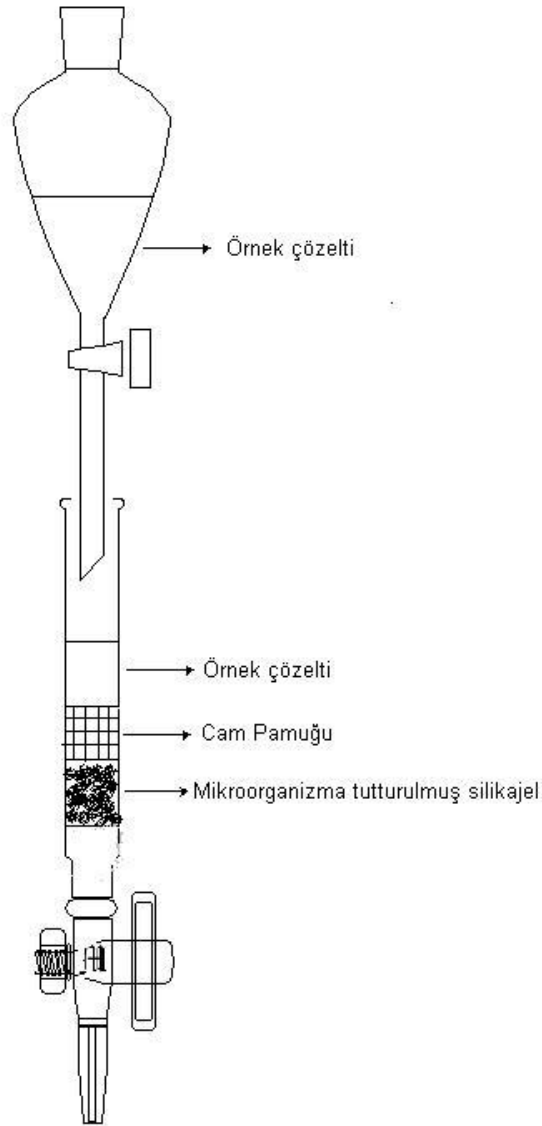
Şekil 4.4 Silikajel üzerine *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edildikten sonraki SEM fotoğrafı (20 µm)



Şekil 4.5 Silikajel üzerine *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edildikten sonraki SEM fotoğrafı (5 µm)

4.1.4. Adsorpsiyon Kolonunu Hazırlanması

Kolonlar yıkanıp kurutulduktan sonra 0.063-0.200 mm boyutlarındaki silikajel üzerine *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilerek hazırlanan katı faz ile dolduruldu. Doldurma işleminin düzgün olması ve hava kabarcığı oluşmaması için saf su ile birkaç kez yıkandı. Daha sonra üzerine cam pamuğu yerleştirildi.



Şekil 4.6 Kolonun hazırlanmasının şematik gösterimi

4.1.5. Zenginleştirme İşlemi

İlk olarak kolonu istenilen pH'a koşullandırmak için 10 mL tampon çözelti geçirildi. Kolonda yapılan çalışmalarda 0.2 ppm 50 mL metal çözeltileri kullanıldı. Hazırlanan 100 ppm'lik Cu^{2+} ve Cd^{2+} stok çözeltiler seyreltilerek 10 ppm'lik ara stok çözeltiler hazırlandı. 10 ppm'lik ara stok çözeltiden 1 mL, uygun tampon çözeltiden 10 mL alınarak balonjojeye aktarıldı ve saf su ile 50 mL'ye tamamlandı. Hazırlanan örnek

çözeltiler kolondan geçirildi. Kolon iki kez 5 mL saf su ile yıkandı ve 9 mL 1 M HCl yada 1 M HNO₃ ile elue edildi. Geri alma çözeltisi 10 mL'ye tamamlanarak ölçümü alındı.

4.1.6. Geri Kazanım Veriminin Hesaplanması

Geri alınan çözeltideki elementler ICP-OES ile tayin edildi. Elementlerin geri kazanım verimleri yüzde olarak aşağıdaki gibi hesaplandı.

$$\text{GeriKazanımVerimi}(\%R) = \frac{\text{ICP ile bulunanelementderisim}(\text{mg/L})}{\text{Teorikolarak bulunması gereken elementderisim}(\text{mg/L})} \times 100$$

4.1.7. Geri Kazanım Verimine Etki Eden Faktörler (parametreler)

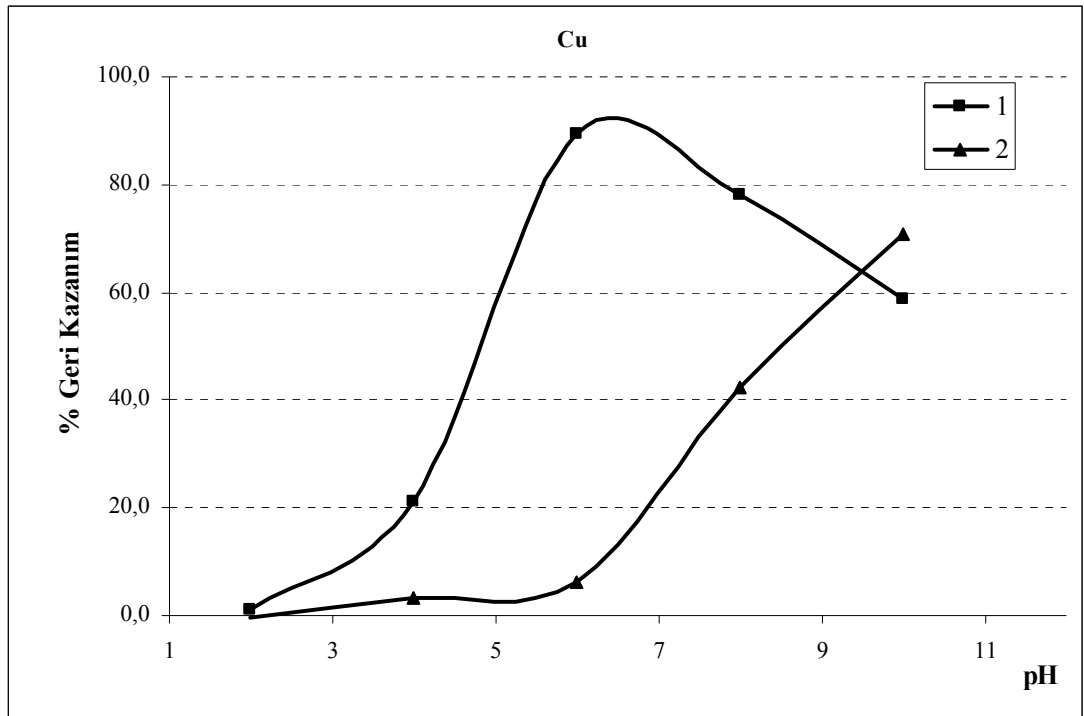
Bu çalışmada, ilk olarak her iki element için ayrı ayrı geri kazanım verimlerinin en yüksek olduğu pH'lar belirlendi. Sonra, silikajele tutunan *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* miktarının geri kazanım verimine etkisi incelendi. En yüksek geri kazanım veriminin elde edildiği pH'lar ve uygun *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* miktarı belirlendikten sonra, geri kazanım verimine etki eden diğer faktörlerin araştırılmasına geçildi. Sırasıyla, geri alma çözeltisinin türü ve hacminin etkisi, element derişimini etkisi, çözelti hacminin etkisi incelendi. Daha sonra belirlenen en uygun şartlarda sonuçların tekrarlanabilirliği araştırıldı.

