

**T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ  
KİMYA ANABİLİM DALI  
KİM-DR-2010-0002**

**BAZI TERMOFİLİK BAKTERİLER YARDIMIYLA  
BAZI METAL İYONLARININ AYIRMA VE  
ZENGİNLEŞTİRME OLANAKLARININ  
ARAŞTIRILMASI**

**Gülşen GÜVEN**

**Tez Danışmanı:  
Prof. Dr. Mustafa DEMİR**

**AYDIN**

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

Kimya Anabilim Dalı Doktora Programı öğrencisi Gülşen GÜVEN tarafından hazırlanan “Bazı Termofilik Bakteriler Yardımıyla Bazı Metal İyonlarının Ayırma ve Zenginleştirme Olanaklarının Araştırılması” başlıklı tez, 03.09.2010 tarihinde yapılan savunma sonucunda aşağıda isimleri bulunan jüri üyelerince kabul edilmiştir.

	Ünvanı, Adı Soyadı	Kurumu	İmzası
Başkan	: Prof. Dr. Mustafa DEMİR	ADÜ	
Üye	: Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER	ADÜ	
Üye	: Prof. Dr. Emür HENDEN	EÜ	
Üye	: Doç. Dr. Ümit DİVRİKLİ	PAÜ	
Üye	: Yrd. Doç. Dr. Kubilay METİN	ADÜ	

Jüri üyeleri tarafından kabul edilen bu Doktora tezi, Enstitü Yönetim Kurulunun ..... sayılı kararıyla ..... tarihinde onaylanmıştır.

Ünvanı, Adı Soyadı  
Enstitü Müdürü

**T.C.**  
**ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE**

Bu tezde sunulan tüm bilgi ve sonuçların, bilimsel yöntemlerle yürütülen gerçek deney ve gözlemler çerçevesinde tarafımdan elde edildiğini, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce, sonuç ve bilgilere bilimsel etik kuralların gereği olarak eksiksiz şekilde uygun atıf yaptığımı ve kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

29/07/2010

Gülşen GÜVEN

## ÖZET

### BAZI TERMOFİLİK BAKTERİLER YARDIMIYLA BAZI METAL İYONLARININ AYIRMA VE ZENGİNLEŞTİRME OLANAKLARININ ARAŞTIRILMASI

Gülşen GÜVEN

Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı  
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Mustafa DEMİR  
2010, 138 sayfa

Bu çalışmada, silika jel üzerine immobilize edilmiş *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22, *Geobacillus toebii* HBB 218, *Anoxybacillus puschionensis* HBB 246, *Geobacillus thermoglucosidasius* HBB 269 (termofilik bakteriyel biyokütle) ile doldurulmuş kolon kullanılarak  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  iyonlarının zenginleştirilmesi için bir metot geliştirilmiştir. Silika jel üzerine immobilize edilmiş termofilik bakteriyel biyoküteller su örneklerinden analitleri seçici olarak biriktirmektedir. Metal iyonları ICP-OES ile tayin edilmiştir. Analitlerin kantitatif geri kazanımı üzerine pH, bakteriyel biyokütle miktarı, örnek hacmi, eluent hacmi, eluent türü vb. analitik parametrelerin etkileri araştırılmıştır. Analitlerin geri kazanımı üzerine bazı alkali, toprak alkali ve bazı metal iyonlarının etkileri de incelenmiştir.  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ve  $\text{Pb}^{2+}$ 'nin biyosoğurumu için optimum pH değeri 6'dır ve  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  için optimum pH değeri 8'dir.  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  için 10 mL 1 M HCl çözeltisi ve  $\text{Ni}^{2+}$  için 1 M  $\text{HNO}_3$  çözeltisi kantitatif elüsyon için uygun bulunmuştur. Optimum deneysel şartlar altında  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonlarının geri kazanımı % 94.6-103.1 aralığında değişmektedir.  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonlarının tayininde metodun doğruluğunu göstermek için sertifikalı referans madde (atık su çamuru-BCR 146-R) kullanılmıştır. Belirlenen değerler sertifika değerleri ile uyumludur. Önerilen ayırma ve zenginleştirme metodu kaynak, çeşme ve nehir suyu örneklerine uygulanmıştır. Su örneklerine eklenen  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonlarının geri kazanımları sırasıyla % 95.9–105.7, 85.8–106.3, 96.0–103.5, 93.6–105.2, 92.5–99.6 ve 97.4–103.0 aralığında bulunmuştur.

**Anahtar kelimeler:** Zenginleştirme, ayırma, termofilik bakteri, biyosoğurum, immobilizasyon, ICP-OES

**ABSTRACT****INVESTIGATION OF SEPARATION AND PRECONCENTRATION OF SOME METAL IONS BY USING SOME THERMOPHILIC BACTERIA**

Gülşen GÜVEN

Ph.D. Thesis, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Mustafa DEMİR

2010, 138 pages

In this study, a method has been developed for  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  preconcentration by using columns packed with *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22, *Geobacillus toebii* HBB 218, *Anoxybacillus puschionensis* HBB 246, *Geobacillus thermoglucosidasius* HBB 269 (thermophilic bacterial biomass) immobilized on silica gel. Thermophilic bacterial biomass immobilized on silica gel selectively accumulated analytes from water samples. Metal ions were determined by ICP-OES. The influences of analytical parameters including pH, amount of bacterial biomass, sample volume, eluent volume, type of eluent etc. on the quantitative recoveries of analytes were investigated. The effects of some alkaline, alkaline earth and some metal ions on the recoveries of analytes were also examined. Optimum pH values for the biosorption of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  and  $\text{Pb}^{2+}$  were 6 and optimum pH values for  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  were 8. 10 mL of 1 M HCl solution for  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and 10 mL of 1 M  $\text{HNO}_3$  solution for  $\text{Ni}^{2+}$  were found to be satisfactory for the quantitative elution. The recoveries of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  ions were ranged from 94.6 to 103.1% under the optimum experimental conditions. In order to validate the accuracy of the method for determination of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  ions, certified reference material (sewage sludge-BCR 146-R) was used. The determined values were in good agreement with the certified values. Proposed separation and preconcentration method was applied to spring, tap and river water samples. The recoveries of  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  and  $\text{Ni}^{2+}$  added to water samples were in between 95.9-105.7, 85.8-106.3, 96.0-103.5, 93.6-105.2, 92.5-99.6 and 97.4-103.0%, respectively.

**Key words:** Preconcentration, separation, thermophilic bacterium, biosorption, immobilization, ICP-OES

## ÖNSÖZ

Bilimsel birikim ve deneyimleri ile çalışmanın her aşamasında desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Mustafa DEMİR'e,

Doktora tez çalışmam boyunca çalışmaya yön veren, tez izleme komitemde bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. A. Ersin KARAGÖZLER'e ve Prof. Dr. Emür HENDEN'e,

Doktora tez çalışmamdaki katkılarından dolayı Adnan Menderes Üniversitesi Kimya Bölümü'ne, Biyoloji Bölümü'ne, Merkez Araştırma Laboratuvarı'na, Bilimsel Araştırma Projelerine,

Kültür koleksiyonlarında bulunan termofilik bakterileri ve bu konudaki bilimsel birikimlerini benimle paylaşan Yrd. Doç. Dr. Halil BIYIK'a ve sevgili arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Gamze BAŞBÜLBÜL'e,

Desteklerinden dolayı çalışma arkadaşım Arş. Gör. Fatih Alpay VURAN'a,

Deneyisel çalışmalardaki yardımlarından dolayı lisans öğrencilerimiz Aykut KARABULUT'a ve Elif ÇOR'a

Bu günlere gelmemin en önemli nedeni annem ve babam, Ayşe-Muharrem DEMİRLİ'ye,

Her zaman desteğiyle yanımda olan sevgili eşim Zafer GÜVEN'e ve oğlum Cem GÜVEN'e,

teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	iii
BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI.....	v
ÖZET .....	vii
ABSTRACT .....	ix
ÖNSÖZ.....	xi
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	xv
ÇİZELGELER DİZİNİ .....	xvii
<b>1. GİRİŞ.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Eser Analizde Zenginleştirmenin Önemi ve Zenginleştirme Yöntemleri.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1.1. Uçuculaştırma .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.2. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu .....</b>	<b>4</b>
<b>1.1.3. Flotasyon .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.4. Birlikte Çöktürme .....</b>	<b>5</b>
<b>1.1.5. Elektrokimyasal Biriktirme.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.6. Katı Faz Ekstraksiyonu .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.6.1. Geri kazanım.....</b>	<b>9</b>
<b>1.2. Zenginleştirilen Metallerin Genel Özellikleri .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.1. Bakır .....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.2. Çinko.....</b>	<b>11</b>
<b>1.2.3. Kadmiyum.....</b>	<b>12</b>
<b>1.2.4. Kobalt .....</b>	<b>12</b>
<b>1.2.5. Kurşun.....</b>	<b>13</b>
<b>1.2.6. Nikel.....</b>	<b>13</b>
<b>1.3. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri ve Ağır Metal Biyosoğurumunda Mikroorganizmalar.....</b>	<b>14</b>
<b>1.3.1. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri.....</b>	<b>14</b>
<b>1.3.2. Bakterilerin Hücre Duvarı Bileşenleri.....</b>	<b>14</b>
<b>1.3.3. Termofilik Prokaryotlar .....</b>	<b>17</b>
<b>1.3.4. Ağır Metal Biyosoğurumunda Mikroorganizmalar .....</b>	<b>18</b>
<b>1.3.5. Biyosoğurum İle İlgili Fonksiyonel Gruplar .....</b>	<b>22</b>
<b>1.3.6. Katı Destek Üzerine Biyosorbentlerin İmmobilizasyonu.....</b>	<b>25</b>

1.3.7. Desorpsiyon ve Rejenerasyon .....	26
1.3.8. İmmobilizasyon Yöntemleri .....	26
1.3.8.1. Katı taşıyıcı yüzeylere immobilizasyon.....	27
1.3.8.2. Gözenekli matriks içinde hapsetme .....	27
1.3.8.3. Hücre kümelenmesi .....	27
1.3.8.4. Bir bariyer arkasında mekanik sınırlama.....	28
1.4. Atomik Emisyon Spektroskopisi .....	30
1.4.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi.....	31
1.4.2. ICP-OES Bileşenleri .....	32
1.4.3. ICP-OES’de Girişimler .....	39
1.4.3.1. Matriks etkileri .....	39
1.4.3.2. Spektral girişim .....	40
1.5. Analitik Performans ile İlgili Terimler .....	40
1.6. Silika Jelin Genel Özellikleri .....	41
1.7. Çalışmanın Kapsamı ve Amacı .....	43
<b>2. KAYNAK ÖZETLERİ .....</b>	<b>44</b>
<b>3. MATERYAL VE YÖNTEM .....</b>	<b>51</b>
3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar.....	51
3.2. Deneylerde Kullanılan Cihazlar.....	52
3.3. Deneylerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları.....	53
3.3.1. Stok Çözeltiler.....	53
3.3.2. Eluent Çözeltileri .....	55
3.3.3. Tampon Çözeltiler .....	56
3.4. Zenginleştirme Çalışması Öncesinde Yapılan İşlemler.....	57
3.4.1. Termofilik Bakterilerin Üretilmesi .....	57
3.4.2. Bakteriyel Biyokütlelerin Spektroskopik Karakterizasyonu .....	57
3.4.3. Termofilik Bakteri Biyokütlelerinin Silika Jel Üzerine İmmobilizasyonu .....	58
3.4.4. Kolonun Hazırlanması ve Zenginleştirme İşlemi .....	58
3.5. Zenginleştirme Yönteminin Optimum Koşullarının Belirlenmesi.....	59
3.5.1. Geri Kazanıma pH Etkisi .....	61
3.5.2. Biyosoğuruma Bakteriyel Biyokütle Miktarının Etkisi .....	61
3.5.3. Eluent Türünün Desorpsiyona Etkisi .....	61
3.5.4. Eluent Hacminin Desorpsiyona Etkisi.....	61
3.5.5. Geri Kazanıma Örnek Çözeltisi Hacminin Etkisi .....	62



3.5.6. Geri Kazanıma Örnek ve Eluent Akış Hızının Etkisi .....	62
3.5.7. Geri Kazanıma Girişim Yapabilecek Diğer İyonların Etkisi .....	62
3.6. Biyosorbentlerin Kapasitelerinin Belirlenmesi .....	62
3.7. Yöntemin Gözlenebilme Sınırı .....	63
3.8. Optimum Koşullar Altında Yöntemin Tekrarlanabilirliği.....	63
3.9. Yöntemin Çeşitli Su Örneklerine ve Standart Referans Maddeye Uygulanması.....	63
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>65</b>
4.1. SEM Sonuçları.....	65
4.2. FT-IR Sonuçları.....	72
4.3. Geliştirilen Zenginleştirme Yönteminin Optimum Koşullarının Belirlenmesi.....	76
4.3.1. Geri Kazanıma pH Etkisi .....	76
4.3.2. Biyosoruruma Bakteriyel Biyokütle Miktarının Etkisi .....	80
4.3.3. Eluent Türünün Desorpsiyona Etkisi .....	84
4.3.4. Eluent Hacminin Desorpsiyona Etkisi.....	87
4.3.5. Geri Kazanıma Örnek Çözültisi Hacminin Etkisi .....	91
4.3.6. Geri Kazanıma Örnek ve Eluent Çözültisi Akış Hızının Etkisi.....	94
4.3.7. Geri Kazanıma Girişim Yapabilecek Diğer İyonların Etkisi .....	101
4.4. Biyosorbentlerin Kapasitelerinin Belirlenmesi.....	108
4.5. Geliştirilen Yöntemin Gözlenebilme Sınırının Belirlenmesi.....	110
4.6. Geliştirilen Yöntemin Optimize Edilmiş Koşullar Altında Tekrarlanabilirliği.....	114
4.7. Geliştirilen Yöntemin Standart Referans Maddeye Uygulanması.....	116
4.8. Yöntemin Çeşitli Su Örneklerine Uygulanması.....	116
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>125</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>128</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>137</b>

**KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ**

AAS	Atomic absorption spectrometry (Atomik absorpsiyon spektrometri)
ICP-OES	Inductively coupled plasma optic emission spectrometry (İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometri)
DSMZ 22	<i>Geobacillus stearothermophilus</i> DSMZ 22
EDX	Energy dispersive X-ray (Enerji dağılımlı X-ışını)
FT-IR	Fourier Transform İnfrared Spektrofotometresi
HBB 218	<i>Geobacillus toebii</i> HBB 218
HBB 246	<i>Anoxybacillus puschiensis</i> HBB 246
HBB 269	<i>Geobacillus thermoglucosidasius</i> HBB 269
LOD	Limit of detection (Gözlenebilme sınırı)
NMR	Nükleer manyetik rezonans
PTFE	Politetrafloretillen
RSD	Relative standard deviation (Bağıl standart sapma)
SEM	Scanning electron microscope (Taramalı elektron mikroskobu)
XPS	X-ray photoelectron spectroscopy (X-ışınları fotoelektron spektroskopisi)
XRD	X-ray diffraction analysis (X-ışını kırınım analizi)

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Katı faz ekstraksiyonu için dört temel adım.....	8
Şekil 1.2. Gram-pozitif ve gram-negatif hücre duvarlarının şematik çizimleri...	16
Şekil 1.3. Gram-negatif hücre duvarının genel yapısı .....	16
Şekil 1.4. Teikoik asitler ve Gram-pozitif hücre duvarının genel yapısı .....	17
Şekil 1.5. Hücre immobilizasyonunun temel metotları .....	29
Şekil 1.6. Atomik emisyon yönteminin temeli .....	30
Şekil 1.7. İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresinin şematik diyagramı .....	33
Şekil 1.8. ICP-OES’de kullanılan nebulizörler .....	35
Şekil 1.9. ICP’de meşale ve plazma geometrisi .....	37
Şekil 1.10. Plazmadaki farklı sıcaklık bölgeleri .....	37
Şekil 4.1. Saf silika jelin farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları.....	65
Şekil 4.2. Silika jel üzerine immobilize <i>Geobacillus stearothermophilus</i> DSMZ 22’nin farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları .....	66
Şekil 4.3. Silika jel üzerine immobilize <i>Geobacillus toebii</i> HBB 218’in farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları .....	67
Şekil 4.4. Silika jel üzerine immobilize <i>Anoxybacillus puschionensis</i> HBB 246’nin farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları .....	68
Şekil 4.5. Silika jel üzerine immobilize <i>Geobacillus thermoglucosidasius</i> HBB 269’un farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları.....	69
Şekil 4.6. Silika jel üzerine immobilize <i>Geobacillus toebii</i> HBB 218’in zenginleştirme işleminde kullanıldıktan sonraki SEM fotoğrafları.....	70
Şekil 4.7. DSMZ 22’ye ait FT-IR spektrumu .....	73
Şekil 4.8. HBB 218’e ait FT-IR spektrumu.....	73
Şekil 4.9. HBB 246’ya ait FT-IR spektrumu.....	74
Şekil 4.10. HBB 269’a ait FT-IR spektrumu.....	74
Şekil 4.11. Cu, Pb ve Zn ile yüklenmiş DSMZ 22’nin FT-IR spektrumları.....	75
Şekil 4.12. Co, Ni ve Cd ile yüklenmiş HBB 269’un FT-IR spektrumları.....	75
Şekil 4.13. $\text{Cu}^{2+}$ ’ın geri kazanımı üzerine pH’nın etkisi.....	77
Şekil 4.14. $\text{Zn}^{2+}$ ’nın geri kazanımı üzerine pH’nın etkisi .....	77
Şekil 4.15. $\text{Pb}^{2+}$ ’un geri kazanımı üzerine pH’nın etkisi .....	78
Şekil 4.16. $\text{Cd}^{2+}$ ’un geri kazanımı üzerine pH’nın etkisi.....	78
Şekil 4.17. $\text{Co}^{2+}$ ’ın geri kazanımı üzerine pH’nın etkisi.....	79
Şekil 4.18. $\text{Ni}^{2+}$ ’in geri kazanımı üzerine pH’nın etkisi .....	79
Şekil 4.19. $\text{Cu}^{2+}$ ’ın biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi .....	81
Şekil 4.20. $\text{Zn}^{2+}$ ’nın biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi .....	81
Şekil 4.21. $\text{Cd}^{2+}$ ’un biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi .....	82
Şekil 4.22. $\text{Co}^{2+}$ ’ın biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi .....	82
Şekil 4.23. $\text{Pb}^{2+}$ ’nın biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi.....	83
Şekil 4.24. $\text{Ni}^{2+}$ ’in biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi.....	83
Şekil 4.25. $\text{Cu}^{2+}$ ’ın desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi.....	88
Şekil 4.26. $\text{Zn}^{2+}$ ’nın desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi .....	88
Şekil 4.27. $\text{Cd}^{2+}$ ’un desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi.....	89
Şekil 4.28. $\text{Co}^{2+}$ ’ın desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi.....	89

Şekil 4.29. Pb <sup>2+</sup> un desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi .....	90
Şekil 4.30. Ni <sup>2+</sup> in desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi .....	90
Şekil 4.31. Cu <sup>2+</sup> in geri kazanımına örnek hacminin etkisi .....	91
Şekil 4.32. Zn <sup>2+</sup> nun geri kazanımına örnek hacminin etkisi .....	92
Şekil 4.33. Cd <sup>2+</sup> un geri kazanımına örnek hacminin etkisi .....	92
Şekil 4.34. Co <sup>2+</sup> in geri kazanımına örnek hacminin etkisi .....	93
Şekil 4.35. Pb <sup>2+</sup> un geri kazanımına örnek hacminin etkisi .....	93
Şekil 4.36. Ni <sup>2+</sup> in geri kazanımına örnek hacminin etkisi .....	94
Şekil 4.37. Cu <sup>2+</sup> in geri kazanımına örnek akış hızının etkisi .....	95
Şekil 4.38. Zn <sup>2+</sup> nun geri kazanımına örnek akış hızının etkisi .....	95
Şekil 4.39. Cd <sup>2+</sup> un geri kazanımına örnek akış hızının etkisi .....	96
Şekil 4.40. Co <sup>2+</sup> in geri kazanımına örnek akış hızının etkisi .....	96
Şekil 4.41. Pb <sup>2+</sup> un geri kazanımına örnek akış hızının etkisi .....	97
Şekil 4.42. Ni <sup>2+</sup> in geri kazanımına örnek akış hızının etkisi .....	97
Şekil 4.43. Cu <sup>2+</sup> in geri kazanımına eluent akış hızının etkisi .....	98
Şekil 4.44. Zn <sup>2+</sup> nun geri kazanımına eluent akış hızının etkisi .....	98
Şekil 4.45. Cd <sup>2+</sup> un geri kazanımına eluent akış hızının etkisi .....	99
Şekil 4.46. Co <sup>2+</sup> in geri kazanımına eluent akış hızının etkisi .....	99
Şekil 4.47. Pb <sup>2+</sup> un geri kazanımına eluent akış hızının etkisi .....	100
Şekil 4.48. Ni <sup>2+</sup> in geri kazanımına biyosoğurumuna eluent akış hızının etkisi ..	100
Şekil 4.49. Biyosorbentlerin Zn <sup>2+</sup> iyonlarını tutma kapasitesi .....	109
Şekil 4.50. Biyosorbentlerin Cd <sup>2+</sup> iyonlarını tutma kapasitesi .....	109
Şekil 4.51. Biyosorbentlerin Co <sup>2+</sup> iyonlarını tutma kapasitesi .....	110
Şekil 4.52. Cu <sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği .....	111
Şekil 4.53. Zn <sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği .....	111
Şekil 4.54. Cd <sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği .....	112
Şekil 4.55. Co <sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği .....	112
Şekil 4.56. Pb <sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği .....	113
Şekil 4.57. Ni <sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği .....	113

## ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Mikroorganizmaların biyoakümülyasyon ve biyosoğurum özelliklerinin karşılaştırılması .....	19
Çizelge 1.2. Biyolojik sistemlerde mevcut ligandlar ve metallerin üç sınıfı .....	22
Çizelge 1.3. Biyokütlerdeki organik bileşiklerin sınıfları ve temel fonksiyonel gruplar .....	24
Çizelge 3.1. Deneilerde kullanılan kimyasal maddeler .....	51
Çizelge 3.2. ICP-OES çalışma koşulları.....	52
Çizelge 3.3. Zenginleştirme işlemi için parametreler ve çalışma aralıkları .....	60
Çizelge 4.1. $Cu^{2+}$ in desorpsiyonuna eluent türünün etkisi .....	84
Çizelge 4.2. $Zn^{2+}$ nun desorpsiyonuna eluent türünün etkisi.....	85
Çizelge 4.3. $Cd^{2+}$ un desorpsiyonuna eluent türünün etkisi .....	85
Çizelge 4.4. $Co^{2+}$ in desorpsiyonuna eluent türünün etkisi .....	86
Çizelge 4.5. $Pb^{2+}$ un desorpsiyonuna eluent türünün etkisi.....	86
Çizelge 4.6. $Ni^{2+}$ in desorpsiyonuna eluent türünün etkisi.....	87
Çizelge 4.7. $Cu^{2+}$ in geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi .....	102
Çizelge 4.8. $Zn^{2+}$ nun geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi.....	103
Çizelge 4.9. $Cd^{2+}$ un geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi .....	104
Çizelge 4.10. $Co^{2+}$ in geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi .....	105
Çizelge 4.11. $Pb^{2+}$ un geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi.....	106
Çizelge 4.12. $Ni^{2+}$ in geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi .....	107
Çizelge 4.13. Çalışılan metal iyonları için yöntemin gözlenebilme sınırı.....	114
Çizelge 4.14. Silika jel üzerine immobilize edilmiş DSMZ 22, HBB 218, HBB 246 ve HBB 269 ile geliştirilen zenginleştirme yöntemi için belirlenen optimum şartlar .....	115
Çizelge 4.15. $Cu^{2+}$ , $Zn^{2+}$ ve $Cd^{2+}$ iyonları için optimize edilmiş koşullar altında yöntemin tekrarlanabilirliği .....	115
Çizelge 4.16. $Co^{2+}$ , $Pb^{2+}$ ve $Ni^{2+}$ iyonları için optimize edilmiş koşullar altında yöntemin tekrarlanabilirliği .....	116
Çizelge 4.17. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile standart referans maddede (BCR 146R) $Cu^{2+}$ , $Zn^{2+}$ ve $Cd^{2+}$ tayini .....	117
Çizelge 4.18. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile standart referans maddede (BCR 146R) $Co^{2+}$ , $Pb^{2+}$ ve $Ni^{2+}$ tayini.....	118
Çizelge 4.19. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde $Cu^{2+}$ tayini.....	119
Çizelge 4.20. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde $Zn^{2+}$ tayini.....	120
Çizelge 4.21. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde $Cd^{2+}$ tayini.....	121
Çizelge 4.22. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde $Co^{2+}$ tayini.....	122
Çizelge 4.23. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde $Pb^{2+}$ tayini.....	123
Çizelge 4.24. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde $Ni^{2+}$ tayini.....	124

## 1. GİRİŞ

Günümüzde organik, inorganik ve organometalik maddelerin eser düzeylerinin çevre ve klinik örneklerde izlenmesi oldukça önem kazanmıştır. Bunun yanında ürün kalitesinin artırılmasında ve denetim mekanizmalarında eser analiz önemli bir rol oynamaktadır. Genel olarak eser elementler doğal ve bozulan sistemlerde düşük derişimlerde bulunan, belli derişimlere yükseldiğinde ise canlı organizmalara toksik etkisi olan elementler olarak tanımlanır (Henden, 2001).

Su kirleticilerinin pek çok kağınağı vardır. Bu kaynaklar doğrudan ve dolaylı kirletici kaynaklar olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Doğrudan kaynaklar endüstrilerden, rafinerilerden, atık arıtma tesislerinden ve benzeri kaynaklardan gelen atık suları kapsar. Dolaylı kaynaklar ise yağmur suyu ile atmosferden gelen ve topraktan/yeraltı su sistemlerinden gelen kirleticileri kapsar.

Kirleticiler genellikle organik ve inorganik olmak üzere iki ana sınıf altında toplanır. Endüstriyel çözenler, uçucu organik bileşikler, pestisitler ve besin üretim atıkları, organik su kirleticilerindendir. İnorganik su kirleticileri metalleri, gübreleri ve endüstriyel atıkları kapsar. Endüstriyel atık sularda yaygın kirleticiler vardır ve bunların pek çoğunun toksik ve kansere yol açan maddeler olduğu bilinmektedir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Metaller çeşitli endüstrilerde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Madencilik, metal içeren ısıl işlemler, enerji-yakıt üretimi, gübre-pestisit endüstrisi, metalurji, demir ve çelik endüstrisi, elektroliz yoluyla kaplama, elektroliz, elektroozmoz, deri işçiliğı, fotoğrafçılık, elektrikli cihaz imalatı, metal-yüzey işlemleri, roket ve atomik enerji tesisi vb. çeşitli endüstriler tarafından farklı ağır metalleri içeren atıklar üretilmekte ve çevreye dağılmaktadır (Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Wang ve Chen, 2009).

Belirli çevre koşulları altında, metaller toksik düzeylerde birikebilir ve ekolojik zarara neden olabilir. Civa, kurşun, kadmiyum ve krom(VI) toksik olarak kabul edilir. Bakır, nikel, kobalt ve çinko gibi metaller toksik değildir fakat çevrede aşırı kullanılmaları durumunda ve yüksek derişimlerde ciddi sorunlara neden olurlar. Yüksek toksisite ve radyoaktiviteye sahip olan uranyum gibi radyoaktif elementler düşük derişimlerde bile ciddi bir tehdit oluştururlar. Çoğu gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde endüstriyel işlemlerden deşarj olan kirleticiler ile ilgili olarak daha

katı çevre yönetmelikleri uygulanmaya başlanmıştır (Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Wang ve Chen, 2009).

Zenginleştirme, analizlenecek eser elementin veya bileşiğin oranının, bulunduğu ortamdaki miktarına göre artırılması işlemine denilmektedir. Buharlaştırma, sıvı-sıvı ekstraksiyonu (Antheimidis vd., 2004; Amorim ve Ferreira, 2005), seçimli çözme (Hughes ve Hannaker, 1978), çöktürme ve birlikte çöktürme (Chen vd., 1997; Prasad vd., 2006), elektrokimyasal biriktirme ve çöktürme (Komarek ve Holy, 1999; Knappek vd., 2005), iyon değiştirme kromatografisi, sıvı kromatografi, flotasyon, bulutlanma noktası ekstraksiyonu (Bezerra vd., 2005; Coelho ve Arruda, 2005), katı faz ekstraksiyonu (Soylak vd., 2002; İmamoğlu ve Aydın, 2005) vb. yöntemler eser analizlerde kullanılan zenginleştirme yöntemlerindedir.

Biyolojik materyallerden bakteriler, algler, mayalar ve mantarlar, iyi performansa sahip olmaları, düşük maliyetleri ve büyük miktarlarda kullanıma hazır olmaları nedenleriyle ağır metal uzaklaştırması ve geri kazanımı için son yıllarda artan bir ilgi görmektedir. Biyosoğurum mekanizmaları, ölü biyokütlelerin kullanımına dayanırken, biyoakümülyasyon yaşayan hücreler ilgili bir terim olarak tanımlanmaktadır. Biyosoğurum, sulu çözeltiden biyokütleyle pasif bağlanma yolu ile ağır metallerin uzaklaştırılmasını tanımlayan bir terimdir. Bağlanma hücre duvarında meydana gelen iyon değişimi, adsorpsiyon, kompleks oluşumu, mikro çökme veya kristallenme işlemlerinden bir veya birkaçına dayanmaktadır (Godlewska-Żyłkiewicz, 2006; Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Wang ve Chen, 2009).

Hem serbest hem de immobilize mikroorganizmalar hem kesikli ve hem de kolon işlemlerinde kullanılmaktadır. Sepiolit, silika jel, hidrofilik poliüretan köpük ve sentetik reçineler destek materyali olarak kullanılmaktadır. İmmobilize hücreler daha iyi mekanik özellikler (dayanıklılık, kararlılık ve gözeneklilik) gösterir ve serbest süspanse olmuş hücreler ile karşılaştırıldığında daha az şişme gösterir (Bağ vd., 2000a; Carrilho vd., 2003; Godlewska-Żyłkiewicz, 2003; Dziwulska, 2004; Alhakawati ve Banks, 2004; Baytak ve Türker, 2005a; Baytak vd., 2005; Tüzen vd., 2005; Godlewska-Żyłkiewicz, 2006).

Silika jel, şişmediği veya deformasyona uğramadığı için iyi bir mekanik dayanıklılığa sahiptir ve ısı işlemlerine karşı dayanıklıdır. Silika jel, yüzeye dağılmış iç siloksan (Si-O-Si) ve silanol (Si-OH) gruplarından oluşan amorf

inorganik bir polimerdir. Silanol grupları, iyonik türlerin bağlanması ve ekstraksiyonu için düşük etkileşime sebep olan zayıf bir iyon değiştirici olarak bilinir (Camel, 2003; Zouab vd., 2009).

### **1.1. Eser Analizde Zenginleştirmenin Önemi ve Zenginleştirme Yöntemleri**

“Eser element” teriminin kesin bir tanımı yoktur. Bu konuda bir kavram kargaşası vardır. Jeokimyada yer kabuğunun % 0.1’inden daha az miktarda bulunan kimyasal elementler için kullanılmaktadır. Biyoloji bilimlerinde de eser element terimi benzer derişimler için kullanılmaktadır. Bu nedenle biyolojik materyallerde eser olan bazı elementler, jeokimyada eser olmayabilir (örneğin demir). “Eser element” terimi elementlerin çeşitli kimyasal özelliklerini de kapsamaktadır. Eser düzeydeki katyonlara genellikle “eser metallere” veya “ağır metallere” denilmektedir. Eser metalloidlere, “eser elementler” denilmektedir. “Mikro besin maddeleri”, “esansiyel elementler” ve “toksik elementler” gibi diğer terimler maddelerin fizyolojik fonksiyonları ile ilişkilidir. Bu terimlerin tümü yetersizdir ve bu terimlerin literatürde özensiz kullanılmaları nedeniyle büyük bir karışıklık ortaya çıkmaktadır. Bu terim IUPAC gibi herhangi bir otorite tarafından şu ana kadar tanımlanmamıştır (Kabata-Pendias ve Mukherjee, 2007).

“Eser elementler” literatürde, jeolojik, biyolojik, çevresel ve endüstriyel materyallerde  $\mu\text{g/g}$  (ppm),  $\text{ng/g}$  (ppb) ve  $\text{pg/g}$  (ppt) düzeylerinde bulunan elementler olarak tanımlanmaktadır. Pek çok modern enstrümantal analiz teknikleri (atomik, elektrokimyasal vb.) eser elementlerin tayini ve dedeksiyonu için kullanılmaktadır. Bu tekniklerin birçoğunun yüksek hassasiyet ve seçiciliğe sahip olmasıyla birlikte gerçek örneklere doğrudan uygulanmaları;

- Analizi istenen eser elementlerin derişimleri çok düşük olduğunda,
- Örnekte girişim yapan kimyasal maddeler bulunduğunda,
- Örnek, oldukça toksik ve radyoaktif olduğunda,
- Analizi istenen eser elementler örnekte homojen bir şekilde dağılmadığında,
- Uygun kalibrasyon standartları mevcut olmadığında,



- Örneğin fiziksel ve kimyasal özellikleri doğrudan tayine uygun olmadığı durumlarda,
- Analizi istenen eser elementin kimyasal türlemesi istenildiğinde,

mümkün değildir, zordur veya sakıncalıdır (Mizuike, 1986).

İnorganik eser analizde analizi istenen eser elementlerin zenginleştirilmesi, gözlenebilirlik sınırını düşürmek, analitik sonuçların doğruluğunu ve kesinliğini geliştirmek ve tayin tekniklerinin uygulama alanını genişletmek için tayin öncesi gereklidir. Yüksek seçicilik ve hassasiyete sahip birçok analitik teknik bulunmasına rağmen örnek içindeki analitin çok düşük derişimlerde bulunması nedeniyle çoğu kez bir zenginleştirme işlemi gerekli olmaktadır. Bazen de ortamda bulunan bazı bileşenler analite zarar verdiğiinden mutlaka ayırma işleminin uygulanması gerekebilir (Mizuike, 1986; Camel, 2003).

Eser analizlerde, eser bileşenleri zenginleştirmek için uçuculaştırma, sıvı-sıvı ekstraksiyonu, seçimli çözme, birlikte çöktürme, elektrokimyasal biriktirme, sıvı kromatografi, flotasyon, katı faz ekstraksiyonu vb. yöntemler günümüzde kullanılan yöntemlerdir.

#### **1.1.1. Uçuculaştırma**

Bu yöntem, kolay uçucu olan veya kolayca uçucu bileşiklerine dönüştürülebilen elementlere uygulanır. İnorganik eser analizde metallerin uçuculaştırma ile zenginleştirilmeleri yaygın değildir. Ancak, matriks ile tayini yapılacak eser element arasında uçuculuk farkı büyük olduğunda uygulamanın başarılı olma olasılığı yüksektir.

#### **1.1.2. Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu**

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, sıvı örnekler için hala en yaygın ekstraksiyon tekniklerinden biridir. İşlemin kolaylığı ile birlikte, bu tekniğin dezavantajı spesifik olmamasıdır. Çok fazla miktarda organik çözücü kullanılır, birkaç adım gerektirir, zaman alıcıdır ve otomasyonu zordur. Son yıllarda geliştirilen yöntemler organik çözücülerin kullanımını azalttığından yeni teknikler bu tekniğin yerini almaktadır (Lanças, 2003).

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu yönteminde birbiriyle karışmayan iki sıvı vardır. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu uygulamalarında bir faz genellikle su fazı iken diğer faz organik çözücülerdir. Bu yöntem eser analizde, basit bir yöntem olmasının yanında yaygın olarak kullanılması ve hızlı uygulanabilen bir yöntem olması nedeniyle önemli bir zenginleştirme tekniğidir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu yönteminde ya ana bileşenler ortamdaki uzaklaştırılırken eser elementler sulu fazda bırakılır veya sulu fazdaki eser elementler şelatları veya iyonik kompleksleri şeklinde organik faza alınır.

Analitin iki faz arasında dağılması, dağılım katsayısı ile ifade edilir.

$$K_D = [X]_B / [X]_A$$

Burada  $K_D$  dağılım katsayısını,  $[X]_B$  B fazında çözünen maddenin derişimini ve  $[X]_A$  A fazında çözünen maddenin derişimini göstermektedir (Mizuike, 1983; Mitra, 2003).

### 1.1.3. Flotasyon

Flotasyon yöntemi, çözeltide bulunan iyonların hidrofilik ve hidrofobik özelliklerini kullanarak çözelti içerisinde kabarcık oluşturularak suda yüzmesi veya batması ile diğer bileşenlerden ayrılmasını sağlayan bir zenginleştirme yöntemidir. Flotasyon yöntemi, özellikle sanayide metallerin zenginleştirilmesi işlemlerinde kullanılmaktadır. Genelde sülfürlü cevherlerin ayrıştırılmasında kullanılır. Flotasyon yöntemi ile özellikle bakır, kurşun ve çinko cevherleri zenginleştirilmektedir. Madencilik sektöründe önemli bir zenginleştirme yöntemidir.

### 1.1.4. Birlikte Çöktürme

Bu yöntemde büyük yüzey alanına sahip olan organik ve inorganik karakterli çökelek oluşturularak, eser elementlerin bu çökeleklerin üzerinde adsorplanmaları sağlanır. Çöktürme yönteminde, eser bileşenler tek başına ayrılabilirdiği gibi ana bileşenler de ayrılabilir. Ortamın pH'sı denetlenerek seçicilik sağlanır.

Eser elementlerin birlikte çöktürme ile nitel olarak ayrılmasında, kolektör adı verilen taşıyıcılar kullanılır. Örnek çözeltisine, yeterli miktarda çökelek oluşmasını sağlayacak kadar taşıyıcı ilave edilir. Bu çökeleğin oluşumu sırasında eser elementler çökelek üzerinde adsorplanırlar.

Taşıyıcının adsorplayıcı özelliğinden yararlanılarak eser metal iyonlarının hem ortam bileşenlerinden ayrılması, hem de zenginleştirilmesi sağlanır. Çöktürme işleminden sonra süzme işlemi ile çökelek çözeltiden ayrılır (Kartal, 2004).

#### **1.1.5. Elektrokimyasal Biriktirme**

Elektrolitik biriktirme olarak da adlandırılan bu yöntem, çeşitli çözeltilerden eser miktardaki ağır metallerin ayrılması için uygun bir yöntemdir. Bu yöntem, eser miktardaki ağır metallerin katı bir çalışma elektrodu üzerinde elektrolizle birikip sonra küçük bir hacim içerisine sıyırılması esasına dayanır. Elementin elektrolitik biriktirilmesine etki eden faktörler:

- Örneğin bileşimi,
- Elektrot türü ve şekli,
- Elektroliz hücresi ve elektroliz hücresinin şeklindedir.

Katı elektrotlarla veya elektrot olarak Hg kullanılarak çözeltideki pek çok element uygun koşullar altında elektrotlar üzerinde toplanabilir. Örneğin;

Ag, Au, Bi, Cd, Co, Fe, Ni, Pd, Pb, Sb, Sn, Te ve Zn platin katotta metaller halinde,

Co, Mn, Ni, Pb ve Tl platin anotta oksitleri halinde,

Cl, Br, I ve S ise gümüş anotta halojenür veya sülfürleri halinde elektrolitik olarak toplanır.

Elektrot üzerinde toplanan metaller, zıt yönde bir potansiyel taraması ile elektrot yüzeyinden sıyırılarak tayin edilebilir. Elektrot üzerinde toplanan metallerin mineral asitlerle çözülerek tayini de mümkündür (Mizuike, 1983).

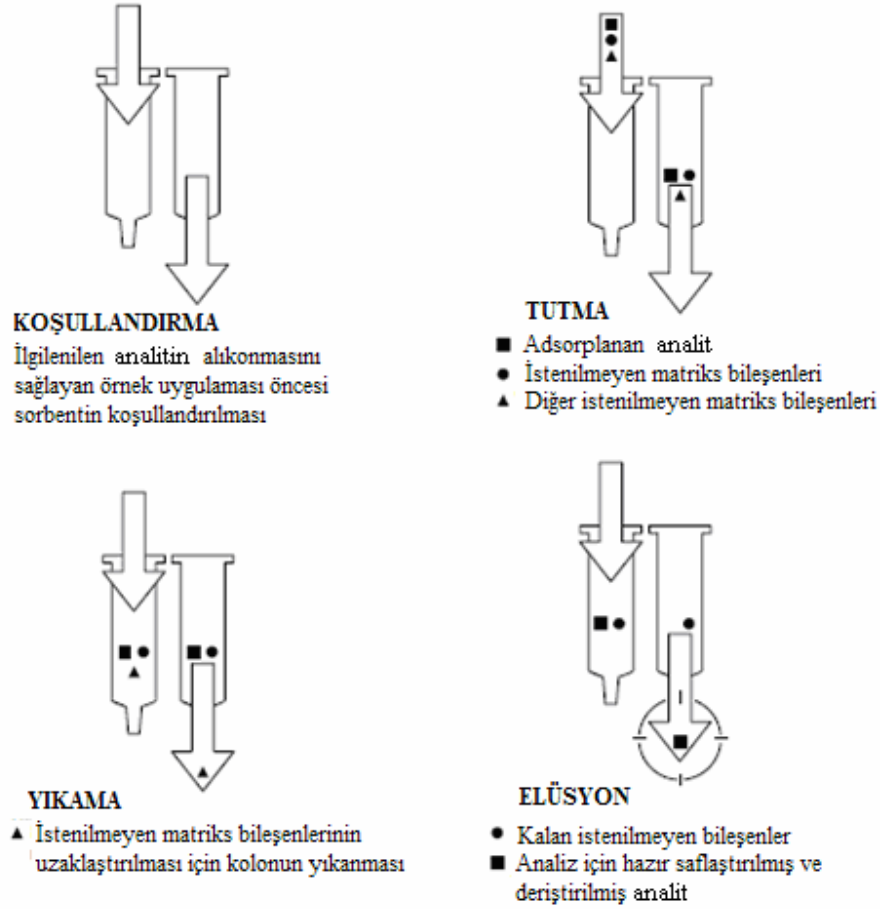
#### **1.1.6. Katı Faz Ekstraksiyonu**

Atomik absorpsiyon spektrometri, ICP-OES gibi analitik tekniklerin seçicilik ve hassasiyetine rağmen çok sayıda örnekte (özellikle su örneklerinde) düşük derişimlerde olmaları nedeniyle analiz öncesi eser elementlerin zenginleştirilmesi sıkça kullanılmaktadır. Katı faz ekstraksiyonu çok sayıda önemli avantajlar sunan

bir yöntemdir. Katı faz ekstraksiyonu, çözünenin kullanımı, atık maliyetlerini ve örnek hazırlama için gerekli ekstraksiyon zamanını azaltır. Son yıllarda katı faz ekstraksiyonu özellikle su örneklerinde metal iyonlarının ayırma ve hassas tayinleri için başarılı bir şekilde kullanılmaktadır.