Girişim etkilerini belirlemek amacı ile, çeşme, nehir ve deniz suyu gibi birçok örnekte fazlaca bulunan Na, K, Ca, Mg gibi alkali ve toprak alkali elementlerin, çalışılan elementleri geri kazanım verimine etkileri incelendi.

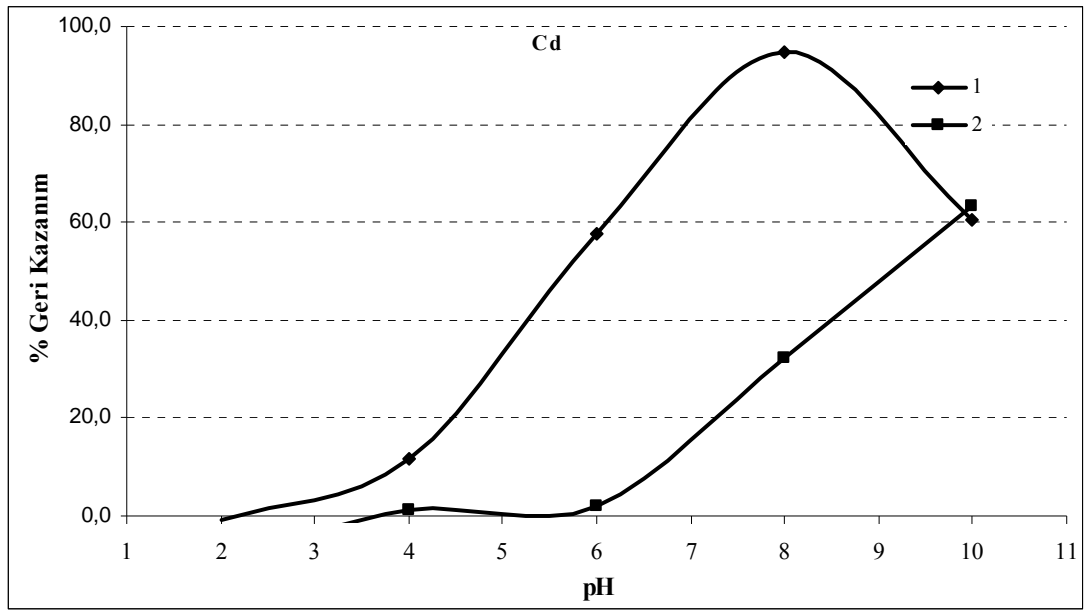
4.1.7.1. pH' ın geri kazanım verimine etkisi

Anoxybacillus flavithermus HBB 134 immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajel üzerinde, en fazla geri kazanım veriminin sağlandığı pH değerlerinin bulunması amacıyla her bir element için bir seri model örnek çözeltisi (zenginleştirme işleminde anlatılan örnek çözelti) hazırlanarak pH'ları 2-10

aralığında ayarlandı. pH ayarlaması tampon çözeltiler ile yapıldı. Kolonu çalışılacak olan pH'a şartlandırmak için 10 mL uygun tampon çözelti kolondan geçirildi. Örnek çözelti geçirildi ve tutunmadan kalan elementleri uzaklaştırmak için kolon 2 kez 5 mL su ile yıkandı. Kolonda tutunan elementleri geri almak için 1 M HCl çözeltisi kullanıldı. Geri alma çözeltisi 10 mL'ye tamamlanarak analiz edildi. *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajelde pH'ya bağlı olarak çalışılan elementler için elde edilen geri kazanım verimleri sırasıyla şekil 4.7'de gösterilmiştir.



Şekil 4.7 *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajelde pH'ın bakır'ın geri kazanım verimine etkisi, (1) *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajel, (2) *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmemiş silikajel.



Şekil 4.8 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajelde pH'ın kadmiyum'un geri kazanım verimine etkisi, (1) *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajel, (2) *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmemiş silikajel.

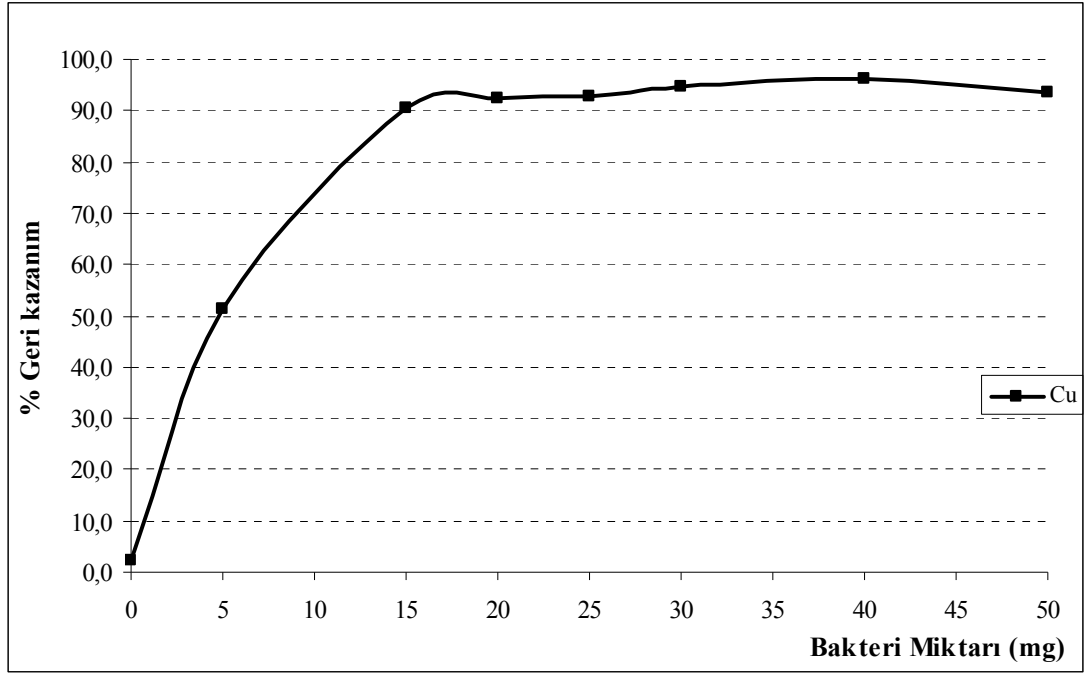
Çalışmalar sonucunda bulunan değerler pH 6-8 aralığında bulunmuştur. Daha yüksek ve daha düşük pH'larda geri kazanım verimi azalmaktadır. Düşük pH'larda mikroorganizma yüzeyindeki fonksiyonel grupların protonlar tarafından doldurulması, yüksek pH'larda ise iyonik olmayan hidroksit komplekslerinin oluşması ve metal iyonlarının hidroksil iyonlarına bağlanması nedeniyle adsorpsiyon azalır ve geri kazanım verimi düşer.

Bulunan sonuçlara göre, *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde Cu^{2+} için pH:6, Cd^{2+} için pH:8'de maksimum geri kazanım verimi bulunmuştur. Bundan sonraki deneylerde kullanılan Cu^{2+} çözeltileri için pH: 6, Cd^{2+} çözeltileri için pH : 8 fosfat tamponları kullanıldı.

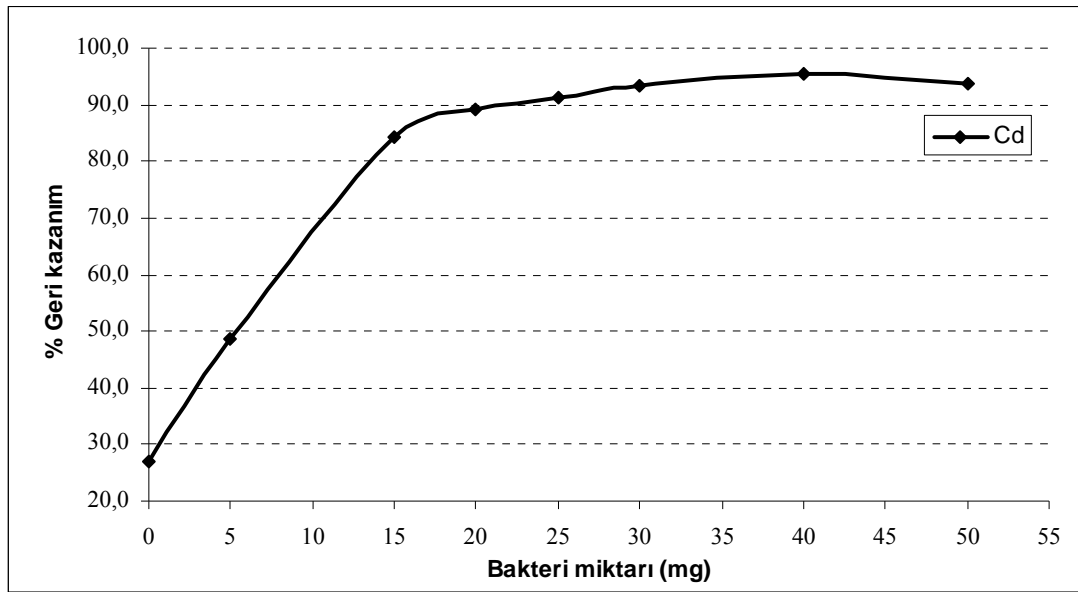
4.1.7.2. Bakteri kütlelerinin geri kazanım verimine etkisi

Silikajel üzerine immobilize edilen *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 miktarını geri kazanma verimine etkisini incelemek için farklı miktarlarda *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 içeren katı destekler hazırlandı. Her bir katı faz için 250 mg

silikajel tartılarak üzerine 5, 15, 20, 25, 30, 40, 50 mg *Anoxybacillus flavithermus* *HBB 134* immobilize edildi. İmmobilizasyon işlemi için her bir mikroorganizma silikajel karışımı 1-2 mL su ile karıştırıldı ve 105°C'lik etüvde yaklaşık 30 dakika kurumaya bırakıldı. Isıtma ve kurutma işlemleri birkaç kez tekrarlandı. Hazırlanan her bir katı destek özdeş kolonlara dolduruldu. Örnek çözeltiler (zenginleştirme işleminde anlatılan örnek çözelti) göre hazırlanırken Cu^{2+} için pH 6'ya Cd^{2+} için pH 8'e ayarlandı. Kolonlar uygun pH'lara şartlandırıldı, örnek çözeltiler geçirildi, kolonlar saf su ile yıkandı ve tutunan elementler 1 M HCl ile geri alındı. Geri kazanım çözeltilesindeki Cu^{2+} ve Cd^{2+} miktarları ICP-OES ile tayin edildi. Silikajel üzerine immobilize edilen *Anoxybacillus flavithermus* *HBB 134* miktarını Cu^{2+} ve Cd^{2+} 'un geri kazanma verimlerine etkisi şekil 4.9'de gösterilmiştir.



Şekil 4.9 Silikajel üzerine immobilize edilen *Anoxybacillus flavithermus* *HBB 134* miktarını Cu^{2+} 'nin geri kazanım verimine etkisi



Şekil 4.10 Silikajel üzerine immobilize edilen *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 miktarının Cd^{2+} nin geri kazanım verimine etkisi

Elde edilen sonuçlara göre, immobilize edilen bakteri miktarı arttıkça geri kazanım verimi artmıştır. Kolon çapı sabitken katı faz miktarının artması yatak yüksekliğinin artmasını demektir. Bu durumda tutunmada artmaktadır. Fakat, yatak yüksekliği arttıkça hem süzme hızı azalmakta, hem de gerekli geri alma çözeltisinin hacmi artmaktadır. 20–50 mg arası değerler birbirine çok yakın olmasına karşı yüksek miktarlarda kolonda tıkanmalar olduğu için verim düşmüştür. Bu nedenle, en uygun miktarın 40 mg olduğuna karar verildi ve bundan sonraki basamaklarda 250 mg silikajel üzerine 40 mg mikroorganizma immobilize edilerek hazırlanan katı faz kullanıldı.

4.1.7.3. Elüent cinsinin geri kazanım verimine etkisi

Elüent çözeltisinin cinsinin ve derişiminin Cu^{2+} ve Cd^{2+} un geri kazanım verimlerine etkisini araştırmak amacıyla geri alma çözeltisi olarak 1 M HCl, 0,5 M HCl, 1 M HNO₃, 0,5 M HNO₃ kullanıldı. Bulunan sonuçlar çizelge 4.1’de verilmiştir.