Katı faz ekstraksiyonunun prensibi, çözünenin iki faz arasında dağılmasına dayanan sıvı-sıvı ekstraksiyonuna benzer. Bununla birlikte sıvı-sıvı ekstraksiyonundaki gibi çözünenin birbirine karışmayan iki sıvı yerine, bir sıvı (örnek matrisi) ve bir katı faz (sorbent) arasında dağılmasına dayanır. Bu teknik, katı sorbent üzerine soğurum ile çözünenin analitlerin zenginleştirilmesini ve saflaştırılmasını sağlar. Temel yaklaşım, analitleri tutan bir adsorbantı içeren kolon, kartuş, tüp veya disk içinden sıvı örneğin geçirilmesine dayanır. Numunenin tümü sorbent içinden geçirildikten sonra tutulan analitler uygun bir çözünen ile geri kazanılır. Katı faz ekstraksiyonunun ilk deneysel uygulamaları yaklaşık 50 yıl önce başlamıştır. Bununla birlikte sıvı-sıvı ekstraksiyonu yöntemine alternatif bir yöntem olmaya 1970'lerin ortalarında başlamıştır.

Bir katı faz ekstraksiyonu metodu Şekil 1.1'de de gösterildiği gibi birbirini takip eden dört basamaktan oluşur. İlki, katı sorbentin uygun çözünen ile ıslatılması yani koşullandırılmasıdır. Dolgu materyalinin ıslatılmasını sağladığı için bu adım çok önemlidir. Ek olarak bu işlem dolgu veya sorbentte başlangıçta bulunabilecek muhtemel kirliliklerinin uzaklaştırılmasını sağlar. Koşullandırma ve örnek saflaştırma basamakları arasında katı sorbentin kurumasına izin verilmemelidir. Aksi halde analitler etkin bir şekilde tutulmayacak ve düşük geri kazanımlar elde edilecektir.



Şekil 1.1. Katı faz ekstraksiyonu için dört temel adım (Mitra, 2003)

Sorbent birkaç dakikadan fazla bir süre için kurutulursa tekrar koşullandırılmalıdır. İkinci adım katı sorbent içinden örneğin süzülmesidir. Örnek hacimleri 1 mL'den 1 L'ye kadar değişebilir. Örneğin kolondan geçirilmesi kendi doğal haliyle (yerçekimi ile) olabileceği gibi, bir pompa veya vakum sistemi yardımıyla da olabilir. Örnek akış hızı analitlerin etkin bir şekilde tutulmasını sağlayacak kadar düşük olmalı, ancak, aşırı beklemeyi önleyecek kadar da yüksek olmalıdır. Bu adım esnasında analitler sorbent üzerinde tutulur. Matriks bileşinlerinden bazıları katı sorbent tarafından tutulurken bazıları sorbentte tutulmadan geçer. Üçüncü basamakta katı sorbent düşük elüsyon şiddetine sahip uygun çözügen ile yıkanabilir (tercihe bağlıdır). Bu işlem katı sorbent ile

tutulabilecek matriks bileşenlerinden bazılarını uzaklaştırmak için, eğer analitler etkilenmiyor ise kullanılabilir. Son basamak, ilgilenilen analitlerin uygun çözen ile elue edilmesidir. Çözen hacminin, genellikle kantitatif geri kazanımları elde edecek yeterlilikte olması istenir.

Pek çok fonksiyonel grup atomları eser elementler ile şelat oluşturabilir. En sık kullanılan atomlar, azot (aminler, azot grupları, amidler, nitriller), oksijen (karboksil, hidroksil, fenol, eter, karbonil, fosforil grupları) ve sülfür (tiyol, tiyokarbamatlar, tiyoeterler)'dür. Fonksiyonel grubun türü eser elementlere karşı ligandın seçiciliği konusunda bir fikir verebilir.

İz elementlerin klasik sıvı-sıvı ekstraksiyonları genellikle zaman alıcıdır ve yoğun iş gücü gerektirir. Ek olarak sıcaklık, pH ve iyonik şiddet gibi ekstraksiyon koşullarının dikkatli bir şekilde kontrol edilmesi gerekir. Katı faz ekstraksiyonu tekniği, çözenlere maruz kalmayı ve çözenlerin tüketimini, atık maliyetlerini ve ekstraksiyon zamanını azalttığı için ilgi çekicidir. Zenginleştirme faktörlerini yükseltme ihtimali yanında yüksek geri kazanımlara ulaşılmasına olanak sağlar. Farklı örneklerden eser metallerin zenginleştirilmesi için uygulama, çözüldüklerinden daha kararlı bir kimyasal formda katı yüzeyinde hedef türlerin soğurumu nedeniyle oldukça yaygındır. Sonuç olarak, katı sorbentlerin çok geniş seçeneğinin olması nedeniyle katı faz ekstraksiyonu, sıvı-sıvı ekstraksiyonuna göre daha geniş bir uygulama aralığı sağlar. Bu sebeplerden dolayı katı faz ekstraksiyonu metodları çeşitli yöntemlerin yerini alma eğilimindedir.

Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, yüksek saflıktaki yüksek hacimli çözenlerin kullanımını gerektirir. Böylelikle düşük zenginleştirme faktörlerine ulaşılır. Katı faz ekstraksiyonunun kullanımı ise eş zamanlı olarak eser elementlerin zenginleştirilmesini ve girişimlerin uzaklaştırılmasını da sağlar. Kirlenmeye neden olabilen ve oldukça toksik olan organik çözenlerin kullanımını azaltır. Örnek hacminden daha küçük hacimlerde tutulan bileşiklerin elüsyonu ile ekstraktın zenginleştirilmesi kolaylıkla sağlanabilir (Camel, 2003).

#### **1.1.6.1. Geri kazanım**

Bilinen miktarda analit eklenen örneklerin geri kazanımı, katı fazdan elue edilen analit miktarının ölçülmesi ile hesaplanır. Alıkonma ve elüsyon, katı faz ekstraksiyonu metodunun iki aşamasıdır. Bununla beraber ölçülen değer, soğurum

ve elüsyon basamaklarında elde edilen geri kazanımların her ikisini de kapsamaktadır.

Geri kazanım = soğurum verimi x desorpsiyon verimi

Eğer soğurum % 50 verimle fakat desorpsiyon %100 verimle gerçekleşti ise ölçülen geri kazanım % 50'dir. Elde edilen geri kazanım soğurum ve desorpsiyon veriminin bir bileşimidir. Bu yüzden metot geliştirme, hem desorpsiyon kontrol edilirken soğurumun optimize edilmesini, hem de soğurum kontrol edilirken desorpsiyonun kontrol edilmesini gerektirir. Alternatif olarak, istatistiksel faktöriyel tasarım katı faz ekstraksiyonu için önemli değişkenlerin kısa sürede optimize edilmesi ve tayin edilmesi için kullanılabilir. İki yaklaşımdan biri kullanılarak örnek pH'ı, örnek hacmi ve katı faz kütlesi gibi alıkonmayı etkileyen önemli faktörlerin ele alınması önemlidir (Mitra, 2003).

Geri kazanım veya geri kazanım faktörü (R) terimleri, analitik metottaki ekstraksiyon adımı veya zenginleştirmede, analitin ortamdan ayrılma verimini göstermek için kullanılmaktadır.

$$R_A = \frac{Q_A(\text{verim})}{Q_A(\text{orijinal})}$$

Burada  $Q_A$  (orijinal), orijinal örnekteki analit miktarıdır ve  $Q_A$  (verim) ise A analitinin geri kazanılan miktarıdır.

Eğer geri kazanım  $R_A$ , bir standart katma veya spike işlemi kullanılarak ölçülüyor ise

$$R_A = \frac{Q_A(O+S) - Q_A(O)}{Q_A(S)}$$

şeklinde ifade edilir. Burada  $Q_A(S)$ , eklenen A analitinin miktarıdır ve  $Q_A(O+S)$ , spike örneğinden zenginleştirilen A analitinin miktarıdır.  $Q_A(O)$ , orijinal örnekten gelen A analitinin miktarıdır. Spike testindeki analit derişimi, yeterince yani seyrelme ile bozulmayı azaltacak kadar yüksek olmalı (Burns vd., 2002).

## 1.2. Zenginleştirilen Metallerin Genel Özellikleri

### 1.2.1. Bakır

Bakır, periyodik tabloda IB grubunda bulunmaktadır. Yoğunluğu 20 °C'de 8.96 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 1083 °C'dir. Bakır doğada daha çok bileşikleri halinde ve az da olsa metalik halde bulunur. En çok bulunan mineralleri oksit, karbonat ve sülfür mineralleridir.

En iyi metalik iletkenliğe sahip olduğu için, sanayide elektrik kablolarının ve tellerinin, elektrik cihazlarının yapımında kullanılır. Çok iyi ısı iletkenliğinden dolayı da kazan gibi malzemelerin yapımında yararlanır.

İnsan vücudunda yaklaşık olarak 100–150 mg kadar bakır bulunur. Bunun %10'u karaciğer ve beyinde, geri kalanı ise kandadır. Bakır birçok enzimin fonksiyonunu ve kalp çalışmasını düzenler. Vücudun günlük bakır ihtiyacı 1.5–3 mg arasında değişir. Bakır eksikliğinde demir eksikliğinde görülen benzer durumlar oluşur. Halsizlik, solukluk ve ödem oluşur. Bakır fazlalığı, bakır eksikliğine göre daha fazla gözlenen bir durumdur. Bakırın vücutta fazla birikmesi ruhsal sorunlar, hafıza eksikliği, iştahsızlık, şizofreni, eklem ve adale ağrıları gibi sorunlara neden olabilmektedir. Çok yüksek düzeyde alınan bakır ise kronik ve akut zehirlenmeye neden olabilir. Bakır fazlalığı, depolanmış suların kullanılması ve bakır kaplarda yemek pişirilmesi sonucunda kolayca oluşmaktadır (Botes, 2003; Tezcan ve Tezcan, 2007).

### 1.2.2. Çinko

Çinko periyodik tabloda IIB grubunda bulunmaktadır. Yoğunluğu 20 °C'de 7.14 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 419 °C'dir. Çinko mineralleri doğada genellikle kurşun mineralleri ile birlikte bulunur. Yer kabuğunun % 0.013'ünün çinko olduğu tahmin edilmektedir.

Çinko temel olarak, demir ve çelik malzemelerin korozyona karşı koruyucu kaplamalarında (galvanizleme), boya ve ilaç sanayisinde, pillerde, çinko alaşım dökümlerinde, anahtar, kapı kolu gibi malzemelerin yapımında kullanılmaktadır.

Çinko insan sağlığı için çok önemli bir elementtir. Kırmızı kan hücrelerinde bulunur. Pankreasta bulunan çinko insülin depolanmasına yardım eder. Çinkoya



olan günlük ihtiyacımız yaklaşık 15 mg kadardır. Çinko günlük ihtiyacın altında alındığı zaman, çocuklarda öğrenme yeteneğinin sınırlı olması, saç dökülmesi, tat almama gibi bazı rahatsızlıklara neden olmaktadır (Botes, 2003; Tezcan ve Tezcan, 2007).

### 1.2.3. Kadmiyum

Kadmiyum, yumuşak ve elektropozitif bir metaldir. Periyodik tablonun IIB Grubu üyesidir. Metalin yoğunluğu 20 °C'de 8.6 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 320.9 °C'dir. Kadmiyum çevrede bol bulunmaz. Genellikle çinko içeren cevherler ile birlikte bulunur. Çinko mineralleri ile birlikte kadmiyum karbonat ve kadmiyum sülfür şeklinde bulunur.

Kadmiyum, Ni-Cd pillerinin üretiminde kullanılmaktadır. Ayrıca fotoğrafçılıkta, galvanoplastide, pamuk boyamacılığında, cam ve porselen sanayisinde, floresans ekranlarda, tıbbi antiseptiklerde, boyalarda, renkli sabunlarda, tekstilde, seramiklerde ve matbaa mürekkebi yapımında kullanılmaktadır.

Kadmiyum oldukça zehirli bir maddedir. Kadmiyum partikülleri yere veya suya düşmeden havada çok uzun mesafeler alabilirler. Özellikle insan sağlığı için çok tehlikelidir. Düşük düzeyde alınsa bile vücutta birikebilir. Kadmiyum, havadan solunarak, sigara dumanından ve kadmiyumla kirlenmiş suların içilmesiyle vücuda alınır. Hayvanlar ile yapılan deneylerde kadmiyum, tansiyon yükselmesine, kandaki demir düzeyinin düşmesine, karaciğer hastalıklarına, sinir sistemi ve beyin hastalıklarına neden olmaktadır. Hayvan deneylerinde kadmiyumun kansere neden olduğu tespit edilmiştir (Botes, 2003; Tezcan ve Tezcan, 2007).

### 1.2.4. Kobalt

Kobalt, periyodik tablonun VIIIB grubunda yer alır. Yoğunluğu 20 °C'de 8.9 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 1495 °C'dir. Ferromanyetik bir metal olan kobalt, özellikle ısıya dayanıklı manyetik alanlarda kullanılır. Kobalt bileşikleri yüzyıllardan beri, sırlara ve seramiklere mavi renk kazandırmakta kullanılmıştır. Kobalt doğada yaygın bulunmakla birlikte, yer kabuğunun yalnızca % 0.001'ini oluşturmaktadır. Kobalt, genellikle bileşiklerinde +2 ya da +3 değerlidir, fakat +4, +1, 0 ve -1 değerli olduğu bileşikler de vardır.

Kobalt, korozyona dayanıklı çeliklerde, dişçilikte protez yapılmasında, elektrik direnç tellerinde, boyaların ve emayelerin yapılmasında, elektrolitik kaplamada kullanılmaktadır.

Kobalt, antianemik karaciğer faktörü olan B12 vitamininin bileşimine katılır. Çok düşük derişimlerde alınan kobaltın, insan ve hayvan sağlığı üzerine olumsuz etkisi yoktur. Bununla beraber yüksek derişimlerde sindirim sistemindeki bölgesel tahribatı nedeniyle kusma ve mide bulantısına neden olabilir. Diğer bilinen olumsuz etkileri, pankreasa, böbreğe ve kalbedir. Kobalt ayrıca mutajen ve kanserojen etkiye sahiptir (Botes, 2003; Tezcan ve Tezcan, 2007).

### **1.2.5. Kurşun**

Kurşun periyodik tablonun IVA grubunda yer almaktadır. Yoğunluğu 20 °C'de 11.34 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 327.4 °C'dir. Kurşun, yumuşak, mavimsi beyaz bir metaldir. En önemli kurşun minerali galendir.

Kurşun, boru yapımında, akü yapımında, mermi yapımında, telefon, telgraf ve elektrik kablolarının kaplanmasında, radyasyona karşı koruyucu olarak, kristal cam imalatında, lens üretiminde kullanılmaktadır.

Kurşun buharları ve bütün kurşun bileşikleri zehirlidir. Vücuda alınan kurşun dışarıya atılmaz, vücutta birikir. Kurşun ve kurşun bileşikleri ile çalışanlarda zehirlenmeler sıkça görülür. Bu nedenle, gıdaların hazırlanmasında ve ambalajlanmasında kurşun kapların kullanılması yasaktır (Botes, 2003; Tezcan ve Tezcan, 2007).

### **1.2.6. Nikel**

Nikel periyodik tabloda VIIIB grubunda bulunmaktadır. Yoğunluğu 20 °C'de 8.9 g/cm<sup>3</sup> ve erime noktası 1453 °C'dir. Nikel, doğada bileşikleri halinde bulunur.

Nikelin +2 değerlikli hali en fazla gözlenen formudur. Nikel, asitlere, bazlara ve diğer oksitleyici maddelere karşı dirençlidir. Metal parlaklığını atmosfer korozyonu altında bile göstermesi nedeniyle geniş bir kullanım alanına sahiptir. Çelik, bakır ve alüminyumdan yapılmış alaşımların elektrolitik kaplanmasında kullanılır. Kadmiyum pillerinde ve elektronik sanayisinde, paslanmaz çelikte,

aşınmaya dirençli alaşımların yapımında, cama yeşil renk vermekte, otomobil aksamlarının yapımında çokça kullanılan bir metaldir.

Nikel, insanlar, hayvanlar ve bitkiler için toksik etkiye sahiptir. Ayrıca nikelin kanserojen özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (Botes, 2003; Tezcan ve Tezcan, 2007).

### **1.3. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri ve Ağır Metal Biyosoğurumunda Mikroorganizmalar**

#### **1.3.1. Mikroorganizmaların Genel Özellikleri**

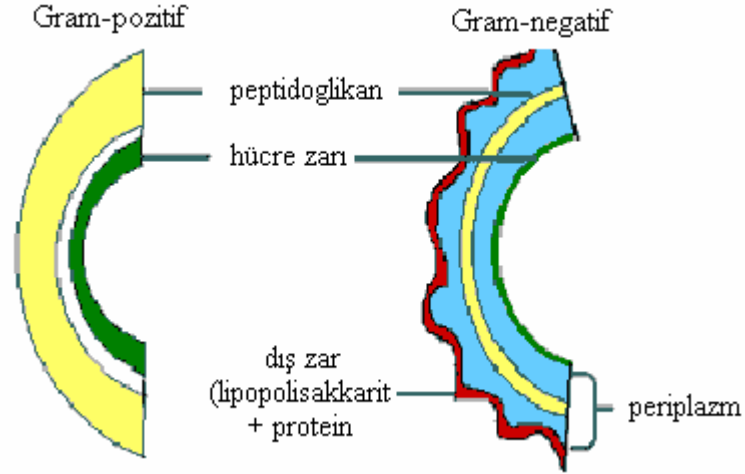
Biyosoğurum mekanizmasını anlamak için mikroorganizmaların temel yapısını bilmek gerekir. Mikrobiyal hücreler temelde prokaryotik ve ökaryotik olmak üzere iki farklı hücre yapısına sahiptir. Prokaryotik hücreler, ökaryotik hücrelere göre daha basit ve daha küçük yapıdadırlar. Genel olarak, bir plazma membranı olmasına rağmen, geniş, karmaşık, iç membran sistemlerine sahip değildir. Tersine, ökaryotik hücre bir membran ile çevrelenmiş çekirdeğe ve pek çok membran organellerine sahiptir. Ökaryotik hücreler, prokaryotlara göre morfolojik açıdan daha karmaşık ve genellikle daha büyüktür. Algler, mantarlar, tek hücreliler, yüksek bitkiler ve hayvanlar, ökaryotiktir. Bakteriler ve arkeler, prokaryotlar olarak bilinmektedir (Wang ve Chen, 2009).

#### **1.3.2. Bakterilerin Hücre Duvarı Bileşenleri**

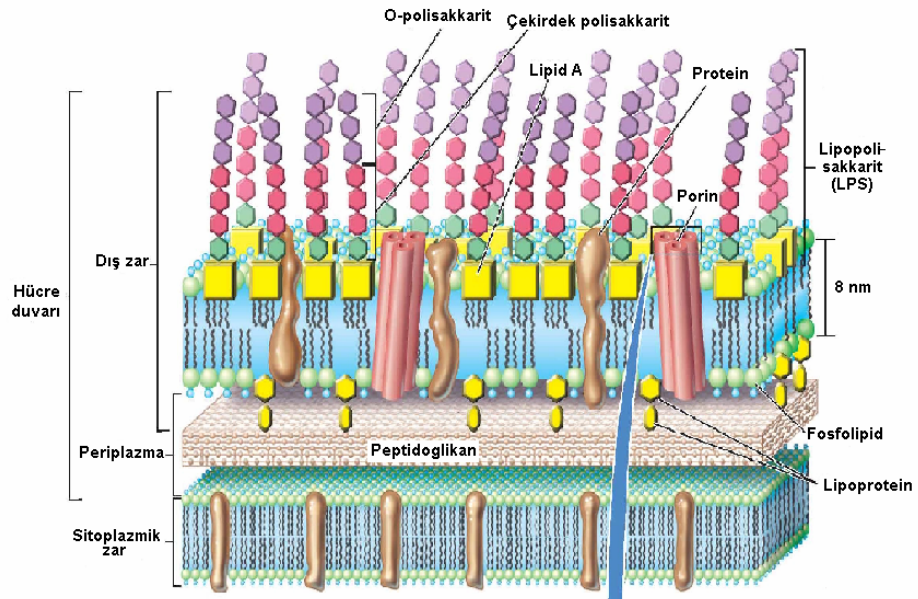
Tüm bakterilerin hücre duvarı aynı değildir. Aslında hücre duvarı bileşimi bakteri türlerinin ayırt edilmesinde ve analizinde en önemli faktörlerden biridir. Bakteriler, **Gram-negatif** ve **Gram-pozitif** olmak üzere iki temel gruba ayrılır. Bu iki grup arasındaki temel fark Gram-boyamaya dayandırılmıştır. Gram-boyama tepkimesinin temeli hücre duvarı yapısındaki farklılığa dayanır. Gram-negatif hücre duvarı çok tabakalı ve karmaşık iken, Gram-pozitif hücre duvarı esas olarak tek tip bir molekülden oluşur ve genellikle çok daha kalındır (Şekil 1.2).