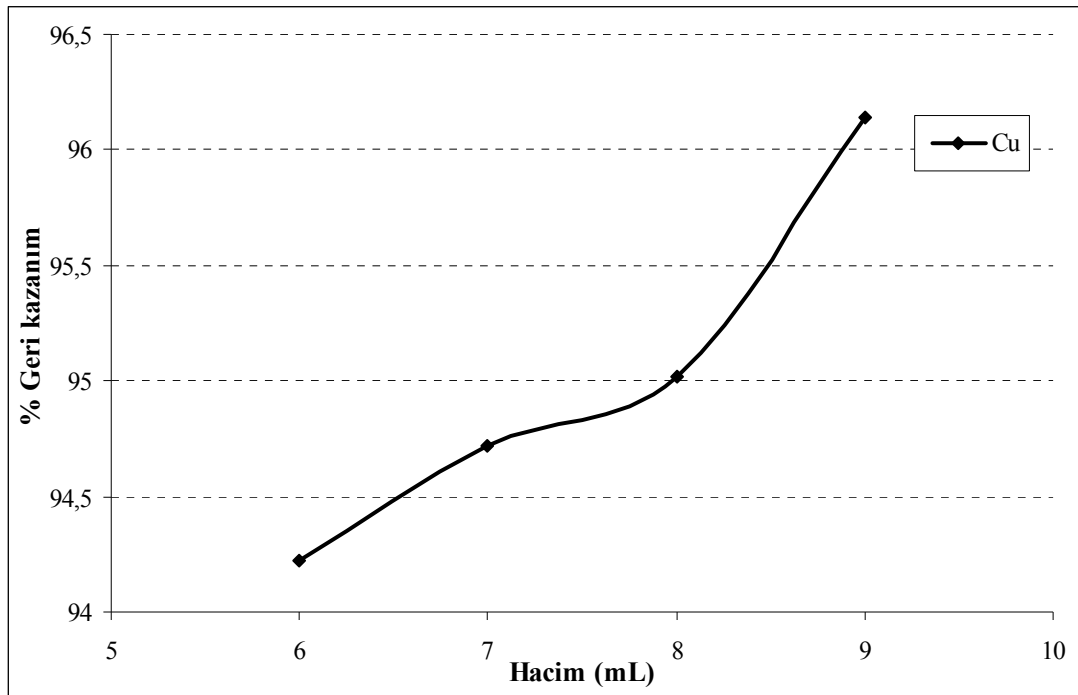
Element	Geri alma çözeltisinin türü	Geri alma çözeltisinin derişimi mol/L	Geri kazanma verimi (%)
Cu ²⁺	HCl	0,5	91,75
		1	95,95
	HNO ₃	0.5	91,49
		1	92,70
Cd ²⁺	HCl	0.5	93,84
		1	89,96
	HNO ₃	0.5	93,53
		1	95,57

Çizelge 4.1 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş ve immobilize edilmemiş silikajelde geri alma çözeltisini cinsi ve derişiminin geri kazanma verimine etkisi

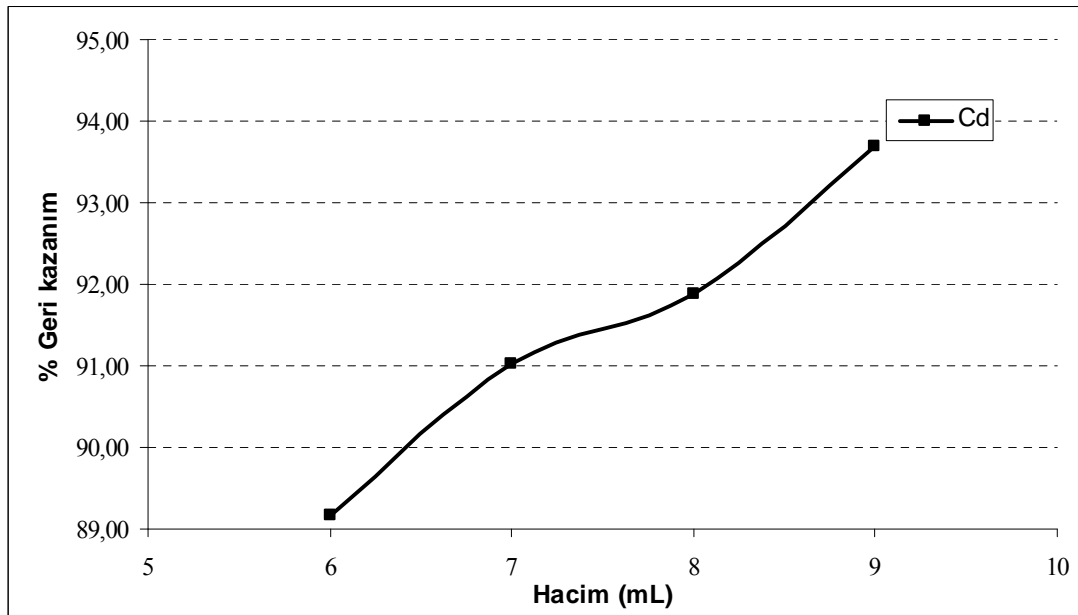
Deneyler sonucunda, en uygun geri alma çözeltisi olarak Cu²⁺ için 1 M HCl, Cd²⁺ için 1 M HNO₃ seçilmiştir.

4.1.7.4. Elüent hacminin geri kazanım verimine etkisi

Deneyler sonucunda en uygun geri alma çözeltileri ve derişimleri belirlendikten sonra en uygun hacimlere karar vermek amacıyla farklı hacimlerde geri alma çözeltileri kullanıldı. Cu²⁺ için 1 M HCl ve Cd²⁺ için 1 M HNO₃ çözeltilerinden 6, 7, 8, 9 mL hazırlanarak uygun pH'larda kolonlardan geçirildi. Bulunan sonuçlar şekil 4.11 ve 4.12'de verilmiştir.



Şekil 4.11 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde geri alma çözültisi hacminin Cu^{2+} nin geri kazanma verimine etkisi



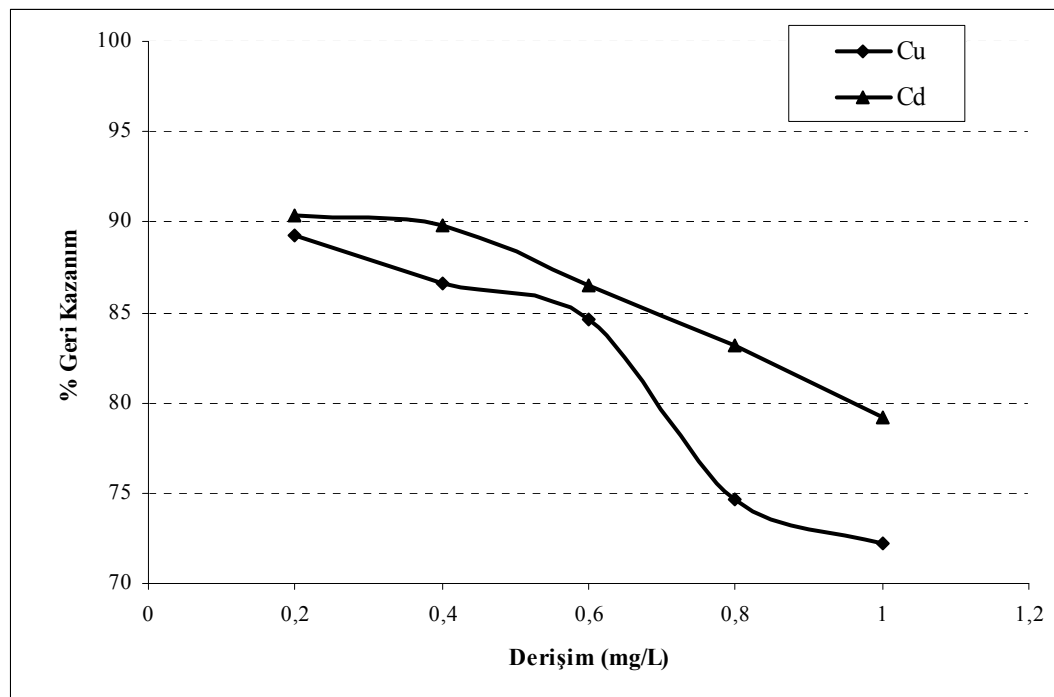
Şekil 4.12 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde geri alma çözültisinin cinsi ve derişiminin Cd^{2+} nin geri kazanma verimine etkisi