Bakterideki hücre duvarı sert bir tabaka içerir. Bu tabaka duvarın güçlü olmasından birinci derecede sorumludur. Gram-negatif bakteride bu sert tabakanın dışında bazı ek tabakalar daha vardır. Peptidoglikan adı verilen bu polisakkarit N-asetil-glukozamin ve N-asetilmuramik asit olmak üzere iki tip şeker türevidir ve az sayıda özgül amino asit içerir. Bu amino asitler L-alanin, D-alanin, D-glutamik

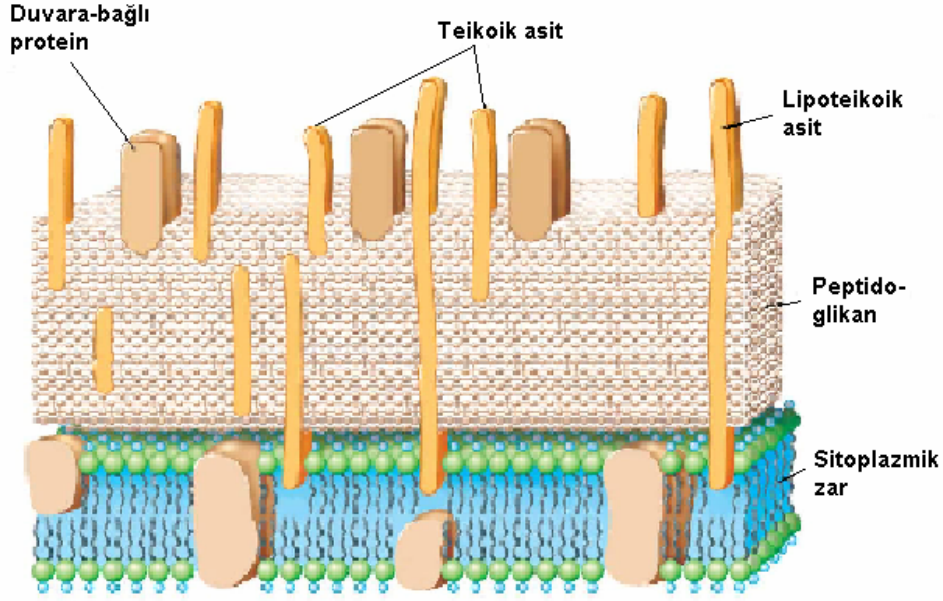
asit veya lizin ya da diaminopimelik asittir. Bu bileşenler tekrarlanan bir yapı olan glikan tetrapeptidi oluşturacak şekilde birleşirler. Gram-pozitif bakteride hücre duvarının % 90'ı peptidoglikandan oluşur. Gram-pozitif bakteriler amino asit köprüleri ile bağlanmış kalın bir peptidoglikan tabakasından oluşur. Gram-pozitif bakteride peptidoglikan üst üste yığılmış yaklaşık 25 tabaka içerir. Çapraz bağlı peptidoglikan molekülleri bir ağ şeklindedir ve bir kafes gibi hücreyi kaplarlar. Teikoik asit monomerlerinin arasında fosfodiester bağlarının bulunması nedeniyle, teikoik asitler Gram-pozitif hücre duvarının tamamına negatif yük sağlar. Gram negatif bakteride duvarın yaklaşık % 10'u peptidoglikan, geri kalan büyük kısmı ise dış zar yapısındadır. Buna ek olarak hücre duvarı, fosfolipidler ve lipopolisakkaritlerden oluşan ek bir dış membran içerir. Gram-negatif hücre duvarı üzerindeki negatif yükün tamamı lipopolisakkaritlerden kaynaklanır (Şekil 1.3). Gram-pozitif bakterilerin birçoğu, hücre duvarına gömülü halde asidik bileşikler içerir ve bunlar teikoik asitler olarak adlandırılır. Teikoik asitler ve Gram-pozitif hücre duvarının genel yapısı Şekil 1.4'de verilmektedir. Teikoik asit terimi, gliserofosfat ya da ribitol fosfat kökleri içeren, duvar, zar ve kapsül polimerlerinin tümünü kapsar. Teikoik asitler negatif yüklü oldukları için, hücre yüzeyinin negatif elektrik yükünden sorumludurlar. Teikoik asitler, kovalent olarak zar lipidlerine bağlandıklarında lipoteikoik asitler adını almaktadırlar. Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı, peptidoglikanları, teikoik asitleri ve teikuronik asitleri içerirken, Gram-negatif bakterilerin hücre duvarı, peptidoglikanları, fosfolipidleri ve lipopolisakkaritleri içerir. Bu anyonik fonksiyonel gruplar hücre duvarının anyonik karakterinin ve metal bağlama yeteneğinin birincil derecede sorumlusudur (Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Madigan ve Martinko, 2010).



Şekil 1.2. Gram-pozitif ve gram-negatif hücre duvarlarının şematik çizimleri (<http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bilgipaket/canlilar/monera/poznegfark.htm>)



Şekil 1.3. Gram-negatif hücre duvarının genel yapısı (Madigan ve Martinko, 2010)



Şekil 1.4. Teikoik asitler ve Gram-pozitif hücre duvarının genel yapısı  
(Madigan ve Martinko, 2010)

### 1.3.3. Termofilik Prokaryotlar

Termofilik yaşam, suyun kaynama sıcaklığına kadar olan ve hatta kaynama sıcaklığını da içine alan yüksek sıcaklıktaki ortamlarda varlığını sürdürür. Yaklaşık 65 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda sadece prokaryotik yaşam türleri bulunur. Optimum gelişme, sıcaklığı 45 °C'nin üzerinde olan organizmalar termofiller, 80 °C'nin üzerinde olanlar ise hipertermofiller olarak adlandırılır. Bu kadar yüksek sıcaklıklar doğada sadece belirli alanlarda bulunur. Doğadaki en geniş aşırı sıcak ortamlar volkanik olaylarla ilişkilidir. Sıcak su kaynağından çıkan su, kaynaktan uzağa doğru aktıkça derece derece soğur ve bir sıcaklık gradiyenti oluşur. Bu gradiyent boyunca farklı sıcaklık aralıklarında gelişen farklı mikroorganizma türleri yer alır. Termofilik prokaryotlar yapay sıcak ortamlarda da bulunurlar. Elektrik santralleri, endüstriyel sıcak su deşarjları ve diğer yapay sıcaklık kaynakları termofillerin gelişebildiği ortamları oluştururlar (Madigan ve Martinko, 2010).

#### 1.3.4. Ağır Metal Biyosoğurumunda Mikroorganizmalar

Biyolojik materyaller özellikle bakteriler, algler, mayalar ve mantarlar, iyi birer performansa sahip olmaları, düşük maliyetli ve büyük miktarlarda kullanıma hazır olmaları nedeniyle ağır metal uzaklaştırması ve geri kazanımı için artan bir ilgi görmektedir. Biyokütle, tek fonksiyonel grup içeren iyon değiştirici reçinelerin tersine karboksil, imidazol, sülfidril, amino, fosfat, sülfat, tiyoeter, fenol, karbonil, amid ve hidroksil gruplarını kapsayan çeşitli bölgeler içerir. Fonksiyonel grupların çokluğu, metalik elementlerin özellikle ağır metallerin sulu çözümlerinden uzaklaştırılması ve zenginleştirilmesinde avantaj sağlamaktadır (Madrid vd., 1996; Pérez-Corona vd., 1997; Madrid ve Cámara, 1997; Bağ vd., 1998; Vecchio vd., 1998; Zhu ve Li, 2001; Cabanero vd., 2002; Çabuk vd., 2006; Tuzen vd., 2008; Wang ve Chen, 2009).

Biyoakümülyasyon ve biyosoğurum metallerin uzaklaştırılması için yaygın metotların yerini almak için iyi bir potansiyele sahiptir. Biyokütle terimine dayanan biyoakümülyasyon ve biyosoğurum kullanımları bazı durumlarda karıştırılmaktadır. Bu noktada, biyosoğurum mekanizmaları, ölü biyokütlelerin kullanımına dayanırken, biyoakümülyasyon yaşayan hücreler ilgili bir terim olarak tanımlanır. Tam olarak biyoakümülyasyon canlı hücreler tarafından toksik maddelerin hücre içerisine alınması olarak tanımlanabilir. Toksik madde hücre içine taşınabilir, hücre içinde biriktirebilir, hücre membranına geçebilir ve hücre metabolik çevriminden geçebilir. Biyosoğurum, yaygın olarak ölü/aktif olmayan biyolojik materyaller ile veya biyolojik kaynaklardan üretilmiş materyaller ile toksik maddelerin pasif olarak alınması şeklinde tanımlanabilir. Biyoakümülyasyon ve biyosoğurum terimleri sırasıyla metabolizmaya bağlı işlem ve metabolizmadan bağımsız işlem olarak da adlandırılmaktadır. Biyosoğurum, biyoakümülyasyon işlemlerine göre doğasında var olan bazı avantajlara sahiptir. Bu avantajlar Çizelge 1.1'de listelenmektedir. Biyosoğurum, metabolizmadan bağımsız olarak hücre duvarında gerçekleşir. Tutma için söz konusu olabilecek mekanizmalar biyokütle türüne göre değişiklik göstermektedir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Maqulelra vd., 2004).

Çizelge 1.1. Mikroorganizmaların biyoakümülyasyon ve biyosoğurum özelliklerinin karşılaştırılması (Vijayaraghavan ve Yun, 2008)

Özellik	Biyosoğurum	Biyoakümülyasyon
Maliyet	Genellikle ucuzdur.	Genellikle yüksektir.
pH	Çözelti pH'ı biyokütle kapasitesini oldukça etkiler. Buna rağmen işlem geniş aralıktaki pH koşulları altında gerçekleştirilebilir.	Tutmaya ek olarak, canlı hücreler aşırı pH koşullarından oldukça etkilenir.
Sıcaklık	Biyokütle aktif değildir. Sıcaklık işlemi etkilemez. Bazı araştırmacılar sıcaklık artışı ile tutmanın arttığını bildirmiştir.	Sıcaklık, işlemi ciddi şekilde etkiler.
Koruma/saklama	Saklamak ve kullanmak kolaydır.	Dış metabolik enerji kültürün korunması için gereklidir.
Seçicilik	Zayıftır. Buna rağmen seçicilik biyokütlenin işlenmesi ve değiştirilmesi ile geliştirilebilir.	Biyosoğurumdan daha iyidir.
Çok yönlülük	Oldukça iyidir. Bağlanma bölgelerine çok sayıda iyon bağlanabilir.	Çok esnek değildir. Yüksek metal ve tuz koşullarından etkilenme eğilimindedir.
Tutma derecesi	Çok yüksektir. Bazı biyokütlelerin neredeyse kuru ağırlığı kadar kirlenici maddeyi tutabildiği bildirilmektedir.	Canlı hücrelerin yüksek kirlenici derişimlerine karşı hassas olması nedeniyle tutma genellikle düşüktür.
Tutma hızı	Oldukça hızlıdır. Çoğu biyosoğurum mekanizması hızlıdır.	Genellikle biyosoğurumdan yavaştır.
Toksik madde afinitesi	Uygun koşullar altında yüksektir.	Kirlenicinin toksisitesine bağlıdır.
Rejenerasyon ve tekrar kullanım	Biyosorbentin rejenerasyonu mümkündür ve çok sayıda döngüde yeniden kullanılması mümkündür.	Toksik kirlenicilerin çoğu hücre içinde biriktirildiği için dönüşümler oldukça sınırlanır.
Toksik madde geri kazanımı	Uygun eluentin seçilmesi ile toksik maddenin geri kazanımı mümkündür.	Mümkün olsa bile biyokütle, bir sonraki döngü için kullanılamaz.



Biyosorbentler, metaller ile kompleks yapıcı özelliğe sahiptir ve ppm'den ppb düzeylerine kadar çözültideki metal iyonlarını tutmak için kullanılabilirler. Bu biyosorbentler, seyreltik kompleks çözültülerden çözülmüş metal iyonlarını yüksek verimle ve hızlı bir şekilde ayırabilir. Böylelikle yüksek hacimdeki ve düşük derişimdeki karma atık suların arıtılması ve zenginleştirilmesi için ideal bir adaydır. Bazı canlı mikroorganizmaların metal elementlerini biriktirme yeteneği ilk olarak toksikolojik açıdan gözlenmiştir. Bununla beraber, sonraki araştırmalar ile aktif olmayan/ölü mikrobiyal biyokütlenin çeşitli fizikokimyasal mekanizmalar yoluyla metal iyonlarını pasif olarak bağlayabildiği ortaya çıkmıştır. Biyosoğurumdan sorumlu mekanizmalar sınırlı bir şekilde anlaşılmasına rağmen mekanizma, iyon değişimi, kompleks oluşumu, koordinasyon, adsorpsiyon, elektrostatik etkileşim, şelat oluşumu ve mikro çökeltmenin bir kombinasyonudur (Wang ve Chen, 2009).

Organik maddelerin ve metallerin uzaklaştırılması için çok sayıda madde biyosorbent olarak araştırılmıştır. Biyosorbentler temel olarak aşağıdaki kategorilerde sınıflandırılabilirler: bakteriler (örneğin *Bacillus subtilis*), mantarlar (örneğin *Rhizopus arrhizus*), mayalar (örneğin *Saccharomyces cerevisiae*), algler, endüstriyel atıklar (örneğin fermentasyon ve gıda endüstrisinden gelen *S. cerevisiae* atık biyokütlesi), zirai atıklar ve polisakkarit materyalleri vb. (Wang ve Chen, 2009).

Bakteriler, küçük boyutta olmaları, birçok yerde bulunabilmeleri, kontrol edilebilir koşullar altında çoğalma yetenekleri ve çok çeşitli çevresel koşullara karşı dirençliliği nedeniyle biyosorbent olarak tercih edilmektedir. *Bacillus* (Nakajima ve Tsuruta, 2004; Tunali vd., 2006), *Pseudomonas* (Chang vd., 1997; Uslu ve Tanyol, 2006), *Streptomyces* (Mameri vd., 1999; Selatnia vd., 2004), *Escherichia* (Pazirandeh vd., 1995; Chen ve Wilson, 1997), *Micrococcus* (Nakajima vd., 2001; Nakajima ve Tsuruta, 2004) gibi bakteri türleri ve *Aspergillus* (Kapoor ve Viraraghavan, 1997; Jianlong vd., 2001; Binupriya vd., 2006), *Rhizopus* (Bai ve Abraham, 2002; Park vd., 2005) ve *Penicillium* (Niu vd., 1993; Tan ve Cheng, 2003) gibi mantar türleri metallerin ve organik maddelerin tutulması için birçok çalışmada kullanıldı. Bazı mikroorganizmaların metalik elementleri tutma yeteneği ilk kez 1980'lerde kanıtlandı. Toksikolojik açıdan çok sayıda araştırma yayımlandı. Bu çalışmaların çoğu canlı hücrelerin aktif metabolizması sayesinde gerçekleşen tutma, mikrobiyal hücrenin metabolik aktiviteleri üzerine metalin etkileri ve besin zincirine tutmanın etkileri ile ilgilidir. Buna rağmen sonraki

araştırmalarda, aktif olmayan/ölü mikrobiyal biyokütlenin çeşitli fizikokimyasal mekanizmalar sayesinde metal iyonlarına pasif olarak bağlanabildiği ortaya konmuştur (Vijayaraghavan ve Yun, 2008; Wang ve Chen, 2009).

Metal tutma kapasitesinin uygulamada ille de maksimum değerlere ulaşarak bulunması gerekmez. Bazı tutma kapasiteleri deneysel tutma iken bazıları Langmuir modeli ile öngörölür. Bakteriler ya pek çok elementin biyosoğurumu için belirli bir kapasiteye sahiptir veya türe bağlı olarak elemente özgü olabilir. Hücre içi genetik modifikasyonlara dayanan recombinant DNA teknolojisinin kullanılması ile gelecekte mikroorganizmaların elemente özgü veya bir grup elemente özgü olması mümkün olabilecektir (Wang ve Chen, 2009).

Biyosoğurumun hem biyokütlenin kimyasal bileşimine veya tipine hem de dış fizikokimyasal faktörlere ve çözelti kimyasına bağlı olduğu araştırmacılar tarafından anlaşılmış ve açıklanmıştır. Birçok araştırmacı biyosoğurum için uygun mekanizmaları araştırmışlardır. Bu mekanizmalar, iyon değişimi, kompleks oluşumu, koordinasyon, adsorpsiyon, elektrostatik etkileşim, şelat oluşumu ve mikro çöktürmenin biri veya kombinasyonu şeklinde olabilir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Pek çok metal iyonu için maksimum biyosoğurum zayıf asidik pH'larda gözlenmektedir. Bu durum, çeşitli mekanizmalar yoluyla bağlanan metal katyonları için uygun olan karboksil gruplarına ve diğer asidik fonksiyonel gruplara bağlanma nedeniyledir. Ek olarak metal hidroksit ve diğer metal-ligand komplekslerinin oluşumu yüksek pH'da soğurulan metal iyonlarının miktarını önemli şekilde azaltır (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Biyosoğurum miktarı hem metal iyonunun türüne hem de hüresel bileşimlerindeki değişiklikler nedeniyle bakteri türüne bağlıdır. Biyokütle, toz şeklinde veya ıslak hücreler şeklinde kullanıldığında, metal iyonu ile bakteriyel biyokütle arasındaki dengeye çok kısa sürede ulaşılır.

Genellikle pH artışı ile fonksiyonel grupların tümü protonlarını kaybeder ve hücre yüzeyinin tamamında negatif yük artar. Bu durum katyonların adsorpsiyonunu ve elektrostatik etkileşimini destekler. Daha düşük pH değerlerinde fonksiyonel grupların protonlanması nedeniyle, pozitif yüklerin derişimi artar. Böylelikle

anyonların hücrelere daha kuvvetle bağlanması beklenir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

### 1.3.5. Biyosoğurum İle İlgili Fonksiyonel Gruplar

Biyolojik sistemlerde mevcut ligandlar ve bu ligandların affinite gösterdiği metaller Çizelge 1.2’de verilmektedir. R sembolü  $\text{CH}_2^-$ ,  $\text{CH}_3\text{CH}_2^-$  gibi bir alkil radikalini göstermektedir. A sınıfı metal iyonları oksijen aracılığı ile I. tip ligandlara bağlanmayı tercih eder. B sınıfı metal iyonları III. tip ligandlara yüksek affinite gösterirken, II. tip ligandlar ile kuvvetli bağ oluştururlar. Sınırdaki metal iyonları farklı durumlarda bu üç tip ligand ile bağ yapabilirler (Wang ve Chen, 2009).

Çizelge 1.2. Biyolojik sistemlerde mevcut ligandlar ve metallerin üç sınıfı (Pearson, 1963; Nieboer ve Richardson, 1980)

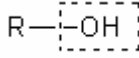
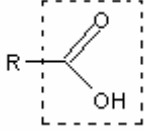
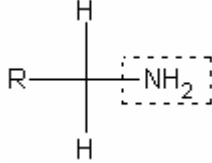
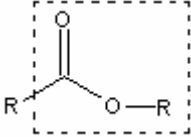
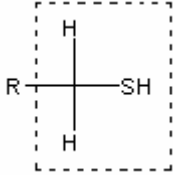
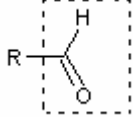
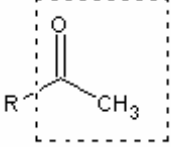
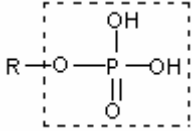
Ligand sınıfı	Ligandlar	Metal sınıfları
I Sınıf A’yı tercih eden ligandlar	$\text{F}^-$ , $\text{O}^{2-}$ , $\text{OH}^-$ , $\text{H}_2\text{O}$ , $\text{CO}_3^{2-}$ , $\text{SO}_4^{2-}$ , $\text{ROSO}_3^-$ , $\text{NO}_3^-$ , $\text{HPO}_4^{2-}$ , $\text{PO}_4^{3-}$ , $\text{ROH}$ , $\text{RCOO}^-$ , $\text{C}=\text{O}$ , $\text{ROR}$	Sınıf A: Li, Be, Na, Mg, K, Ca, Sc, Rb, Sr, Y, Cs, Ba, La, Fr, Ra, Ac, Al, lantanitler, aktinidler
II Diğer önemli ligandlar	$\text{Cl}^-$ , $\text{Br}^-$ , $\text{N}_3^-$ , $\text{NO}_2^-$ , $\text{SO}_3^{2-}$ , $\text{NH}_3$ , $\text{N}_2$ , $\text{RNH}_2$ , $\text{R}_2\text{NH}$ , $\text{R}_3\text{N}$ , $=\text{N}-$ , $-\text{CO}-\text{N}-\text{R}$ , $\text{O}_2$ , $\text{O}_2^-$ , $\text{O}_2^{2-}$	Sınır iyonları: Ni, Cu, Zn, Ga, Cd, In, Sn, Sb, As
III Sınıf B’yı tercih eden ligandlar	$\text{H}^-$ , $\text{I}^-$ , $\text{R}^-$ , $\text{CN}^-$ , $\text{CO}$ , $\text{S}^{2-}$ , $\text{RS}^-$ , $\text{R}_2\text{S}$ , $\text{R}_3\text{As}$	Sınıf B: Rh, Pd, Ag, Lr, Pt, Au, Hg, Tl, Pb, Bi

Sert ve yumuşak asit baz prensibine göre, sert iyonlar  $\text{F}^-$  iyonlarına kuvvetli bir şekilde bağlanabilen iyonlardır.  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  gibi iyonlar,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ,  $\text{R}-\text{COO}^-$  ve  $-\text{C}=\text{O}$  gibi oksijen içeren ligandlar ile kararlı bağlar oluşturabilirler. Sert iyonların aksine yumuşak iyonlar,  $\text{Hg}^{2+}$  ve  $\text{Pb}^{2+}$  gibi ağır metal iyonları, azot ve kükürt içeren  $\text{CN}^-$ ,  $\text{R}-\text{S}^-$ ,  $-\text{SH}^-$ ,  $\text{NH}_2^-$  ve imidazol grupları ile kuvvetli bağ oluştururlar.  $\text{Zn}^{2+}$  ve  $\text{Co}^{2+}$  gibi sınır veya aradaki metal iyonları daha az toksiktir.

Yumuşak iyonlar daha kovalent bir bağlanma gösterirken, sert iyonlar bağlanmada çoğunlukla iyonik davranış gösterirler. Biyokütle ile metal biyosoğurumu, özellikle hücre yüzeyi ve hücre duvarının üç boyutlu yapısı sayesinde hücre üzerindeki bileşenlere bağlanması ile gerçekleşir. Peptidoglikan, teikoik asitler ve lipoteikoik asitler bakteriyel yüzey yapılarının en önemli kimyasal bileşenleridir. Biyokütlelerin belirli türleri için çeşitli proteinlerin metal bağlanması ile ilgisinin olduğu kanıtlanmıştır. Bazı fonksiyonel grupların özellikle karboksil grubunun metal iyonlarını bağladığı bulunmuştur. Belirli metallerin doğrudan bağlanmasında O-, N-, S- veya P- içeren grupların katıldığını doğrulayan bazı kanıtlar vardır. Bağlanma bölgelerinin doğası ve biyosoğurum esnasındaki ilgileri Fourier Transform İnfrared Spektrofotometresi (FT-IR) kullanılarak yaklaşık olarak değerlendirilebilir. Metal tutulması ile ilgili bazı aktif bölgeler, titrasyon, infrared ve Raman spektroskopisi, X-ışınları fotoelektron spektroskopisi (XPS), elektron mikroskopisi (taramalı ve/veya aktarımlı), nükleer manyetik rezonans (NMR), X-ışını kırınım analizi (XRD) vb. teknikler kullanılarak tayin edilir. Karbonil (keton), karboksil, sülfidril (tiyol), sülfonat, tiyoeter, amin, ikincil amin, imin, imidazol, fosfonat, fosfodiesteri içeren bu grupların en önemlileri Volesky (2007) tarafından belirlenmiştir.

Vannela ve Verma (2006) saf ve  $\text{Cu}^{2+}$  ile muamele edilmiş *Spirulina platensis*'i inceledi.  $\text{Cu}^{2+}$  biyosoğurumunda amid, amino ve karboksil gruplarının ilgili olduğunu öngörmüşlerdir. Won vd. (2005), *C. glutamicum* biyokütlesinde karboksil, amin ve fosfonat gruplarının varlığını doğrulamak için FT-IR spektrumlarını kullandı. Enerji dağılımlı X-ışını (EDX), biyokütlenin kimyasal ve elementel özelliklerine ilişkin bilgi sağlayabilir. Tunali vd. (2006), Pb(II) ve Cu(II) yüklü *Bacillus sp.*'i EDX kullanarak analizledi ve biyosoğurumun iyon değişim mekanizması ile ilişkili olduğunu açıkladı. Bakteriyel hücreye bağlı lantanın kimyasal doğasını açıklamak için Kazy vd. (2006) XRD analizini kullandı ve *Pseudomonas* biyokütlesi ile lantanın bağlanmasında hücrel karboksil ve fosfat gruplarının ilgili olduğunu açıkladı.

Çizelge 1.3. Biyokütledeki organik bileşiklerin sınıfları ve temel fonksiyonel gruplar (Wang ve Chen, 2009)

Fonksiyonel grubun formülü	İsmi	Bileşik sınıfı
	Hidroksil	Alkoller, karbonhidratlar
	Karboksil	Yağ asitleri, proteinler, organik asitler
	Amin	Proteinler, nükleik asitler
	Ester	Yağlar
	Sülfidril	Sistein (amino asit), proteinler
	Karbonil	Aldehitler, polisakkaritler
	Karbonil	Ketonlar, polisakkaritler
	Fosfat	DNA, RNA, ATP

Biyosoğurum öncesi ve sonrası hücre yüzeyinin morfolojisini analizlemek için, taramalı elektron mikroskobu (SEM) fotoğrafları sıkça kullanılmaktadır. SEM fotoğrafları yardımı ile Lu vd. (2006) metal yüklü *Enterobacter sp.*'nin yüzeyi görselleştirilmiştir. Vijayaraghavan vd. (2007) polisulfon matriksi içinde *C. glutamicum* immobilizasyonunu göstermek için SEM fotoğraflarını kullanmıştır.

Çizelge 1.3, biyokütlerdeki organik bileşiklerin sınıflarını ve biyokütlerde temsil edilen fonksiyonel grupları göstermektedir.

### 1.3.6. Katı Destek Üzerine Biyosorbentlerin İmmobilizasyonu

Mikrobiyal biyosorbentler, düşük yoğunluklu, zayıf mekanik dayanıklılığı ve sertliği az olan küçük parçacıklardır. Mikrobiyal biyosorbentler, yüksek soğurum kapasitesi, hızlı dengeye ulaşma, düşük işlem maliyeti gibi avantajlara rağmen, bazı dezavantajlara da sahiptir. Bunlardan bazıları, katı-sıvı ayırma problemleri, biyokütlenin şişme olasılığı, rejenerasyon/tekrar kullanım için yetersiz olması ve kolon modunda yüksek basınç gerektirmesidir. Biyosorbentleri deneysel uygulamalara uygun hale getirmek için tasarlanmış birkaç teknik vardır. Bunlar arasında, hapsedme ve çapraz bağlama gibi immobilizasyon tekniklerinin, biyosoğurumu pratik hale getirdiği bulunmuştur. Bir katı destek üzerine mikroorganizmaların immobilizasyonu, tanecik büyüklüğünün kontrolü, biyokütleden çözeltinin kolay ayrılması, daha fazla biyokütle yüklenebilmesi ve akış koşulları altında minimum tıkanıklık gibi avantajlar sağlar. Sodyum aljinat, polisulfon, poliakrilamid ve poliüretan biyosorbent immobilizasyonunda kullanılan önemli immobilizasyon katı destekleridir (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Biyosoğurum işlemi farklı şekillerde gerçekleştirilebilir. Bunlardan, kesikli ve akış modları laboratuvar ölçekli biyosoğurum işlemlerini yapmak için sıkça kullanılmaktadır. Buna rağmen pek çok endüstriyel uygulamalarda akış modu işlemi tercih edilir. Hem kesikli hem de akış modları için, biyosorbent etkinliği, optimum deneysel koşullar, biyosoğurum hızı ve biyokütle rejenerasyonu imkanı gibi gerekli temel bilgiler değerlendirilmek zorundadır (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

### 1.3.7. Desorpsiyon ve Rejenerasyon

Başarılı bir desorpsiyon işlemi için eluentin, biyosorbent türü ve biyosoğurum mekanizmasına bağlı olarak seçilmesi oldukça önemlidir. Eluentte aranması gereken başlıca özellikler: (i) biyokütleyle zarar vermemeli, (ii) az masraflı olmalı, (iii) çevre dostu olmalı, (iv) etkin olmalı, şeklinde sıralanabilir. Pek çok araştırmacı bu işlem için uygun eluentleri belirlemek için ayrıntılı deneyler yapmışlardır. Bunlardan, Kuyucak ve Volesky (1989)'in çalışması, kobalt yüklü *Ascophyllum nodosum*'dan  $Co^{2+}$ 'ı desorbe etmek için çeşitli kimyasal maddeleri araştırmışlar ve HCl varlığındaki  $CaCl_2$ 'ü uygun eluent olarak tespit etmişlerdir. Pek çok çalışmada seyreltik HCl ve  $HNO_3$  (genellikle 1 M derişimi) uygun eluent olarak bulunmuştur (Pérez-Corona, 1998; Blanco vd., 1999; Carrilho vd., 2003; Menegário vd., 2005; Koh vd., 2005; Krishna vd., 2005; Soylak vd., 2006; Tajes-Martínez, 2006; Tuzen vd., 2007a; Tuzen vd., 2007b; Baytak vd., 2008).

Bazı kimyasal maddeler desorpsiyon işlemi için uygun olmasına rağmen, biyosorbentın yapısını bozabilir. Bakteriyel biyokütleler, desorpsiyon işlemleri esnasında sıkça kullanılan hem asidik hem de alkali çözeltilerin varlığı ile etkilenebilir. Genellikle, mümkün olan en küçük hacimdeki eluent ile yüksek geri kazanımlar elde edilmeye çalışılır (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

Desorpsiyonun amacı biyosorbentte tutulan bileşenin serbest bırakılmasıdır. Böylelikle serbest bırakılan bileşen analiz amacıyla kullanılırken geri kazanılan biyosorbent de tekrar aynı amaçla kullanılabilir. Desorpsiyon sonrası biyosorbent hem morfolojik hem de etkinlik açısından orijinal şekline yakın olmalıdır. (Vijayaraghavan ve Yun, 2008).

### 1.3.8. İmmobilizasyon Yöntemleri

Hücre immobilizasyonu, hücrelerin belirli bir bölgeye fiziksel olarak hapsedilmesi veya yerinin belirlenmesi olarak tanımlanmaktadır. İmmobilizasyon, hücreler çeşitli yüzeyler üzerinde veya doğal yapılar içinde büyüdüğü zaman doğal olarak ortaya çıkan durumlardır. Pek çok mikroorganizma doğada farklı türdeki yüzeylere kendi başına bağlanma yeteneğine sahiptir.

Birçok biyoteknolojik işlemde immobilizasyon tekniklerinden faydalanılır. Bu teknikler kullanılan fiziksel mekanizmaya göre dört ana kategoriye ayrılabilir (Şekil 1.5):

- Katı taşıyıcı yüzeylere adsorpsiyon veya bağlama,
- Gözenekli matriks içinde hapsetme,
- Hücre kümelenmesi
- Bir bariyer arkasında mekanik sınırlama.

#### **1.3.8.1. Katı taşıyıcı yüzeylere immobilizasyon**

Katı taşıyıcı üzerine hücre immobilizasyonu, hücre membranı ve taşıyıcı arasındaki kovalent bağlar veya elektrostatik kuvvetler nedeniyle oluşan fiziksel adsorpsiyon ile gerçekleştirilir. Hücre filminin kalınlığı genellikle bir tabakalı hücrelerden, 1 mm veya daha fazla kalınlığa kadar değişmektedir. Yüzey üzerine immobilize hücrelerin kullanıldığı sistemler, bu tip immobilizasyonu gerçekleştirmenin nispeten kolay olması nedeniyle yaygındır. Biyofilmin kalınlığı kadar, taşıyıcıya bağlı hücrelerin kuvveti de değişmektedir ve tespit etmek kolay değildir. Hücreler ve çözelti arasında herhangi bir engel yoktur. Hücre kopması ve yer değiştirme, adsorplanan ve askıda kalan hücreler arasında denge kurulana kadar mümkündür.

#### **1.3.8.2. Gözenekli matriks içinde hapsetme**

İmmobilizasyonun bu türünde ya hücrelerin, hareketleri diğer hücrelerin varlığı ile engellenene kadar gözenekli matriks içine alınmasına izin verilir ya da gözenekli materyal, hücrelerin kültürü içinde oluşturulur. İki hapsetme yöntemi de, çevreleyen ortam içine hücrelerin difüzyonunu engelleyen ağısı yapı içinde hücrelerin tutulmasına dayanır. Her iki yöntemde de besinlerin ve metabolitlerin kütle transferi devam etmektedir.

#### **1.3.8.3. Hücre kümelenmesi**

Hücre kümelenmesi genellikle daha büyük birimler oluşturmak için hücrelerin toplanması veya süspansiyondaki hücrelerin, sediment ve yığınlara hızlı bir şekilde bağlanması olarak tanımlanmaktadır. Kümelenme bir immobilizasyon tekniği olarak bilinir. Kümeleri kendiliğinden oluşturma yeteneği, küf, mantar ve bitki hücrelerinde gözlenir. Doğal olarak yığın oluşturamayan hücre kültürlerinde



kümelenmeyi artırmak için genellikle yapay ajanlar veya çapraz bağlayıcılar kullanılır.

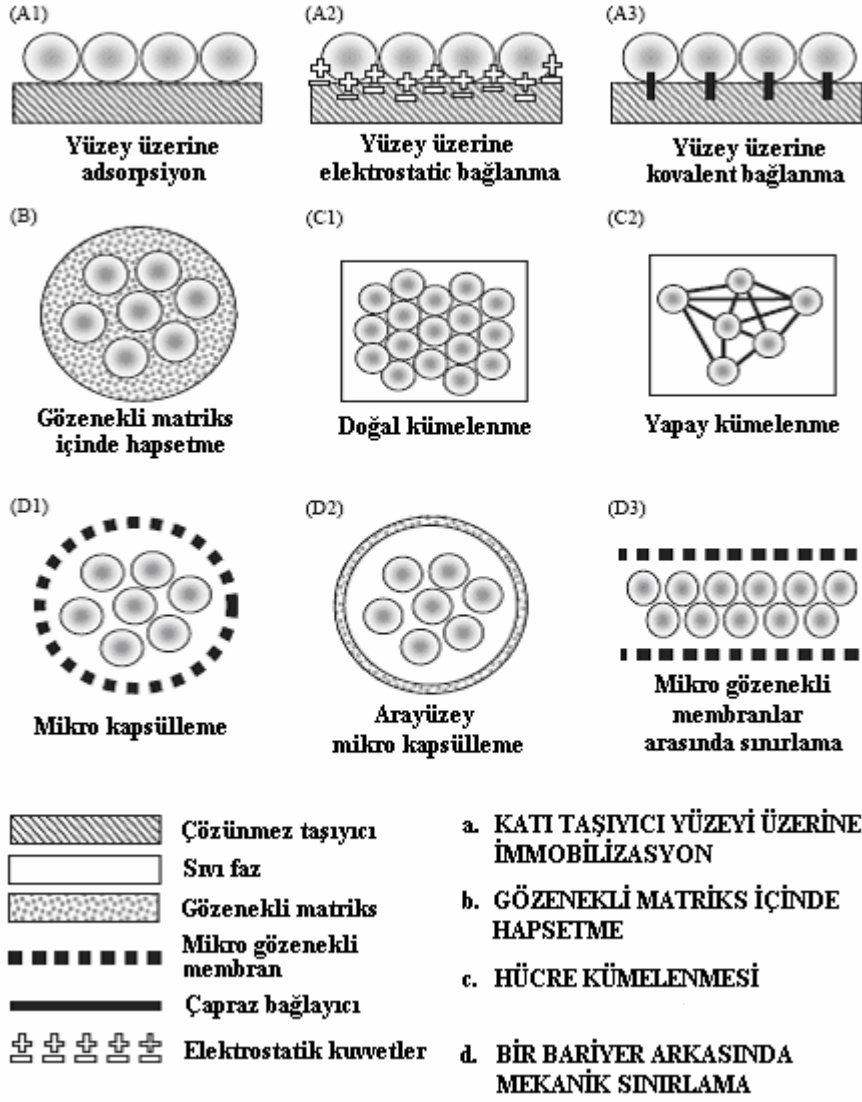
#### **1.3.8.4. Bir bariyer arkasında mekanik sınırlama**

Bir bariyer arkasında hücrelerin sınırlanması ya mikro gözenekli membran filtrelerin kullanımı ile veya bir mikro kapsül içine hücrelerin hapsedilmesi ile veya iki karışmayan sıvının karşılıklı yüzey etkileşimine dayanan hücre immobilizasyonu ile sağlanır. Membran biyoreaktör teknolojisi, hücrelerin yeniden kullanılmasında ve sürekli işlemlerde yaygın şekilde kullanılır. Mikro gözenekli membranlar arasındaki hücre immobilizasyonunun en önemli dezavantajı kütle transfer sınırlamaları ve hücre büyümesinin neden olduğu membranın biyolojik olarak kirlenmesi ihtimalidir.

Hücre immobilizasyonu için ön koşullar:

- Taşıyıcı büyük bir yüzey alanına ve hücreleri bağlayabilecek fonksiyonel gruplara sahip olmalı
- Taşıyıcının kullanımı kolay olmalı ve rejenere edilebilmeli
- İmmobilize biyomateryalin uygulama kararlılığı olmalı ve uzun süre için kullanılabilirmeli
- Destek materyalinin gözenekliliği düzenli ve kontrol edilebilir olmalı
- Taşıyıcı, mekanik, kimyasal, termal ve biyolojik kararlılığını korumalı ve basınç değişimleri, çözücüler ve enzimler ile kolay bozulmamalı
- Taşıyıcı ve immobilizasyon tekniği, kolay, uygun maliyetli ve ölçek büyütmeğe uygun olmalı

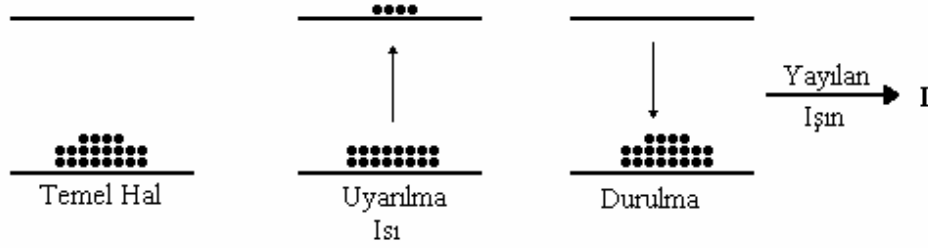
şeklinde sıralanabilir (Kourkoutas vd., 2004).



Şekil 1.5. Hücre immobilizasyonunun temel metotları (Kourkoutas vd., 2004)

#### 1.4. Atomik Emisyon Spektroskopisi

Oda sıcaklığındaki bir maddenin atomlarının çoğu temel haldedir. Temel haldeki atomlar bir kaynak ile uyarılarak, uyarılmış enerji düzeyine çıkarlar. Uyarılmış hal kararsız haldir ve uyarılmış atomun ömrü kısadır. Uyarılmış enerji düzeyine çıkarılan atomların ve tek atomlu iyonların daha düşük enerjili düzeylere geçişlerinde yaydıkları ultraviyole ve görünür bölge ışımalarının şiddetinin ölçülmesi, yaygın olarak kullanılan bir atomik spektroskopi yönteminin temelini oluşturur (Şekil 1.6). Doğada bulunan elementlerin enerji seviyeleri ve dolayısıyla yaydıkları ışınların dalga boyları farklıdır. Atomik emisyon spektroskopisi, uyarmayı sağlayan enerji kaynağının türüne göre sınıflandırılır. Analiz örneğini atomlaştırmak ve uyararak için alevin kullanıldığı yöntem, **alev emisyon spektroskopisi** adını alır. Atomlaşmanın ve uyarmanın elektriksel boşalım veya plazma gibi bir enerji kaynağı ile gerçekleştirildiği yöntem ise sadece **atomik emisyon spektroskopisi** veya **optik emisyon spektroskopisi** olarak adlandırılır.



Şekil 1.6. Atomik emisyon yönteminin temeli

Atomik emisyon spektroskopisinde elektrik boşalımına dayanan atomlaştırma, uyarma kaynakları, son yıllarda yerini plazmalara bırakmıştır. En çok kullanılan plazma türü, İndüktif Eşleşmiş Plazma (ICP - Inductively Coupled Plasma)'dır. Plazma, gaz halindeki iyon akımı olarak tanımlanabilir. Kolay iyonlaştırılabilmesi ve inert olması nedeniyle, ICP tekniğindeki plazma, argon gazı ile oluşturulur. Plazmanın sıcaklığı 6000–10000 K arasında değişmektedir. Plazmanın içine gönderilen örnek çözeltisi, burada atomlaşır ve uyarılır. ICP yönteminin üstünlükleri yüksek sıcaklıklara ulaşılabilmesi, örnek çözeltisinin plazma içinde oldukça uzun alıkonma süresine sahip olması ve atomlaştırma-uyarma işlemlerinin inert bir kimyasal çevrede gerçekleştirilmesidir.

### 1.4.1. İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektroskopisi (ICP-OES)

Atomik absorpsiyon spektrometri (AAS) yöntemi çok güvenilirdir. Fakat tek bir elementin tayini ile sınırlı olması nedeniyle çok zaman alıcıdır. Son gelişmelerle birlikte aynı lamba kullanılarak bir elementten daha fazlasını analizleyebilme yeteneğine sahip çoklu element oyuk katot lambaları üretilmiştir. Buna rağmen bu teknik ICP-OES tekniği ile karşılaştırıldığında hala hassasiyet ve üretilen iş söz konusu olduğunda aynı performansa sahip değildir.

ICP-OES üzerine olan ilginin nedeni sadece ICP-OES kaynaklarının yüksek hassasiyete sahip olmalarından değil aynı zamanda çeşitli örnekler için çözültideki çok sayıda elementin tayinini etkin bir şekilde gerçekleştirmesidir.

Radyo frekans plazma kaynakları ile elde edilen çok yüksek sıcaklıklar eser elementler için mükemmel hassasiyetteki emisyon spektrumlarının üretilmesi için yeterlidir. Bu tekniğin en önemli avantajı yüksek bir dinamik aralığa sahip olmasıdır. Böylelikle majör elementlerin ve eser elementlerin derişimleri aynı örnekte bir arada tayin edilebilir. Bu derişimler mg/L ve µg/L aralığındadır.

Eser element analizlerinde girişimler söz konusu olabilir. Bu girişimler spektral ve/veya fiziksel girişimler altında sınıflandırılabilir. Spektral girişimler, girişim yapan elementlerin spektral çizgilerinin örtüşmesinden kaynaklanır. Bu problem eğer mümkünse analit için bir diğer spektral çizginin seçilmesi ile giderilebilir. Örneğin yeterince sisleştirilememesi veya matriks etkileri nedeniyle plazma koşullarındaki değişimler gibi fiziksel girişimler analizin etkinliğinde önemli bir rol oynayabilir. Bu fiziksel girişimler iç standart ekleme yöntemi veya bir kontrol standardı kullanılarak kontrol edilebilir.

ICP-OES için piyasada simultane ve sequential olmak üzere iki temel sistem vardır. Simultane sistemlerin avantajı analitik çizgilerin cihazda hali hazırda kurulu olmasıdır ve bunun anlamı daha kısa analiz zamanı ve daha yüksek örnek verimliliğidir. Bu sistemin dezavantajı, kullanıcının bu belirlenmiş emisyon çizgileri ile sınırlandırılmış olmasıdır. Belirli bir analitik çizgi üzerine girişim yapan elementler varsa, element için analiz kolay olmayabilir. Sequential sistemler monokromatör kullanarak dalga boyu taraması yapar. Bu sistem çeşitli analitik çizgiler kullanarak analizlenecek elementler için seçenek sunar. Çizgiler monokromatör kullanılarak taranır. Fakat bu işlem zaman alıcıdır. Analiz, belirli

bir zamanda bir element ile sınırlıdır. Bu sistemin avantajı dalga boyu seçimindeki esnekliktir. Örnekte bir girişim mevcut ise simultane sistemde olduğu gibi kullanıcı belirli bir emisyon çizgisi ile sınırlanmaz.