Grafiklerde de görüldüğü gibi, verimler birbirine çok yakın olduğu halde 6–9 mL arasında düzgün bir artış gözlemektedir. Bu nedenle bundan sonraki basamaklarda kolonda adsorplanan elementleri geri almak için her bir element için uygun türdeki

geri alma çözeltisinin 9 mL'si kullanıldı. Toplanan çözelti 10 mL'ye seyreltilerek analizlendi. Böylece örnek çözelti 5 kat zenginleştirilmiş oldu. Deneylerde 10 mL ve üzeri hacimlerdeki elüentlerin kullanımı geri kazanım verimini artırabilir. Fakat geri kazanım verimi artarken zenginleştirme faktörü düşer. Çalışmanın amacının zenginleştirme olası nedeni ile en yüksek geri kazanımın sağlandığı en düşük hacim seçilmiştir.

4.1.7.5. Çözelti derişiminin geri kazanım verimine etkisi

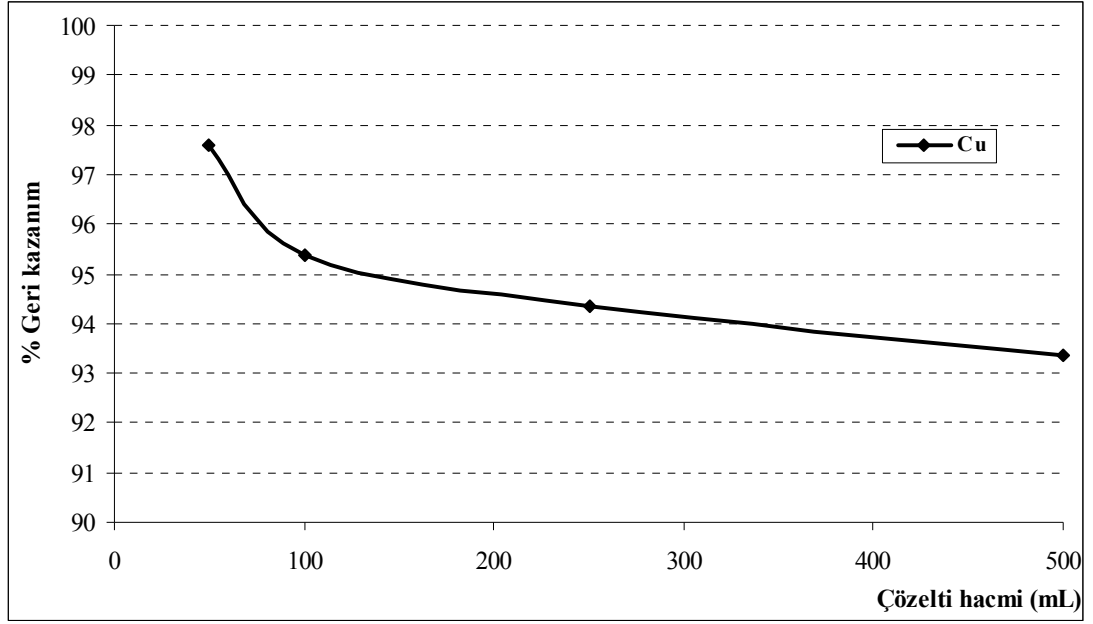
En uygun çözelti hacmini belirlemek amacıyla 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 mg/L 50 mL Cu(II) ve Cd(II) çözeltisi hazırlandı ve önceden belirlenen koşullarda ayrı ayrı kolondan geçirildi. ICP ile çok küçük derişimlerde bile ölçüm yapılabildiği için deneyler düşük derişimlerde yapıldı. Uygun elüentin 9 mL'si ile geri alınan çözelti 10 mL'ye seyreltilerek analiz edildi. Sonuçlar şekil 4.13'de verilmiştir. Geri kazanım veriminin en yüksek olduğu örnek hacmi 0,2 mg/L olarak bulunmuştur.



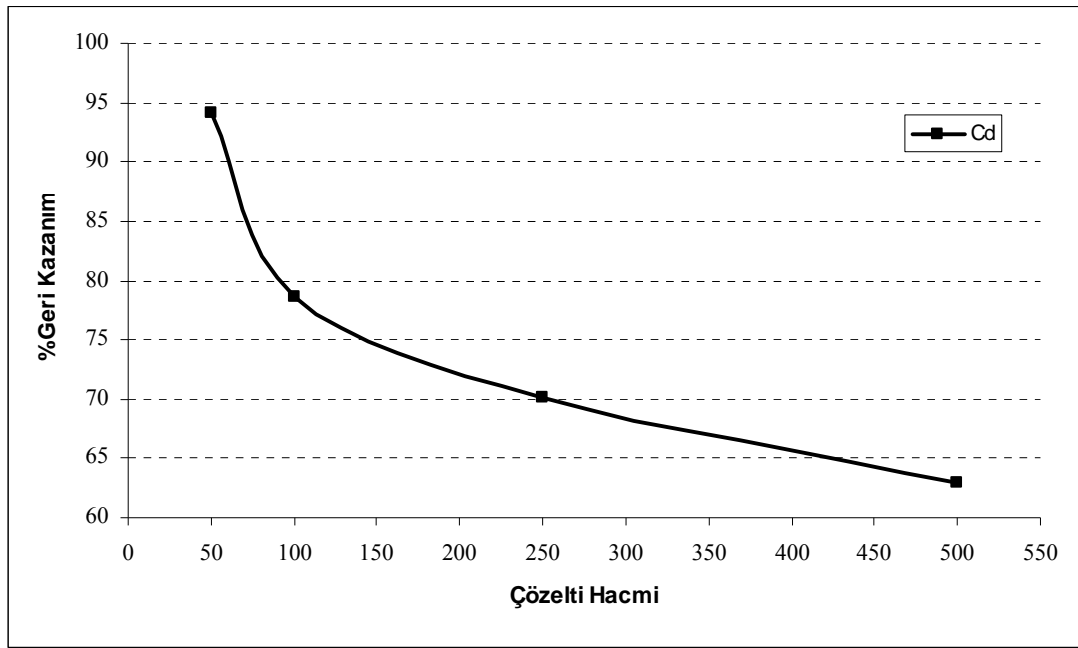
Şekil 4.13 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş çözelti derişiminin geri kazanım verimine etkisi

4.1.7.6. Çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi

Çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisini araştırmak amacıyla 0,2 mL/L iyon içeren 50, 100, 250, 500 mL'lik numune çözeltileri hazırlanarak kolondan daha önce belirlenen en uygun şartlarda süzüldü. Kolonda tutunan elementler, daha önce belirlenen uygun asit çözeltilerinin 9 mL'si kolondan geçirilerek geri kazanıldı ve 10 mL' ye seyreltildi. Çözeltideki metaller ICP-OES ile tayin edilerek geri kazanım verimleri hesaplandı. *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajelde, çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisi şekil 4.14 ve 4.15'de verilmiştir.