ICP-OES sisteminin kalbi spektrometredir. Bu bileşen metot için yeterince performans gösterecek bazı özelliklere sahip olmak zorundadır. İlk olarak, spektrometre yüksek ayırma gücüne sahip olmalıdır. Yani spektral çizgileri iyi bir şekilde ayırma yeteneğine sahip olmalıdır. Spektrometre yüksek hassasiyet göstermeli ve yeterli ışın toplama yeteneğine sahip olmalıdır. Spektrometre termal ve mekanik olarak kararlı olmalıdır. Mekanik kararlılık analit derişiminin tayin edilmesi için doğru dalga boyunun kullanılmasını sağlar.

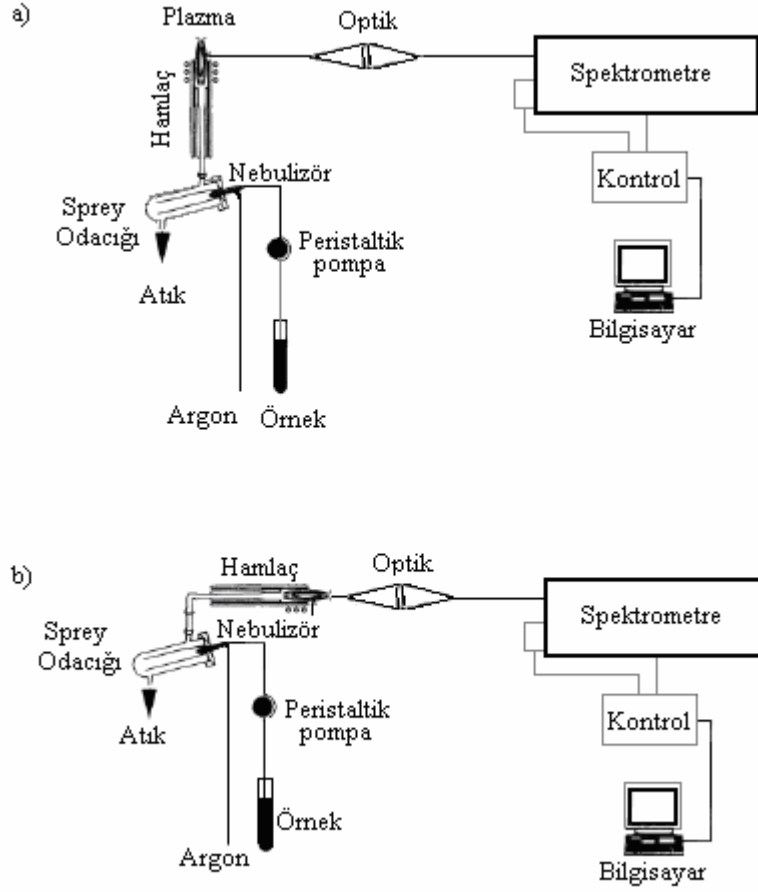
ICP-OES plazma, prensipte argon ve helyumdan başka elementlerin tümünü tayin etmek için kullanılabilen atomik ve iyonik emisyonların etkin bir kaynağıdır. Metodun teorik kapsamına rağmen, cihaza ek spesifik modifikasyonlar yapılması ile tüm elementler analizlenebilir. Metodun prensibi, atomları yüksek enerji seviyelerine uyararak için optimal koşulların kullanılmasıdır. Atomların doğal eğiliminin temel duruma dönmek olması nedeniyle bu durum geçicidir. Atom temel seviye durumuna geri dönmek için ek bir enerji vermek zorundadır. Bu enerji, element emisyonu için karakteristik olan emisyon radyasyonu olarak gözlenir. Tek bir element, analitik tayin için kullanılabilen çok sayıda emisyon çizgisine sahiptir. Buna rağmen, bir element için yaygın şekilde kullanılan çizgiler, çizginin hassasiyetine bağlıdır.

#### **1.4.2. ICP-OES Bileşenleri**

Tipik bir ICP-OES sistemi aşağıdaki bileşenlerden oluşur (Şekil 1.7).

- Örnek giriş sistemi; peristaltik pompa, nebulizör, spreyci ve atık düzeneğinden oluşur.
- Plazma, ICP hamlacı ve gaz sağlayıcı.
- Kararlı bir radyo frekansı üretmek için bir kaynak.
- Optik spektrometre.
- Dedektör ve diğer elektronikler.

- Bilgisayarlı cihaz kontrolü ve veri saklama birimi.
- Oto örnekleyici ve hidrür üretim sistemi için kullanılan diğer aksesuarlar.



Şekil 1.7. İndüktif eşleşmiş plazma optik emisyon spektrometresinin şematik diyagramı a) dikey görüş plazma b) yatay görüş plazma (Ebdon vd., 1998)

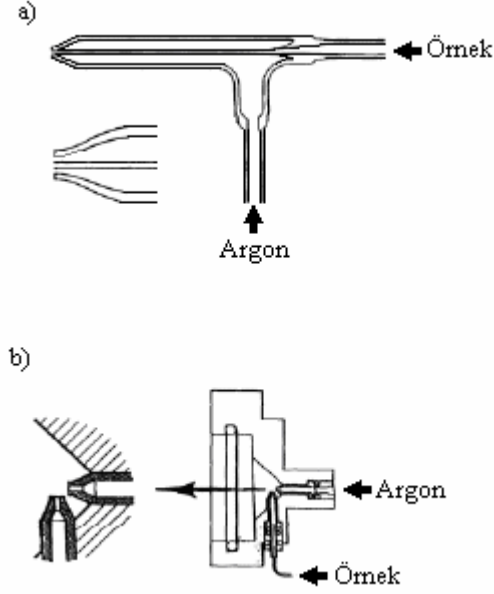
**Örnek giriş sistemi;** örneği çekmek için peristaltik pompa, örneği aspire etmek için nebulizör ve daha küçük ve daha büyük damlacıkları ayırmak için sprey odacığından oluşur.

**Peristaltik pompa;** örneği, örnek kabından nebulizörün örnek iç bağlantısına taşımak için kullanılır. Peristaltik pompa kullanılması, gaz akış hızından bağımsız olarak örnek akışının kontrol edilebilmesini sağlar.

**Nebulizör;** ICP-OES’de örnek girişinin çok kritik bir bölgesidir. ICP-OES’de yapılan analizlerin büyük bir kısmında sisleştirilen örnek, çözelti şeklindedir. Sisleştirilen örneğin daha hafif kısmı enjektör gazı ile plazmaya taşınır ve daha büyük damlacıklar sprey odacığından uzaklaştırılır. Sisleştirilen örneğin damlacık boyutu, birkaç mikron çapındadır.

*Nebulizörler iki ana gruba ayrılır:* pnömatik ve pnömatik olmayan veya ultrasonik. Pnömatik nebulizörlerde, örneği sisleştirmek için yüksek gaz akışına ihtiyaç vardır. Daha küçük veya daha büyük damlacıklar üretmek için gaz akışının değiştirilmesi ile damlacıkların boyutu kontrol edilebilir. Bu gruba ait nebulizörler eş merkezli ve çapraz akışlı olmak üzere iki şekildedir (Şekil 1.8):

Eş merkezli nebulizörlerin örneği sisleştirmesi, Venturi Etkisi ile gerçekleşir. Hızlı hareket eden gaz jetinden kaynaklanan düşük basınç, çözeltinin gaz jetinin içine çekilmesine neden olur ve aspire edilir. Bu çözeltinin çeşitli boyutlarda damlacıklara parçalanmasına neden olur. Bu nebulizörün avantajı çok yüksek hassasiyete sahip olmasıdır. Bu nedenle en yaygın kullanılan nebulizördür. Bu nebulizörün dezavantajı, yüksek derişimlerde tuz içeren örnekler analizlendiği zaman merkez kapilerinin tıkanmasıdır. Bu merkez kapiler iç çapının tipik olarak 0.3 mm olması nedeniyledir. Bu dezavantaj çapraz akışlı nebulizörün kullanılması ile azaltılır.



Şekil 1.8. ICP-OES’de kullanılan nebulizörler a) eş merkezli b) çapraz akışlı nebulizör (Ebdon vd., 1998)

Çapraz akışlı nebulizörlerin dizaynı, yüksek tuz içerikli çözeltileri eş merkezli nebulizöre göre daha fazla tolere edebilir. Bu iki tip nebulizör, örneğin sisleştirilmesi ve sprej odacığına taşınmasında aynı prensibi kullanır. Bu nebulizörün en önemli mekanik özelliği gaz deliğinin ve örneğin alındığı kapilerin aynı hizada olmasıdır. Burada yapılacak en küçük değişiklikte bile nebulizörün performansı düşer. Gaz bağlantısı tipik olarak yatay düzlemedir ve örnek giriş kapileri dikey düzlemedir. Buna rağmen çapraz akışlı nebulizör için örneğin alındığı kapilerin iç çapı, 0.3 mm olan eş merkezli nebulizör ile karşılaştırıldığında 0.5 mm’dir. Bu nedenle çapraz akışlı nebulizör, daha kaba bir nebulizör olarak görülmektedir ve yüksek tuz içerikli örnekler için eş merkezli nebulizöre göre daha çok tercih edilebilir. Bu nebulizörün dezavantajı, hassasiyetten bir dereceye kadar vazgeçilmesidir.

Pnömatik olmayan veya ultrasonik nebulizörler pratikte daha az yaygındır. Buna rağmen bu nebulizörlerin hassasiyeti pnömatik tipe göre 4 kata kadar daha iyi olabilir. Örnek çözeltisinin sisleştirilmesi için, örnek çözeltisi titreştirici dönüştürücüye (1–10 MHz) pompalanır. Bu tip nebulizörlerdeki en önemli dezavantaj desolvasyon basamağında sisleştirilmiş örnekte bulunan fazla suyun

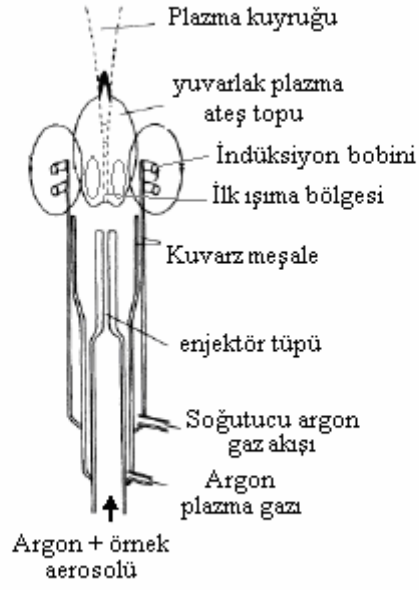


azaltılmasının gerekli olmasıdır. Bu basamak kullanılmazsa, plazmanın ateşleme durumunda kalmaması olası bir durumdur. Bu desolvasyon basamağı analiz süresini ve hafıza etkisini artırır. Ultrasonik nebulizörlerde uzun süreli kararlılık zayıftır ve performansı, küçük uygulama parametre değişimlerinden bile kolayca etkilenir. Bu nebulizörün maliyeti, pnömatik nebulizörlerden daha fazladır. Ultrasonik nebulizörün en büyük avantajı, ulaştığı gözlenebilme sınırlarının pnömatik nebulizörlere göre daha düşük olmasıdır. Bu daha düşük gözlenebilme sınırları nebulizasyon işleminde üretilen daha küçük taneciklerden kaynaklanmaktadır.

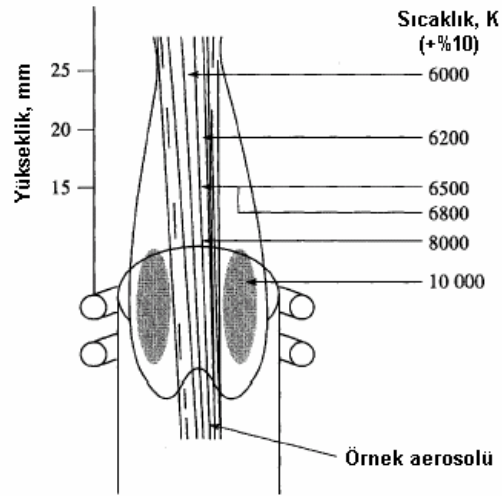
**Sprey odacıklarının** örnek giriş sistemindeki temel fonksiyonu nebulizörden gelen daha büyük damlacıkların uzaklaştırmasıdır. Bu damlacıklar sprej odacığında yoğunlaşır ve atık kabına gönderilir. Bu durum, gaz akış yönündeki keskin değişimler ile veya iç yüzey üzerinde damlacıkların doğrudan çarpışması ile sağlanır. İdeal bir sprej odacığı iyi ayırma özelliklerine ve analizlenecek örnekler için kısa hafıza etkisine sahip olmalıdır.

Plazma oldukça yüksek derişimde katyon ve buna eşdeğer derişimde elektron içeren elektriksel olarak iletken bir gaz ortamıdır. Plazma görüntüsü alev gibi olmakla beraber bir yanma olayı yoktur. Argon gazı, yüksek sıcaklığa dayanıklı plazma hamlacında bulunur. Bu amaçla kullanılan en yaygın malzeme kuvarzdır. Manyetik alan, hamlacın üst kısmında yer alan, 2–3 tur dönen gümüş kaplı bakır bobin ile üretilir. Argon gazı akımında ilk elektronların oluşturulması, bir elektron kaynağı ile sağlanır ve elektronlar, indüksiyon sarımının oluşturduğu manyetik alanda hızlanarak, argon atomlarıyla çarpışırlar ve argon iyonları ile daha fazla elektronun oluşması sağlanır. Bu sürecin sürekli olarak tekrarlanmasıyla, ortamdaki argon iyonu ve elektron sayısının artması sonucu oluşan plazma, manyetik alandan enerji absorplayarak 6000–10000 K arasında değişen bir sıcaklığa ulaşır. Elektron üretilme hızı ve yeniden birleşme ve difüzyondan kaynaklanan kayıplar dengeye ulaştığı zaman plazma kararlı olur ve bundan sonra analitik ölçümler için kullanılabilir.

Üretilen plazmadaki farklı bölgeler önemlidir. ICP’de hamlaç (torch), plazma geometrisi ve plazmadaki farklı sıcaklık bölgeleri Şekil 1.9 ve Şekil 1.10’da verilmektedir. Bunlar: Ön ısıtma bölgesi, ilk ısıtma bölgesi, indüksiyon (giriş) ve daha sıcak analitik bölge (6000–8000 K).



Şekil 1.9. ICP’de hamlac ve plazma geometrisi (Ebdon vd., 1998)



Şekil 1.10. Plazmadaki farklı sıcaklık bölgeleri  
([www.wizchem.org/skoog/skoog10.ppt](http://www.wizchem.org/skoog/skoog10.ppt))

Bu bölgelerin konumları sabit değildir ve işlem koşullarından etkilenir. Plazmadaki farklı bölgelerin konumlarında rol oynayan parametreler aşağıda verilmektedir.

- Uygulanan güç ve örnek taşıyıcı gaz akışı
- Aerosolün parçacık boyut dağılımı ve miktarı
- Örneğin matriks bileşimi

**Hamlaç**, uygun gaz akış geometrisini sağlamak için düzenlenmiş üç eş merkezli kuvarz tüpten oluşur. Plazma yakınındaki enjektör tüpü veya iç tüp zarar gördüğü zaman tüm hamlacın değişmek zorunda olması bu tasarımın dezavantajıdır. Hamlacı değiştirmek oldukça maliyetlidir. ICP-OES’de plazma oluşumu ve cihaz kullanımı için üç gaz akışı gereklidir. İlki soğutucu gaz akışıdır, hamlacın erimesini önlemek için kullanılır. Bu gaz akışı en fazla olanıdır ve hamlacın dış tüpündedir. Soğutucu gaz genellikle plazma gazı olarak adlandırılır. İkincisi yardımcı veya orta gaz plazmayı yükseltir. Üçüncü ve merkez gaz akışı enjektör veya sisleştirici gazdır. Bu gaz akışı, sisleştirme ve örneğin plazmaya taşınması için kullanılır.

Spektrometrenin fonksiyonu emisyon spektrumunda verilen çizgiyi seçebilmeli ve diğer çizgilerden ayırabilmelidir. Spektrometrenin sağlaması gereken en önemli özellikler yüksek ayırma gücü, ışın yayılması ve kararlılık. Yüksek ışın yayılması ve yüksek ayırma gücü her zaman mümkün değildir. En azından ikisi arasında bir uyum olmalıdır.

Spektrometrelerde dalga boyu aralığı genellikle 200–800 nm aralığındadır. 200 nm’nin altındaki spektral çizgi aralığının zayıf hassasiyeti UV bölgesindeki çizgilerin emisyonunun absorpsiyonu nedeniyledir. Bu durumda spektrometrenin performansı azalır. Bu problemi çözmek için sistemler 200 nm’nin altındaki analizleri gerçekleştirmek için spektrometrede ya bir vakum veya içinden argon gazı geçirilen inert gaz ortamı olacak şekilde tasarlanmıştır. Spektrometrenin ayırma gücü iyi olmalıdır

ICP-OES aletlerinde iki tür spektrometre kullanılmaktadır; Sequential ve Simultane Spektrometreler. Her ikisinde de ışınlar bir giriş yarığından geçerek grating monokromatöre düşürülür ve burada ışınlar kırılarak dalga boylarına

ayrılır. Birçok alette monokromatör çevrilerek dalga boyları sıra ile çıkış yarığından geçirilip fotokatlandırıcı dedektöre düşürülür. Bu dalga boyu taraması yapan aletler sequential türdür. Bu tür aletlerde hızlı ölçüm yapılmak istendiğinde ilgilenilen elementlerin seçilen dalga boyları bilgisayardan işaretlenir ve spektrum taranırken istenmeyen dalga boyu bölgesi hızlı geçilir. Sequential aletler her element için optimize edilebildiğinden daha duyar ölçümler yapılabilir. Ancak belirli bir zamanda bir elementi ölçtüğü için daha yavaştır ve bu nedenle argon gaz tüketimi daha fazladır. Polikromatik simultane aletlerin kuruluş maliyeti daha fazla olmakla beraber çok sayıda elementi aynı anda okuduğu için argon tüketimi ve dolayısıyla işletme maliyeti daha düşüktür. ICP’de yüksek sıcaklık sağlandığından elementlerin çok sayıda çizgisi uyarılabilir. Bu nedenle ICP spektrumlarında çizgiler birbirine çok yakındır. Bu çizgilerin çakışıklığını önlemek için monokromatörün spektral band genişliği 0.04 nm veya daha az olmalıdır.

### 1.4.3. ICP-OES’de Girişimler

Analit çözeltisinin tayininde mümkün olabilecek hataların pek çok kaynağı vardır. Bu hata kaynakları, matriks ve spektral girişimler altında toplanır. Matriks etkileri, fiziksel, kimyasal ve iyonlaşma girişimleri olmak üzere 3’e ayrılır. Spektral girişimler kullanılan spektrometrenin özellikleri ile ilgilidir.

#### 1.4.3.1. Matriks etkileri

**Fiziksel girişim:** Asit derişimi veya çözünmüş katıların içeriği ve örnek çözeltisindeki değişimler, sisleşme oranında değişimlere neden olabilir. Bu oranın değişmesi, çözeltinin yoğunluğunun, viskozitesinin ve yüzey geriliminin değişmesi nedeniyledir. Bu etkiler, ölçümün hassasiyeti üzerine etkisi olabilen damlacık boyutunu değiştirebilir. Aşırı miktardaki sülfürik asit veya fosforik asit analit sinyalinin önleyebilir.

**Kimyasal girişim:** Kimyasal girişim, elementin kantitatif atomlaşmasını önleyen bir bileşik oluştuğunda meydana gelir. ICP-OES’de bu durum, plazmadaki yüksek sıcaklık koşulları nedeniyle girişim olarak önemli bir rol oynamaz.

**İyonlaşma girişimi:** Bu girişim plazma sıcaklığı, elementin iyonlaşma potansiyeli ve elementin derişimine bağlı olarak hassasiyetin azalmasına neden olur.

### 1.4.3.2. Spektral girişim

Matrikste bulunan elementlerin spektral girişimleri olabilir. Uygun düzeltmelerin yapılabilmesi için bu girişimlerin belirlenmesi gerekir. Özellikle gözlenebilme sınırına yakın derişimlerin ölçülmesinde girişimler daha ciddi sorunlar ortaya çıkarır. Spektral girişimler analit dışındaki maddelerin emisyonlarının dedektöre ulaşarak analit sinyali dalga boyundaki ışın şiddetini artırdığı durumdur. Spektral girişimler doğrudan emisyon çizgilerinin çakışmasıyla (örneğin Ti 228.618 çizgisinin, Co 228.616 çizgisine), kuvveti bir çizginin genişleyen kanatlarının çakışmasıyla (örneğin Ca 393.366 çizgisinin, Al 396.152 çizgisine çakışmasıyla) oluşur. Doğrudan emisyon çizgisi çakışması analitin bir başka çizgisi seçilerek önlenir (Yıldız ve Genç, 1993; Ebdon vd., 1998; Skoog vd., 1997; Henden vd, 2001; Botes, 2003).

## 1.5. Analitik Performans ile İlgili Terimler

**Doğruluk**, analitik işlemin sapmasının ve kesinliğinin bir kombinasyonudur ve deneysel olarak bulunan değerin gerçek değere yakınlığını ifade eder. Yalnızca sayılabilen nesnelere için tam bir doğruluk söz konusudur. Diğer tüm ölçümlerde ise bulunan değerin ancak gerçek değere yakınlığından söz edilebilir ve her ölçüm bir miktar yanlılı içerir.

Doğruluk ve kesinlik birbirinden farklı kavramlar olup, bir analizin tekrarlanabilirliğinin iyi olması doğruluğun da iyi olduğu anlamına gelmez. Doğruluk, genellikle kabul edilen değere veya kabul edilmiş standart referans değere yakınlığı ile ifade edilir.