Şekil 4.14 *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajelde çözelti hacminin Cu^{2+} nin geri kazanım verimine etkisi



Şekil 4.15 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde çözelti hacminin Cd²⁺ nin geri kazanma verimine etkisi

Çalışmanın uygulama alanları doğal örnekler olması ve alınan örneklerdeki element derişimleri çok küçük değerlerde olmasından dolayı zenginleştirme faktörünü arttırmak için yüksek örnek hacimlerinde çalışılmıştır. Sonuçlara göre, örnek çözeltisi hacmi arttıkça geri kazanım verimini azaldığı görüldü. Bu nedenle bundan sonraki deneylerde örnek hacmi 50 mL olarak alındı.

4.1.7.7. *Anoxybacillus Flavithermus Hbb 134* immobilize edilmiş silikajelde Cu²⁺ ve Cd²⁺ nin geri kazanma verimine diğer iyonların etkisi

Alkali ve toprak alkali metal doğal örneklerde fazla miktarda bulunur ve bu iyonlar eser element analizinde girişim yapabilirler. Bu nedenle, alkali ve toprak alkali metal iyonlarının çalışılan elementlerin geri kazanım verimine etkileri araştırıldı. Sonuçlar çizelge 4.2 ve çizelge 4.3’de verilmiştir. Cu²⁺ için (pH 8) Na, K, Ca, Mg metallerini hepsi ortama eklendi. Fakat Cd²⁺ çalışmalarında ortam pH’ı 8 olduğundan Ca ve Mg iyonlarında çökeltme görüldü. Bu nedenle örnek Cd²⁺ çözeltileri için Ca ve Mg iyonları eklenmedi.

İyon	Kullanılan Bileşik	Derişim	% Geri Kazanım
			Cu ²⁺
Na ⁺	NaCl	20000 mg / L	95,01 ± 1,09
K ⁺	KCl	3000 mg / L	
Ca ²⁺	CaCl ₂ .2H ₂ O	750 mg / L	
Mg ²⁺	MgCl ₂ .6H ₂ O	150 mg / L	

Çizelge 4.2. *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde Cu²⁺'nin geri kazanma verimine diğer iyonları etkisi

İyon	Kullanılan Bileşik	Derişim	% Geri Kazanım
			Cd ²⁺
Na ⁺	NaCl	20000 mg / L	48,72 ± 0,39
K ⁺	KCl	3000 mg / L	

Çizelge 4.3 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajelde Cd²⁺'nin geri kazanma verimine diğer iyonları etkisi

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, diğer elementlerin derişimi, Cu²⁺'nin geri kazanma verimine etkisinin çok az olduğu Cd²⁺'nin geri kazanma verimine etkisinin ise çok fazla olduğu gözlenmiştir.

4.1.7.8. Adsorpsiyon kapasitesi

Anoxybacillus flavithermus HBB 134 immobilize edilmiş silikajelin, adsorpsiyon kapasitesini belirlemek amacıyla batch yöntemi kullanıldı. Her bir element için 1 mg metal iyonu içeren 50 mL'lik çözeltiler hazırlandı ve pH'ları daha önce belirlenen optimum pH değerine (Cu²⁺ için pH:6, Cd²⁺ için pH:8) ayarlandı. Bu çözeltiler içerisine 0.1 g *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajel ilave edilerek çalkalayıcıda 30 dakika çalkalandı. Karışım 0,45 µm gözenekli membran filtreden süzülerek çözelti ve adsorbent birbirinden ayrıldı.. Süzüntüden 1 mL alınıp 10 mL'ye seyreltildi. Metal konsantrasyonu ICP-OES'de belirlendi (Soylak vd, 2006). Her bir metal için 1 g adsorbent başına adsorplanan metal miktarı mg olarak hesaplandı.

Anoxybacillus flavithermus HBB 134 immobilize edilmiş silikajelin adsorpsiyon kapasitesi Cu ve Cd için sırasıyla 3,09 mg/g, 7,73 mg/g olarak bulunmuştur.

4.1.7.9. Çeşme suyu örneğinde Cu(II) ve Cd(II) tayini

Bu işlemlerde laboratuvar çeşmesinden doldurulan su kullanıldı. Cu tayini için 470 mL çeşme suyuna 30 mL pH 6 tamponu eklenerek 500 mL örnek çözeltisi elde edildi. Örnek çözelti kolondan geçirildi ve 9 mL HCl ile geri alındı. Geri alma çözeltisi 10 mL'ye seyreltilerek analizlendi. Cd tayininde pH 8 fosfat tamponu kullanıldığında Mg ve Ca çöktüğü için ortam pH'ını ayarlama tampon çözelti kullanılmadı. Bu nedenle pH, NH₃ ve HCl ile ayarlandı. Örnek çözelti kolondan geçirildi ve 9 mL HNO₃ ile geri alındı. Geri alma çözeltisi 10 mL'ye seyreltilerek analizlendi.

Element	Eklenen (µg/L)	Bulunan (µg/L) ^a	Bağlı hata, %
Cu ²⁺	-	6 ± 0,02	-
	20	27,6 ± 0,2	6
Cd ²⁺	-	T.E ^b	-
	200	185 ± 3	-7,5

a) 3 değerlerin ortalaması

b) T.E Tayin edilemedi.

Çizelge 4.4 *Anoxybacillus flavithermus* HBB 134 immobilize edilmiş silikajel ile Aydın çeşme suyu örneğinde Cu(II) ve Cd(II) tayini

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada ayırma ve zenginleştirme yöntemi olarak, katı faz ekstraksiyonu kullanılmıştır. Adsorbent olarak *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajel ile çalışılmıştır. Çalışmada Cu ve Cd metallerinin zenginleştirme şartları incelenmiştir. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşme suyunda Cu ve Cd analizleri yapılmıştır.

Analizlerde ICP-OES kullanılmıştır. ICP-OES oldukça geniş, dinamik, kalibrasyon aralığına sahiptir. Tek bir örnek hazırlanmasıyla yüksek ve düşük ppm seviyelerinde ölçüm yapılabilir ve oldukça iyi kesinlik ve doğruluğa sahiptir. Geniş doğrusal çalışma aralığı, düşük gözlenebilme sınırı ve kimyasal girişimin olmaması eser element analizlerinde tercih edilme nedenidir.