**Kesinlik**, bir örnek içindeki aynı parametrelerin aynı yöntemle bir seri tekrarlanan ölçümleri ile ilgili rastgele hataların bir ölçüsüdür. Kesinlik bazen tekrarlanabilirlik olarak da tanımlanır. Kesinlik, standart sapma, bağıl standart sapma, varyans, varyasyon katsayısı ile belirlenir. **Standart sapma** (s) aynı koşullarda alınan sınırlı sayıda (N) ölçümün ortalamasından aşağıdaki eşitlik ile hesaplanır.

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N - 1}}$$

Standart sapmanın karesi **varyans** olup, toplanabilir özelliktedir. Sapma, sistematik bir ölçüm veya analitik metotta tespit edilen hatalardır. Sapma, hedef analitin eklendiği örneklerin geri kazanım oranlarının değerlendirilmesi ile tespit edilir. Bunun yanı sıra bağıl standart sapma (RSD) ölçümlerin kesinliği hakkında standart sapmaya göre daha çok fikir verir.

$$RSD = (s / x_{ort}) \times 100$$

**Gözlenebilme sınırı (LOD)**, belirli bir güven seviyesinde bir tanık çözeltiden istatistiksel olarak farklı tayin edilebilen analitin en düşük derişim düzeyidir. Gözlenebilme sınırı analitik sinyal büyüklüğünün tanık sinyalindeki istatistiksel sapma oranına bağlıdır. Diğer bir ifadeyle, analitik sinyal rastgele hatalardan kaynaklanan gürültü sinyalindeki sapmanın “k” katı kadar büyük olmadığı sürece, analitik sinyali belirli bir kesinlikle görmek imkansızdır. Böylece gözlenebilme sınırına yaklaşıldıkça analitik sinyal ve standart sapması tanık sinyaline ( $S_t$ ) ve standart sapmasına ( $s_t$ ) yaklaşır. Belirlenebilen en küçük analitik sinyal ( $S_m$ ), ortalama tanık sinyali ( $\bar{S}_{bl}$ ) ile tanığın standart sapmasının 3 katının toplamına eşit olarak alınır.

$$S_m = \bar{S}_t + ks_t$$

Bu eşitlikten gidilerek aşağıdaki eşitlik elde edilebilir.

$$C_{LOD} = 3s_t / m$$

Tayin sınırı, matematiksel olarak kabul edilebilir gözlenebilme sınırını tespit etmek için kullanılan bir seri tekrarların sonuçlarının standart sapmalarınının 10 katına eş değerdir (Henden, 2001; Skoog vd., 1997;

<http://www.dnr.state.wi.us/org/es/science/lc/OUTREACH/-Publications/LOD%20Guidance%20Document.pdf>).

## 1.6. Silika Jelin Genel Özellikleri

Gözenekli silika bir inorganik polimerdir. Silika, siloksan bağları (Si-O-Si) ve silanol (Si-OH) gruplarından oluşur. Silika jel, çok başarılı bir adsorblayıcı olarak kullanılabilir. Şişmediği veya deformasyona uğramadığı için iyi bir mekanik dayanıklılığa sahiptir ve ısı işlemlerine karşı dayanıklıdır. Ek olarak şelatlayıcı ajanlar silika jel üzerine kolayca yüklenebilir. Silika jelin yüzeyi silanol

gruplarının varlığı ile karakterize edilir. Silanol grupları, iyonik türlerin bağlanması ve ekstraksiyonu için düşük etkileşime sebep olan zayıf iyon değiştirici olarak bilinir. Silika jel özellikle Cu, Ni, Co, Zn veya Fe gibi metal iyonları için yüksek soğurum kapasitesi gösterir. Tutma, yüksek oranda örnek pH'ına bağlıdır. Kantitatif geri kazanım için gerekli pH değerleri 8'in üzerindedir. Asidik koşullar altında silanol grupları protonlanır ve silika jelin iyon değişim kapasitesi oldukça azalır veya düşük pH'larda sifıra kadar azalır. Ek olarak bu sorbent oldukça düşük seçiciliğe sahiptir ve bazik pH'ta hidrolize olmaya meyillidir. Sonuç olarak, silika jel yüzeyinin modifikasyonu, daha yüksek seçicilikli katı sorbentler elde etmek için kullanılmaktadır. Organik bileşikleri yüzeye yüklemek için kimyasal immobilizasyon ve fiziksel adsorpsiyon olmak üzere iki yaklaşım kullanılır. İlk durumda, silika jelin yüzey grupları ve organik bileşik arasında bir kimyasal bağ oluşur (işlevselleştirilmiş sorbent). İkinci yaklaşımda organik bileşik, silika jel yüzeyinin silanol grupları üzerine doğrudan adsorplanır (emdirilmiş veya yüklenmiş sorbent). Emdirme reaktifleri, iyon değiştiriciler veya şelat yapıcı bileşiklerdir. Çok sayıda reaktif eser metallerle karşı sorbentin seçiciliğini ve tutma kapasitelerini artırmak için araştırılmıştır. Bu kullanımlara ek olarak silika jel, mikroorganizmaların kullanıldığı biyosoğurum çalışmalarında destek materyali olarak da kullanılmıştır (Camel, 2003; Mitra, 2003).

## 1.7. Çalışmanın Kapsamı ve Amacı

Bu çalışmada bazı termofilik bakteri türleri kullanılarak  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonlarının ayırma ve zenginleştirme şartlarının ICP-OES ile araştırılması amaçlanmıştır. *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22 (DSMZ 22), *Geobacillus toebii* HBB 218 (HBB 218), *Anoxybacillus puschiensis* HBB 246 (HBB 246) ve *Geobacillus thermoglucosidasius* HBB 269 (HBB 269) termofilik bakterilerinin kullanılması ve silika jel üzerine immobilize edilmesi planlanmıştır. Ayırma ve zenginleştirme çalışmalarının katı faz ekstraksiyonu yöntemi kullanılarak, bakteriyel biyokütle immobilize edilmiş silika jel dolgulu kolonlarda gerçekleştirilmesi düşünülmüştür.

Termofilik bakterilerin, silika jel üzerine immobilizasyonu öncesi ve sonrası SEM fotoğraflarının alınması ile immobilizasyon sonuçlarının değerlendirilmesi ve termofilik bakterilerin FT-IR spektrumlarının alınması ile bağlanmadan sorumlu olabilecek fonksiyonel grupların değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Ayırma ve zenginleştirme şartlarını etkileyen parametrelerden olan, örnek pH'ı, bakteriyel biyokütle miktarı, eluent çözeltisi türü, eluent çözeltisi hacmi, örnek çözeltisi hacmi, örnek çözeltilerinin akış hızı, eluent çözeltilerinin akış hızı ve ortamda bulunabilecek diğer iyonların etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Optimize edilmiş koşullar altında zenginleştirme yönteminin tekrarlanabilirliği, çalışılan metal iyonları için gözlenebilir sınırları ve biyosorbentlerin çalışılan metal iyonları için tutma kapasitelerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada kullanılan yöntemin doğruluğu, kaynak suyu, Aydın şehir suyu ve Büyük Menderes Nehri'nden alınan çeşitli su örneklerine standart ekleme yapılarak araştırılması planlanmıştır. Yöntemin doğruluğu ayrıca standart referans madde (BCR 146R - endüstriyel kaynaklı atık su çamuru) kullanılarak da kontrol edilmesi amaçlanmıştır.



## 2. KAYNAK ÖZETLERİ

Gözenekli cama immobilize edilmiş siyano bakteri (*Spirulina platensis*) ve on-line akış enjeksiyon atomik absorpsiyon spektrometre sistemi kullanılarak Cu(II), Zn(II), Cd(II), Pb(II) ve Fe(III) iyonları sulu çözeltilerden yüksek verimle zenginleştirilmiştir. Metal bağlama derecesi çözelti pH'ına bağlıdır. Kurşun ve demirin tutulması pH'a bağlı iken, bakır, çinko ve kadmiyumun kantitatif tutulması geniş bir pH aralığında gerçekleşmiştir. Biyosorbentin tutma kapasitesi, dönüm noktası eğrisi kullanılarak elde edilmiştir (Maqulelra vd., 1994).

Sepiolit üzerine immobilize edilmiş *Escherichia coli* içeren kolonda zenginleştirme sonrası Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd'un alev atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini için yeni bir metot geliştirilmiştir. Optimum pH değerleri, adsorban miktarı, elüsyon çözeltisi ve akış hızı çalışılan elementler için elde edilmiştir. Analitlerin geri kazanımı üzerine girişim yapan iyonların etkisi araştırılmıştır. Sepiolit üzerine immobilize edilmiş *Escherichia coli*'nin Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd iyonları için adsorpsiyon kapasiteleri belirlenmiştir (Bağ vd., 2000b).

*Penicillium italicum* yüklenmiş Sepabeads SP 70 ile  $\mu\text{gL}^{-1}$  düzeylerindeki bakır(II), kadmiyum(II), kurşun(II), mangan(II), demir(III), nikel(II) ve kobalt(II) tayini için alev atomik absorpsiyon spektrometresi ile birleştirilmiş katı faz ekstraksiyonu zenginleştirme sistemi geliştirilmiştir. Analitler, pH 8.5 – 9.5 aralığında biyosorbent üzerine adsorbe olmuşlardır. Adsorplanan metaller 1 M HCl ile elue edilmiştir. Örnek hacmi, akış hızları ve sulu çözeltilerin pH'larını kapsayan çeşitli analitik parametrelerin etkileri analit iyonlarının alıkonmaları açısından araştırılmıştır. Geri kazanım değerleri % 95 – 102 aralığında bulunmuştur (Mendil vd., 2008).

Alevli atomik absorpsiyon spektrometre analizi öncesi Fe(III), Co(II), Mn(II) ve Cr(III) zenginleştirilmesi için, katı destek üzerine *Agrobacterium tumefaciens*'in immobilize edildiği biyosorbenti kullanmışlardır. Kolon zenginleştirme için destek materyali olarak Amberlit XAD-4'ü kullanmışlardır. Metal iyonlarının tutulması üzerine, pH, adsorban miktarı, eluent türü ve hacmi, örnek çözelti akış hızı, örnek çözelti hacmi ve matris girişim etkisi çalışılmıştır. Metal iyonlarının tutulduğu optimum pH'ı, 6 - 8 aralığında bulmuşlardır. Çalışılan metal iyonları için zenginleştirme faktörünü 25 olarak bulmuşlardır. Zenginleştirme yöntemini, su örneklerinde, alaşım örneklerinde, bebek mamasında ve sertifikalı örneklerde

metal tayini için uygulamışlardır (Baytak ve Türker, 2005b).

*Aspergillus fumigatus* immobilize edilmiş Diaion HP-2MG üzerine bakır(II), kurşun(II), çinko(II), demir(III), nikel(II) ve kobalt(II) iyonlarının biyosoğrumuna dayanan bir katı faz ekstraksiyonu işlemi çalışılmıştır. *Aspergillus fumigatus* miktarı, eluent tipi, örnek ve eluent çözeltileri akış hızlarını kapsayan analitik koşullar araştırılmıştır. Analitlerin tutulması üzerine diğer iyonların etkileri de araştırılmıştır. Yöntem validasyonu üç standart referans maddenin analizi ile gerçekleştirilmiştir. Yöntem, sokak tozu, domates salçası, siyah çay gibi mikrodalga ile çözünürleştirilen örneklerdeki ve doğal sulardaki analit iyonlarının tayini için başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Soylak vd., 2006).

*Bacillus sphaericus* yüklenmiş Diaion SP-850 reçinesi üzerine bakır(II), kurşun(II), demir(III) ve kobalt(II)'nin biyosoğurumu ile ayırma ve zenginleştirilme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Biyosorbent üzerine soğurulan analitler 1 M HCl kullanılarak elue edilmiş ve alev atomik absorpsiyon spektrometre ile tayin edilmiştir. Analitlerin kantitatif geri kazanımı üzerine, pH, *B. sphaericus* miktarı, örnek hacmi gibi analitik parametrelerin etkileri araştırılmıştır. Biyosorbent ile analitlerin tutulması üzerine alkali, toprak alkali ve bazı metal iyonlarının etkileri de araştırılmıştır. Gerçek örneklerden Cu, Pb, Fe ve Co iyonlarının ayırma ve zenginleştirilmesi kantitatif olarak gerçekleştirilmiştir. Yöntem validasyonu, sertifikalı standart referans maddelerin tayini ile yapılmıştır. Önerilen metot, yeşil çay, siyah çay, kültür mantarı, pişirilmiş buğday, pirinç ve toprak örneklerinde analit iyonlarının tayini için uygulanmıştır (Tuzen vd., 2007a).

*Pseudomonas aeruginosa* immobilize edilmiş çok duvarlı karbon nanotüpler çevre örneklerindeki bazı kobalt(II), kadmiyum(II), kurşun(II), mangan(II), krom(III) ve nikel(II) iyonlarının katı faz ekstraksiyonu için biyosorbent olarak kullanılmıştır. Analitlerin kantitatif biyosoğurum koşullarını araştırmak için pH, eluent türü, eluent hacmi, örnek hacmi gibi etkiler çalışılmıştır. *P. aeruginosa* immobilize edilmiş karbon nanotüpler ile analit iyonlarının biyosoğurumu üzerine alkali, toprak alkali ve bazı geçiş metallerin etkileri araştırılmıştır. Önerilen biyosoğurum yöntemi, domates yaprakları, sığır karaciğeri, pişmiş buğday, balık konservesi, siyah çay, liken ve doğal su örneklerindeki analitlerin tayini için uygulanmıştır (Tuzen vd., 2007b).

Ponza taşı üzerine immobilize edilmiş *Penicillium digitatum* ile kolon

biyosoğurum işlemi kullanılarak Cu(II), Zn(II) ve Pb(II) iyonlarının kolon katı faz ekstraksiyonu işlemi gerçekleştirilmiştir. Analitler alev atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiştir. pH değerleri, katı faz miktarı, elüsyon çözeltisi ve örnek çözeltisinin akış hızı gibi optimum koşullar analitlerin kantitatif geri kazanımı için değerlendirilmiştir. Analitlerin geri kazanımı üzerine girişim yapan iyonların etkisi araştırılmıştır. Optimum koşullar altında bakır, çinko ve kurşunun geri kazanımları % 95'in üzerinde bulunmuştur. Analitler için zenginleştirme faktörü 50 olarak bulunmuştur. Önerilen yöntem, baraj suyu, atık su, kaynak suyu, maydanoz ve havuç örneklerinde bakır, çinko ve kurşun için uygulanmıştır (Baytak vd., 2008).

Çevre örneklerindeki alüminyumun ayırma ve zenginleştirilmesi için bir biyosoğurum işlemi önerilmiştir. Gram-negatif bir bakteri olan *Pseudomonas aeruginosa* yüklü Chromosorb 106 biosorbent olarak kullanılmıştır. Alüminyumun zenginleştirilmesi üzerine, çözelti pH'ı, eluent türü, eluent hacmi, örnek hacmi vb. etkiler araştırılmıştır. Önerilen yöntem, standart referans maddelere, su ve gıda örneklerini kapsayan çevre örneklerindeki alüminyum tayini için uygulanmıştır (Tuzen ve Soylak, 2008).

İz metal tayininde biyosorbent olarak Amberlit XAD-4 üzerine immobilize edilmiş *Bacillus subtilis*'in kullanımı önerilmiştir. İşlem, kuru ve ölü bakteriyel bileşenlerin yüklendiği Amberlit XAD-4 ile hazırlanan kolonda alev AAS ile tayinleri öncesi Cu ve Cd iyonlarının biyosoğurumuna dayandırılmıştır. pH, adsorban miktarı, eluent türü ve hacmi, çözelti akış hızı ve matris girişimi gibi çeşitli parametrelerin metal iyonlarının tutulmasına olan etkileri çalışılmıştır. Cu ve Cd için kantitatif soğurumun gerçekleştiği pH değerleri sırasıyla 7.0 ve 7.5 olarak bulunmuştur. Bu metal iyonlarının kantitatif olarak 1 M HCl ile desorplanabildiği bulunmuştur. Biyosobentin Cu ve Cd için adsorpsiyon kapasiteleri belirlenmiştir. Geliştirilen yöntem, nehir ve kuyu suyu gibi çeşitli su örneklerine uygulanmış ve yöntemin doğruluğu standart referans maddeler ile değerlendirilmiştir (Dogru vd., 2007).

*Saccharomyces cerevisiae* olarak nitelendirilen ekmek mayası hücreleri su örneklerinden  $Cd^{2+}$ ,  $Cr^{3+}$ ,  $Cr^{6+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  and  $Zn^{2+}$  metal iyonlarının iz zenginleştirilmesi için değerlendirilmiştir. Metal derişimi alev atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin edilmiştir. Çözelti pH'ı, inkübasyon zamanı, maya biyokütlesinin miktarı ve glukoz derişiminin etkisi gibi metal alımını etkileyen

parametreler optimize edilmiştir (Mapolelo ve Torto, 2004).

Akış enjeksiyon sisteminde on-line metal zenginleştirme işlemi için kahverengi alg *Pilayella littoralis*, yeni bir biyosorbent olarak kullanılmıştır. Silika-immobilize alg kolonunda zenginleştirme sonrası göl suyu örneklerinde Al, Co, Cu ve Fe, ICP-OES ile tayin edilmiştir. *Pilayella littoralis* de diğer algler gibi bu metal iyonları için güçlü bir affinite sergilemiştir. Metaller pH 5.5’de bağlanmış ve pH < 2 seyreltik HCl ile alınmıştır. Metal soğurum etkinliği % 86 – 90 aralığında bulunmuştur (Carrilho vd., 2003).

Serbest veya silika jel üzerine immobilize ekme mayası *Saccharomyces cerevisiae* ve yeşil alg *Chlorella vulgaris*’in asidik ortamda su örneklerinden platin ve palladyumu seçici olarak biriktirdiği gösterilmiştir. Metallerin biyosoğurum koşullarının (örnek pH’ı, alg ve maya kütleleri, adsorpsiyon süresi, sıcaklık) optimizasyonu kesikli modda gerçekleştirilmiştir. Silika jele kovalent olarak immobilize edilmiş *C.vulgaris* algi üzerine platin ve palladyumun biyosoğurumuna dayanan matriks ayırma işlemi akış modunda gerçekleştirilmiştir. Algin akış işlemindeki kullanımının, beç modundaki kullanımı ile karşılaştırıldığında, akış işleminin çeşitli avantajları olduğu belirtilmiştir. Akış işleminin daha iyi tekrarlanabilirlik gösterdiği, daha az zahmetli ve daha az zaman alıcı olduğu belirtilmiştir. Kolonda biyosoğurulan metaller için en yüksek geri kazanım 1 M HCl içerisinde hazırlanmış 0.3 M tıyoüre ile elde edilmiştir. GFAAS tayininde araştırılan metallerin analitik sinyaline tıyoürenin etkisi tartışılmıştır. Yöntem, platin ve palladyum eklenmiş çeşme suyu ve atık su örneklerinde soy metallerin ayırma işlemi için uygulanmıştır (Godlewska- Żytkiewicz, 2003).

Polisülfon ve epoksi reçine küreleri içerisine hapsedilmiş siyano bakteri *Phormidium laminosum* cansız biyokütlesinin Cu(II), Fe(II), Ni(II) ve Zn(II) iyonları için biyosoğurum kapasitesi araştırılmıştır. Biyosoğurum işlemi biyokütle kürelerinin ıslatılmasına dayanmaktadır. Kuru biyokütle kürelerinin kullanıldığı durumda metal biyosoğurum hızının azaldığı bulunmuştur. Biyokütle tanecik boyutunun azaltılması ile metal biyosoğurum hızının arttığı belirtilmiştir. Biyokütle kürelerinin 0.1 M HCl ile yıkanmasıyla, biyosoğurulan metallerin tamamen desorplandığı bildirilmiştir. Polisülfon biyokütle küreleri, 0.1 M NaOH ile tekrar koşullandırıldıktan sonra etkinlik kaybı olmaksızın en az on ardışık biyosoğurum-desorpsiyon döngüsü için kullanılabilir olduğu bulunmuştur (Blanco vd., 1999).

Bira fermentasyon endüstrisinden gelen atık *Saccharomyces cerevisiae* biyokütlesi sulu çözeltilerden bakırın uzaklaştırılması için kullanılmıştır. Bakırın biyosoğurumunda *Saccharomyces cerevisiae* hücre duvarında çeşitli fonksiyonel grupların oynadığı rolü belirlemek için metanol, formaldehit ve glüteraldehiti kapsayan çeşitli kimyasal ajanlar ile biyokütlenin hücre duvarı bileşimi değiştirilmiştir. Hücre duvarında mevcut amino gruplarının metillenmesi ve karboksilin esterleştirilmesi bakırın biyosoğurum kapasitesini önemli bir şekilde azalttığı bulunmuştur. Bakırın biyosoğurumunda karboksil ve amin gruplarının önemli bir rol oynadığı ileri sürülmüştür (Jianlong, 2002).

Silika jel üzerine immobilize edilmiş *Chlorella vulgaris* ile doldurulmuş kolon kullanılarak suda civa türlemesi için yeni bir metot geliştirilmiştir. Metot polipropilen tüpte immobilize algin doldurulması ile hazırlanmış mikro kolonlarda  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  ve  $\text{Hg}^{2+}$ 'nin tutulmasını kapsamaktadır.  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  ve  $\text{Hg}^{2+}$  için sırasıyla 0.03 M ve 1.5 M HCl ile seçici ve birbirini takip eden elüsyonları gerçekleştirilmiştir.  $\text{CH}_3\text{Hg}^+$  and  $\text{Hg}^{2+}$  için *C. vulgaris*'in adsorpsiyon kapasitesi serbest ve immobilize *C. vulgaris* kullanılarak değerlendirilmiştir. Her iki tür için de tutma ve elüsyon koşullarının etkinliği üzerine çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Geliştirilen metot standart eklenmiş çeşme, deniz ve atık su örneklerine uygulanmıştır (Tajes-Martínez vd., 2006).