Mikroorganizmalarda bir çok ortak fonksiyonel grup vardır. Bunlardan bazıları amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, tiol ve tiyoeterdir (Crist, et al., 1981). Metal iyonları bu fonksiyonel gruplara genellikle nötrale yakın pH'larda (pH 6-8 aralığında) daha fazla adsorplanır (Madrid, Y., and Camara, C, 1997). Bu çalışmada bulunan değerlerde literatüre uygun olarak 6-8 aralığında bulunmuştur. Daha yüksek ve daha düşük pH'larda geri kazanım azalmaktadır. Düşük pH'larda adsorpsiyonun az olmasının nedeni, mikroorganizma yüzeyindeki fonksiyonel grupların protonlar tarafından doldurulmasıdır (Pérez- Corona, et al., 1997). Metaller mikroorganizma yüzeyine fonksiyonel gruplardaki protonlarla yer değiştirerek bağlanır. Geri kazanma veriminin yüksek pH'larda düşük olmasının nedeni iyonik olmayan hidroksit komplekslerinin oluşması ve metal iyonlarının hidroksil iyonlarına bağlanması olarak açıklanabilir.

Silikajel üzerine immobilize edilen *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* miktarını geri kazanma verimine etkisi şekil 4.9 ve şekil 4.10'da görülmektedir. Elde edilen sonuçlara göre, immobilize edilen bakteri miktarı arttıkça geri kazanım verimi arttığı, ancak belli miktarlardan sonra geri kazanım veriminin çok az değiştiği gözlenmiştir. Kolon çapı sabitken katı faz miktarının artması yatak yüksekliğinin artmasını demektir. Bu durumda tutunmada artmaktadır. Fakat, yatak yüksekliği arttıkça hem

süzme hızı azalmakta, hem de gerekli geri alma çözeltisinin hacmi artmaktadır. Belirli aralıktaki değerler birbirine çok yakın olmasına karşı yüksek miktarlarda kolonda tıkanmalar oluştuğu için verim düşmüştür. Bu nedenle, en uygun miktarın 40 mg olduğuna karar verildi ve 250 mg silikajel üzerine 40 mg bakteri immobilize edilerek hazırlanan katı faz kullanıldı.

En yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH ve katı faz miktarı kullanılarak kolonda tutulan elementlerin geri kazanım verimini arttırmak için geri alma çözeltisinin türü, hacmi ve derişiminin etkisi incelenmiştir. Deneyler sonucunda, en uygun geri alma çözeltisi olarak Cu(II) için 1 M HCl, Cd(II) için 1 M HNO₃ seçilmiştir. Geri alma çözeltisinin hacminin etkisi incelendiğinde, verimler birbirine çok yakın olduğu halde 6–9 mL arasında düzgün bir artış oluşu gözlenmiştir. Bu nedenle bundan sonraki basamaklarda kolonda adsorplanan elementler, her bir element için uygun türdeki geri alma çözeltisinin 9 mL'si kullanılarak geri alındı. Toplanan çözelti 10 mL'ye seyreltilerek analizlendi. Böylece örnek çözelti 5 kat zenginleştirilmiş oldu.

Çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisini araştırmak amacıyla kolondan geçirilen 0,2 ml/L iyon içeren 50, 100, 250, 500 mL'lik çözeltilerden elde edilen sonuçlar şekil 4.11 ve şekil 4.12'deki gibidir. Çalışmanın uygulama alanları doğal örnekler olduğundan ve alınan örneklerdeki element derişimleri çok küçük değerlerde olduğu için zenginleştirme faktörünü arttırmak için yüksek örnek hacimlerinde çalışılmıştır. Örnek çözeltisi hacmi arttıkça geri kazanım verimini azaldığı görülmüştür.. Bu nedenle, deneylerde 50 mL örnek kullanılmıştır.

Yabancı elementler, eser element analizlerinde girişim yaparak yöntemin doğruluğuna etki edebilirler. Bu nedenle, kullanılan katı fazın ortamda bulunan diğer elementlerin etkisini azaltması veya yok etmesi istenir. Mikroorganizmalar elementleri seçici olarak adsorplayarak yabancı iyon etkisini yok ederler. Ortamda bulunan her bir element mikroorganizmanın farklı bağlanma uçlarına farklı şartlarda tutunur. Bu elementlerin geri alınma şartları daha farklı olduğu için, uygun şartlar sağlanarak seçimlilik sağlanabilmektedir. Elde edilen sonuçlar incelendiğinde, diğer

elementlerin derişimi, Cu^{+2} 'nin geri kazanma verimine etkisinin çok az olduğu Cd^{+2} 'nin geri kazanma verimine etkisinin ise çok fazla olduğu gözlenmiştir.

KAYNAKLAR

Adams, M.W.W., 1993. Enzymes and proteins from organisms that grow near and above 100°C. **Annu. Rev. Microbiol.**, 47: 627-658.

Aksu, Z., 1988. Atıksulardaki ağır metal iyonlarının yeşil alglerden *chlorella vulgaris*'e adsorpsiyonunun kesikli düzende karıştırmalı ve akışkan yatak tepkime kaplarında incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 132 s., Ankara.

Aksu, Z., Açıkel, Ü., Kutsal, T., 1999. Investigation of simultaneous biosorption of copper(II) and chromium (VI) on dried *c.vulgaris* from binary metal mixtures: application of multicomponent adsorption isotherms. **Sep. Sci. and Technology.**, 34: 501-524.

Bağ, H., 1998. Bazı elementlerin mikroorganizma immobilize edilmiş sepiolitte zenginleştirme şartlarının araştırılması ve alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayinleri. Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 148 s., Ankara.

Balcerzak M., 2002. Sample digestion methods for the determination of traces of precious metals by spectrometric Techniques, **Anal. Sci.**, 18: 737-750.

Başbülbul, G., 2009. Çeşitli Doğal Kaynaklardan izole edilen Termofilik Bakterilerin Ürettikleri Bakteriyosinlerin Karakterizasyonu ve Saflaştırılması, Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Aydın.

Beveridge, T.J., Murray, R.G.E., 1976. Uptake and retention of metals by cell walls of *Bacillus Subtilis*. **J. Bacteriol.**, 127: 1502- 1518.

Beveridge, T.J., Murray, R.G.E., 1980. Sites of metal deposition in the cell wall of *Bacillus Subtilis.*, **J. Bacteriol.**, 141: 876- 887.

Brock, T.D., 1967. Life at high temperatures. **Science**, 158: 1012-1019.

Crist, R.H., Oberhaser, K., Shank, N., Nguyen, M., 1981. Nature of binding between metallik ions and algal cell walls. **Environ. Sci. Technol.**, 15: 1212.

Daorattanachai, P., Unob, F., Imyim, A., 2005. Multi-element preconcentration of heavy metal ions from aqueous solution by APDC impregnated activated carbon. **Talanta**, 67: 59-64.

Delves H. T. 1981. The Analysis of Biological and Clinical Materials, **Progress in Analytical Atomic Spectroscopy**, 4:1-48

Dülger, S., 2003. Gönen, Kestanbol ve Diyadin kaplıcalarından termofilik bakterilerin izolasyonu, moleküler yöntemlerle karakterizasyonu ve tanımlanması. Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 108 s. Trabzon.

Ercole, C., Veglio', F., Toro, L., Ficara, G. And Lepidi, A., 1994, Immobilisation of microbial cells for metal adsorption and desorption. **Mineral Bioprocessing II. Snowbird**, Utah, U.S.A.

Ergene A., 1982. Toprak ilminin esasları. Atatürk Üniversitesi yayınları, Erzurum.

Frieden E., 1972. The chemical elements of life. Scientific American, 227 (1): 52-60.

Fuchs T., Huber, H., Ternner, K., Burggraf K.O., Stetter K.O., 1995. *Metallospheara prunae* sp. Nov., a noval metal-mobilizing, thermoacidophilic archeum, isolated from a uranium mine in Germany. **System. Appl. Microbiol.**, 18: 560-566.

Gönen, F., 2000. Endüstriyel atıksulardaki fenol ve ağır metal iyon karışımlarının, granüler aktif karbon ve mikroorganizma sistemlerine adsorpsiyonunun dolgulu kolon reaktörde incelenmesi. Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Guagliardi, A., Martino, M., Iaccarino, I., De Rosa, M., Rossi, M., Bartolucci, S., 1996. Purification and Characterization of the Alcohol Dehydrogenase from a Novel Strain of *Bacillus stearothermophilus* Growing at 70°C. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, 28: 239-246.

Gündüz, T., 2003. Enstrümental Analiz, Ankara Üniversitesi Yayınları, Ankara.

Hassler, J.W., 1974. Purification with Activated Carbon, Chemical Publishing Co., 390 s., U.S.A.

Harward, D.O., Trapnel, B.M.W., 1964, Chemisorption, Butter Worths, 2nd Edition, 390 s., U.S.A.

Huber, R., Stetter, K.O., 1992. The Thermotogales: hyperthermophilic and extremely thermophilic bacteria. In: Kristjansson, JK (ed) Thermophilic bacteria. **CRC Pres, Boca Raton, Fla**, pp. 185-194.

Kartal A. A., 2004. Amberlite XAD 2000 reçinesiyle dolgulu kolonda eser düzeydeki kurşun, demir ve kromun zenginleştirilmesi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Denizli.

Kristjansson, J.K., Stetter, K.O., 1992. Thermophilic bacteria. In: Kristjansson, JK (ed). Thermophilic bacteria. London, CRC Press, Inc., Boca Raton. pp 1-18.

Krueger, S., Olson, G.Y., Johnsonbaugh, D., Beveridge, T.J., 1993. Characterization of the binding of Gallium, Platinum, and Uranium to *Pseudomonas fluorescens* by small-angle X-ray scattering and transmission electron microscopy. **Appl. Environ. Microbiol.**, 59: 4056- 4064.

Kuyucak, N., Volesky, B., 1988. Biosorbents for recovery of metals from industrial solutions. **Biotechnol. Lett.**, 10 (2): 137-142.

Madrid, Y., Camara, C., 1997. Biological substrates for metal preconcentration and speciation, **Trends in Anal. Chem.**, 16: 36.

Mattuschka, B., Straube, G., Trevors, J.T., 1994. Silver, copper, lead and zinc accumulation by *Pseudomonas stutzeri* AG259 and *Streptomyces albus*. Electron microscopy and energy dispersive X-ray studies. **BioMetals**, 7: 201- 208.

Medcalfe, E., 1987. Atomic absorption and emission spectroscopy, John Willey and Sons., London.

Metcalf, L., Eddy, H.P., 1991. Wastewater Engineering, 3rd Ed., Mc Graw Hill, 48-126., N.Y., U.S.A.

Oğuz, M., 1986, Fizikokimyasal Arıtım, TMMOB Kimya Mühendisleri Odası Yayını, No:13, 202 s., Ankara.

Özcan, B., Soylak, M., Elçi, L., 2001. Bazı metal iyonlarının birlikte çöktürüldükten sonra FAAS ile tayinleri. **XV. Ulusal Kimya Kongresi**, Bildiriler: AK- P38., İstanbul.

Pérez- Corona, T., Madrid, Y., Camara, C., 1997. Evaluation of selective uptake of selenium (Se(IV) and Se(VI)) and antimony (Sb(III) and Sb(V)) species by baker' s yeast cell (*Saccharomyces cerevisia*), **Anal. Chim. Acta**, 345: 249-256.

Rho, J., Kim, J., 2002. Heavy metal biosorption and its significance to metal tolerance of *streptomyces*. **The Journal of Microbiology**, 40 (1): 51–54.

Saraçoğlu, S., Divrikli, Ü., Soylak, M., Elçi, L., 2002. Determination of copper, iron, lead, cadmium, cobalt and nichel by atomic absorption spectrometry in baking powder and baking soda samples after preconcentration and separation. **Journal of Food and Drug Analysis**, 10 (3): 188–194.

Sarikaya, Y., 1993, Fizikokimya, Gazi Büro Kitabevi, 1151 s., Ankara.

Son, Ç.D., 1999. Isolation and optimization of growth conditions of thermophilic bacteria from Turkish soils and hot springs. Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Ankara.

Soylak, M., Tüzen, M., Mendil, D., Türkekul, İ., 2006, Bisorption of heavy metals on *Aspergillus fumigatus* immobilized Diaion HP-2MG resin for their atomic absorption spectrometric determinations. **Talanta**, 70, (5): 1129-1135.

Tokaloğlu, Ş., Şahin, U., Kartal, Ş., Ülgen, A., 2001, İndiyum hidroksitle birlikte çökme yöntemi kullanarak zenginleştirilen su örneklerinde bazı ağır metallerin alevli atomik absorpsiyon spektrometrik tayini. XV. Ulusal Kimya Kongresi, AK-P49, İstanbul.

Treybal, R.E., 1980. Mass Transfer Operations, Mc Graw Hill, Kogakusha Ltd, Tokyo.

Veglio, F., Beolchini, F., 1997. Removal of metals biosorption: a review. **Hydrometallurgy**, 44: 301–316.

Weber, JR., 1972. Physicochemical Processes for Water Quality Control, Wiley, U.S.A.

Welz, B., 1985. Atomic absorption spectrometry. VCH, Weinheim, Almanya.

Woese, C.R., Kandler, O., Wheelis, M.L., 1990. Towards a Naturel System of Organisms: Proposal for the Domains *Archaea*, *Bacteria* and *Eucarya*, **Proc. Natl. Acad. Sci.** 97: 4576.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı: S. Ebru SOYSAL

Doğum Yeri ve Tarihi: Bornova/İZMİR – 08/04/1980

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi: Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü

Yüksek Lisans Öğrenimi: Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

Bildiriler

-Uluslararası:

5th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, 23-26 Eylül 2009,
Fatsa/ORDU (Poster)

6th Aegean Analytical Chemistry Days, 9-12 Kasım 2008, Denizli (Katılımcı)

-Ulusal:

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl:

İLETİŞİM

E-posta Adresi: ebruguzelsoylu@gmail.com, sebrusoysal@adu.edu.tr

Tarih: 11/09/2009