Çeşitli su örneklerindeki Cr(III) ve Cr(VI) türlemesi için substrat olarak polisilikat matriksi içerisine immobilize edilmiş yosun (*Funaria hygrometrica*) kullanılmıştır. Cr(III) ve Cr(VI)'yı kantitatif olarak ayırmak için pH, sorbent miktarı ve akış hızı gibi koşullar optimize edilmiştir. Cr(III), pH 4 – 8 aralığında immobilize yosunu içeren kolonda seçici olarak tutulurken Cr(VI)'nın çözeltide kaldığı bulunmuştur. Tutulan Cr(III), 10 mL 2 M  $\text{HNO}_3$  ile elue edilmiştir. Zenginleştirme faktörü 20 olarak bulunmuştur. Ayırma sonrası Cr türleri ICP-MS ve FAAS ile tayin edilmiştir. İmmobilize yosunun soğurum kapasitesi Cr(III) için 11.5 mg/g olarak bulunmuştur. Önerilen metot standart eklenmiş ve gerçek su örneklerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır ve geri kazanımlar % 95'in üzerinde bulunmuştur (Krishna vd., 2005).

Hg(II) ve metil civanın on-line zenginleştirme ve türlemesinde, silika jel üzerine immobilize edilmiş *Saccharomyces cerevisiae* ekmek mayasının analitik performansı değerlendirilmiştir. İmmobilize hücreler PTFE (Politetrafloretilen) mikro kolona doldurulmuş ve kolon içinden organik ve inorganik civa çözeltileri

geçirilmiştir. İnorganik ve organik civa çözeltilerinin tutulması eş zamanlı olarak gerçekleşmiştir. Tutma verimi geniş bir pH aralığında % 95'den yüksek bulunmuştur. Türlenme, metil civa için 0.02 M HCl ve Hg(II) için 0.8 M CN<sup>-</sup> kullanılarak seçici ve birbirini takip eden elüsyonlar ile gerçekleştirilmiştir. Zenginleştirme faktörleri metil civa için 15 ve civa(II) için 100 olarak bulunmuştur. Yöntem standart eklenmiş deniz suyu örneklerine uygulanmıştır (Pérez-Corona vd., 1998).

*Staphylococcus xylosus* ve *Pseudomonas sp.* kullanılarak tekli çözeltilerden Cd(II) ve Cr(VI) iyonlarının biyosoğurumu ve biyosorbentlerin ikili karışımlardaki seçiciliği araştırılmıştır. Metal biyosoğurumunu tanımlamak için Langmuir ve Freundlich modelleri uygulanmıştır ve pH, biyokütle derişimi ve temas zamanı gibi etkiler belirlenmiştir. Kadmiyumun maksimum tutma kapasitesi *S. xylosus* ve *Pseudomonas sp.* için sırasıyla, 250 ve 278 mg g<sup>-1</sup>, krom için ise 143 ve 95 mg g<sup>-1</sup> olarak hesaplanmıştır. Cd(II) iyonlarının daha fazla miktarda bulunduğu ikili karışımlarda (10 mg L<sup>-1</sup> Cd(II) ve 5 mg L<sup>-1</sup> Cr(VI)), *Pseudomonas sp.* ve *S. xylosus* için sırasıyla % 96 ve % 89'a ulaşılmıştır (Ziagova vd., 2007).

Sn(II) ve Sn(IV)'ün seçici olarak tutulmasında substrat olarak *Saccharomyces cerevisiae* araştırılmıştır. pH, biyokütle miktarı, sıcaklık ve temas süresi gibi maya ile analitlerin tutulmasını etkileyen çeşitli faktörler değerlendirilmiştir. *Saccharomyces cerevisiae* kullanılarak katı faz ekstraksiyonu ve ICP-OES'in birleştirilmesi ile Sn(II) ve Sn(IV)'ün tayini için bir metot önerilmiştir. İşlem sırasında Sn(II) çözeltide kalırken, Sn(IV) pH 2'de maya tarafından seçici olarak tutulmuştur. Önerilen yaklaşım, standart eklenen nehir suyuna ve endüstriyel atık sularda Sn(II) ve Sn(IV)'ün tayini için değerlendirilmiştir. Tüm örnekler için Sn(II) ve Sn(IV)'ün geri kazanımları % 85 – 112 aralığında bulunmuştur (Caldorin ve Menegário, 2007).

İnorganik arsenik türleri maya immobilize edilmiş kolon kullanılarak ayrılmıştır. *Saccharomyces cerevisiae* gözenekli cama kovalent olarak bağlanmıştır ve As<sup>3+</sup> den çok As<sup>5+</sup> i seçici olarak zenginleştirdiği görülmüştür. Kolonda arseniğin tutulması için optimum pH'ın, 7 olduğu belirtilmiştir. As<sup>5+</sup> ve As<sup>3+</sup> iyonlarının, 1.5 mL min<sup>-1</sup> akış hızı ile birkaç dakika içinde ayrıldığı bulunmuştur. 3 M HNO<sub>3</sub>'ün, hem As<sup>5+</sup>'in elüsyonu için hem de hidrür üretimi için yeterli olduğu bildirilmiştir. Pestisit ve sigara örneklerinde arsenik türlerinin kantitatif analizi gerçekleştirilmiş ve sonuçların varsayılan değerler ile uyumlu olduğu belirtilmiştir (Koh vd., 2005).

Çevre örneklerinde krom(III) ve krom(VI) için biyosoğuruma dayanan bir türleme işlemi önerilmiştir. İşlem, Diaion SP-850 yüklü *Bacillus sphaericus* ile pH 5'de krom(III)'ün kantitatif biyosoğurumuna dayanmaktadır. pH 5'de biyosorbent üzerinde Cr(VI)'nın geri kazanımı % 5'in altında bulunmuştur. Cr(VI) derişik H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ve etanol ile ingirgendikten sonra sistem toplam krom için uygulanmıştır. Cr(VI), toplam krom içeriği ve Cr(III) içeriği arasındaki farktan hesaplanmıştır. pH, adsorban miktarı gibi optimum analitik koşullar, Cr(III) geri kazanımları için araştırılmıştır. Cr(III) için biyosorbentin kapasitesi, 6.95 mg/g olarak bulunmuştur. İşlem doğal su örneklerinde, krom(III) ve krom(VI)'nın türlemesi için başarılı bir şekilde uygulanmıştır (Tuzen vd., 2007c).

Sulu çözeltilerdeki Cr(III) ve Cr(VI)'nın seçici tayini ve biyosoğurumu için substrat olarak *Saccharomyces cerevisiae* değerlendirilmiştir. Maya hücreleri gözenekli cam üzerine kovalent olarak immobilize edilmiş, mini kolona doldurulmuş ve on-line akış enjeksiyon sistemi ile birleştirilmiştir. Biyosoğurum işlemini etkileyen kimyasal ve fiziksel değişkenlerin etkisi *S. cerevisiae* ile kromun tutulması için gerekli optimal koşulların seçilmesi için test edilmiştir. Cr(III), immobilize hücreler tarafından tutulurken, Cr(VI)'nın gözenekli cam tarafından tutulduğu belirtilmiştir. Türleme, Cr(III) için 0.05 M HCl ile Cr(VI) için 2.0 M HNO<sub>3</sub> ile seçici ve ardışık elusyonları ile mümkün olduğu bildirilmiştir. Derişimi 20 mg L<sup>-1</sup>'e kadar olan diğer iyonların etkileri değerlendirilmiştir. Kromun kantitatif tayinleri, ICP-OES ile gerçekleştirilmiştir. Farklı türlerdeki doğal sularda inorganik kromun türlemesi, önerilen metot ile gerçekleştirilmiştir. Standart eklenmiş su örnekleri analizlenmiş ve geri kazanımlar tüm durumlarda 81-103 aralığında bulunmuştur (Menegário vd., 2005).

### 3. MATERYAL VE YÖNTEM

#### 3.1. Deneylerde Kullanılan Kimyasallar

Deneylerde kullanılan kimyasal maddelerin tümü analitik saflıktadır ve kullanılan kimyasal maddeler ve sağlandığı firma detaylı olarak Çizelge 3.1’de verilmektedir.

Çizelge 3.1. Deneylerde kullanılan kimyasal maddeler

<b>Kimyasal maddenin adı</b>	<b>Firma</b>
CaCl <sub>2</sub>	Riedel-de Haën
CH <sub>3</sub> COOH	Merck
CH <sub>3</sub> COONa	Merck
Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Merck
Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Merck
H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	Merck
HCl	Merck
HNO <sub>3</sub>	Merck
Cd metali	Merck
KCl	Merck
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	Merck
MgCl <sub>2</sub>	Sigma
Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	J.T. Baker
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	Merck
NaCl	Merck
NaHCO <sub>3</sub>	J.T. Baker
NH <sub>3</sub>	Merck
Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Merck
Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Merck
Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Merck



### 3.2. Deneyleerde Kullanılan Cihazlar

Bu alışmada alışılan tm metal iyonlarının analizleri, Adnan Menderes niversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarında bulunan Teledyne Leeman Labs Prism Model İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP-OES) ile gerçekleştirildi. ICP-OES’de gerçekleştirilen metal iyonu analizleri için cihaz parametreleri izelge 3.2’de verilmektedir.

Çizelge 3.2. ICP-OES alışma koşulları

ICP-OES	Teledyne Leeman labs Prism Model aksiyal görüş ICP-OES
Monokromatör	Eşel spektrometre (200 nm’de 0.008 nm znrlk)
Dedektör	C-PAD dedektör
Sisleştirici	Eş merkezli
RF jeneratörü	40 MHz
RF gücü	1.0 kW
Plazma gaz akışı	19 L/min
Yardımcı gaz akışı	0.3 L/min
Nebulizör akış basıncı	50 psi
Pompa hızı	1.4 mL/min
Dalga boyu	Cu: 324.754 nm, Zn: 206.200 nm, Cd: 214.441 nm, Co: 228.615 nm, Pb:220.353 nm, Ni: 231.604 nm

pH ölçümleri için WTW pH 315i dijital pH metre kullanıldı.

Kolonda gerçekleştirilen çalışmalarda zeltelerin akış hızlarını ayarlamak için Longer Precision Pump Co. Ltd. BT 100-1L model 8 kanallı peristaltik pompa kullanıldı.

Besi yeri sterilizasyon işlemleri için AD Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde bulunan Hirayama HA-40MIV marka otoklav kullanıldı.

Bakterilerin steril petri kaplarına ekim sonrası üreme koşullarını sağlamak üzere ve diğer kurutma işlemlerinde Nüve FN 400 marka etüv kullanıldı.

Bakterilerin sıvı besi yerinde üreme koşullarını sağlamak üzere Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde bulunan Innova I43 çalkalamalı inkübatör kullanıldı.

Bakteriyel biyokütlenin besi yerinden ayrılması için Adnan Menderes Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde bulunan Sigma-3K30 model santrifüj cihazı kullanıldı.

Bakteriyel biyokütlerin spektroskopik karakterizasyonlarının yapılabilmesi için Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarında bulunan Varian FTS 800 marka FT-IR kullanıldı.

Termofilik bakterilerin silika jel üzerine immobilizasyonu İzmir Yüksek Teknoloji Enstitüsü'nde bulunan Philips XL-30S marka SEM kullanılarak gösterildi.

Standart referans maddenin (BCR-146R, endüstriyel kaynaklı atık su çamuru) çözünürleştirilmesi işleminde Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Araştırma Laboratuvarında bulunan Questron QLAB 8000 mikrodalga çözünürleştirme sistemi kullanıldı.

### **3.3. DeneYlerde Kullanılan Çözeltiler ve Hazırlanmaları**

Tüm çözeltilerin hazırlanmasında ve seyreltme işlemlerinde Millipore marka saf su sistemiyle elde edilen ultra saf su kullanıldı (18.2 MΩ/cm).

#### **3.3.1. Stok Çözeltiler**

##### **Stok Bakır (II) Çözeltisi, 100 µg/mL**

0.3802 g Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> saf suda çözüldü ve 10 mL derişik HNO<sub>3</sub> eklendikten sonra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

##### **Stok Çinko (II) Çözeltisi, 100 µg/mL**

0.4548 g Zn(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> saf suda çözüldü ve 10 mL derişik HNO<sub>3</sub> eklendikten sonra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Stok Kadmiyum (II) Çözeltisi, 100 µg/mL**

0.1000 g kadmiyum metali 4 mL derişik HNO<sub>3</sub>'de çözüldü, 8 mL derişik HNO<sub>3</sub> eklendi ve saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Stok Kobalt (II) Çözeltisi, 100 µg/mL**

0.4938 g Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> saf suda çözüldü ve 10 mL derişik HNO<sub>3</sub> eklendikten sonra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Stok Kurşun (II) Çözeltisi, 100 µg/mL**

0.1599 g Pb(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> minimum miktardaki 1+1 HNO<sub>3</sub>'te çözüldü. 10 mL derişik HNO<sub>3</sub> eklendikten sonra saf su ile 1000 mL'ye seyreltildi.

**Stok Nikel (II) Çözeltisi, 100 µg/mL**

0.4953 g Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> saf suda çözüldü ve 10 mL derişik HNO<sub>3</sub> eklendikten sonra saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Stok Na (I) Çözeltisi, 10000 µg/mL**

25.4196 g NaCl, saf suda çözüldü ve saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Stok K (I) Çözeltisi, 10000 µg/mL**

19.2628 g KCl, saf suda çözüldü ve saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Stok Ca (II) Çözeltisi, 1000 µg/mL**

3.6755 g CaCl<sub>2</sub> saf suda çözüldü ve saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Stok Mg (II) Çözeltisi, 1000 µg/mL**

8.3645 g MgCl<sub>2</sub> saf suda çözüldü ve saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

### 3.3.2. Eluent Çözeltileri

#### **Hidroklorik Asit Çözeltisi, 0.1 M**

Derişik hidroklorik asit (% 37, d=1.19 g/mL) çözeltisinden 8.3 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

#### **Hidroklorik Asit Çözeltisi, 0.5 M**

Derişik hidroklorik asit (% 37, d=1.19 g/mL) çözeltisinden 41.4 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

#### **Hidroklorik Asit Çözeltisi, 1 M**

Derişik hidroklorik asit (% 37, d=1.19 g/mL) çözeltisinden 82.8 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

#### **Hidroklorik Asit Çözeltisi, 1.5 M**

Derişik hidroklorik asit (% 37, d=1.19 g/mL) çözeltisinden 124.2 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

#### **Hidroklorik Asit Çözeltisi, 2 M**

Derişik hidroklorik asit (% 37, d=1.19 g/mL) çözeltisinden 165.6 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

#### **Nitrik Asit Çözeltisi, 0.5 M**

Derişik nitrik asit (% 65, d=1.41 g/mL) çözeltisinden 34.4 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

#### **Nitrik Asit Çözeltisi, 1 M**

Derişik nitrik asit (% 65, d=1.41 g/mL) çözeltisinden 68.8 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Nitrik Asit Çözeltisi, 1.5 M**

Derişik nitrik asit (% 65, d=1.41 g/mL) çözeltisinden 103.2 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**Nitrik Asit Çözeltisi, 2 M**

Derişik nitrik asit (% 65, d=1.41 g/mL) çözeltisinden 137.5 mL alınarak saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**3.3.3. Tampon Çözeltiler****0.1 M pH 2 Tampon Çözeltisi, H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>**

6.8 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> bir miktar saf suda çözüldükten sonra üzerine 4.5 mL derişik H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> eklendi. 1000 mL'ye yakın yaklaşık bir hacime kadar saf su ile seyreltildikten sonra pH metre kullanılarak pH'ı 2'ye ayarlandı ve hacmi saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**0.1 M pH 4 Tampon Çözeltisi, CH<sub>3</sub>COOH-CH<sub>3</sub>COONa**

0.74 g CH<sub>3</sub>COONa bir miktar saf suda çözüldükten sonra üzerine 2.4 mL derişik CH<sub>3</sub>COOH eklendi. 1000 mL'ye yakın yaklaşık bir hacime kadar saf su ile seyreltildikten sonra pH metre kullanılarak pH'ı 4'e ayarlandı ve hacmi saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**0.1 M pH 6 Tampon Çözeltisi, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**

11.93 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 4.41 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O bir miktar saf suda çözüldü. 1000 mL'ye yakın yaklaşık bir hacime kadar saf su ile seyreltildikten sonra pH metre kullanılarak pH'ı 6'ya ayarlandı ve hacmi saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

**0.1 M pH 8 Tampon Çözeltisi, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>-K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**

0.72 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ve 33.95 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O bir miktar saf suda çözüldü. 1000 mL'ye yakın yaklaşık bir hacime kadar saf su ile seyreltildikten sonra pH metre kullanılarak pH'ı 8'e ayarlandı ve hacmi saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

### 0.1 M pH 10 Tampon Çözeltisi, NaHCO<sub>3</sub>-Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

2.89 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> ve 1.89 g NaHCO<sub>3</sub> bir miktar saf suda çözüldü. 1000 mL'ye yakın yaklaşık bir hacime kadar saf su ile seyreltikten sonra pH metre kullanılarak pH'ı 10'a ayarlandı ve hacmi saf su ile 1000 mL'ye tamamlandı.

## 3.4. Zenginleştirme Çalışması Öncesinde Yapılan İşlemler

### 3.4.1. Termofilik Bakterilerin Üretilmesi

ADÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı Kültür Stokları'nda kayıtlı bulunan doğal sıcak su kaynaklarından izole edilmiş 4 adet termofilik bakteri zenginleştirme çalışmalarında kullanıldı. Kültür stoklarında kayıtlı bulunan *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22, *Geobacillus toebii* HBB 218, *Anoxybacillus puschiensis* HBB 246, *Geobacillus thermoglucosidasius* HBB 269 bakterileri zenginleştirme çalışmalarında kullanılan termofilik bakterilerdir. Çalışmaya başlamadan önce -20 °C'de muhafaza edilen bakteri stok kültürlerinden, Tryptic Soy Agar (121 °C'de 15 dakika sterilizasyon) içeren steril petri kaplarına eküvyon ile ekim yapıldı. Üreme için 65 °C'deki etüve 24 saat süreyle bırakıldı. Petride gelişen kültürlerden Tryptic Soy Broth (121 °C'de 15 dakika sterilizasyon) steril sıvı besi yeri ortamına eküvyon ile ekim yapıldı. Üreme için 24 saat süreyle 65 °C'deki ve 150 rpm hızındaki çalkalamalı inkübatöre bırakıldı. Sıvı besi yerinde üreme sonrası bakteri biyokütlesi santrifüj ile besi ortamından ayrıldı (15000 rpm, 10 dakika, 20 °C). Ayrılan bakteri biyokütlesi, öldürme işlemi için 10 dakika 0.1 M HCl çözeltisinde bekletildi ve sonra saf su ile birkaç kez yıkandı. Elde edilen biyoküteller 80 °C'deki etüvde kurutuldu. Kurutulan biyoküteller porselen havanda toz haline getirildi ve deneylere kadar desikatör içerisinde muhafaza edildi.

### 3.4.2. Bakteriyel Biyokütellerin Spektroskopik Karakterizasyonu

Bakteriyel biyokütellerin spektroskopik karakterizasyonlarının yapılabilmesi için bakteriyel biyokütellerin KBr kullanılarak hazırlanmış tabletlerinin FT-IR spektrumları alındı.

### 3.4.3. Termofilik Bakteri Biyokütlelerinin Silika Jel Üzerine İmmobilizasyonu

Zenginleştirme çalışmaları için 0.063–0.200 mm boyutlarına sahip silika jel kullanıldı. Çalışma öncesi silika jel 120 °C'deki etüvde 2 saat süreyle bekletildi ve deneylere kadar desikatör içerisinde muhafaza edildi. Termofilik bakterilerin silika jel üzerine immobilizasyonu Mahan ve Holcombe (1992) tarafından önerilen işleme göre yapıldı. Silika jel üzerine immobilize edilecek bakteri biyokütlesinin miktarına ve immobilizasyon sonrası kolona konulacak biyosorbent miktarına literatür taramasına göre karar verildi. Bu amaçla 125 mg bakteriyel biyokütle ile 1.0 g silika jel bir porselen kroze içerisine alındı. Karışım minimum miktardaki su ile ıslatıldı ve bulamaç haline getirildi. 105 °C'deki etüvde kuruma tamamlanana kadar bekletildi. Islatma ve kurutma işlemi, silika jel ve bakteri biyokütlesi arasındaki etkileşimi artırmak için 5 kez tekrarlandı. İmmobilizasyon sonrası biyosorbent deneylere kadar desikatör içerisinde saklandı. 125 mg bakteriyel biyokütlenin 1.0 g silika jel üzerine immobilize edilmesi ile elde edilen biyokütle, pH optimizasyonu için kullanıldı. Takip eden çalışmalarda bakteri biyokütlesinin optimizasyonu ile elde edilen deney sonuçlarına göre, bakteri biyokütlesinin silika jel kütlesine olan oranı daha sonraki çalışmalarda değişiklik göstermiştir.

Termofilik bakterilerin silika jel üzerine immobilizasyonu SEM kullanılarak gösterildi.

### 3.4.4. Kolonun Hazırlanması ve Zenginleştirme İşlemi

Zenginleştirme işleminde iç çapı 1 cm ve yüksekliği 10 cm olan, üst kısmına 250 mL hacminde şilifli ayırma hunisi eklenebilen ve tabanı G4 filtre malzemesi ile kapalı cam kolon kullanıldı. İmmobilizasyon sonrası elde edilen biyosorbentin 250 mg'ı kolona dolduruldu. Üzeri ~0.1 g cam pamuğu ile kapatıldı. Zenginleştirme çalışması öncesi kolondan birkaç kez 10 mL 1 M HCl çözeltisi ve birkaç kez 10 mL saf su geçirilerek kolonun temizlenmesi sağlandı. Zenginleştirme çalışmalarında kolonun çalışma pH'sına koşullandırılması oldukça önemli olduğundan örnek çözeltisi kolondan geçirilmeden önce, çalışılan pH'a uygun 10 mL tampon çözelti kolondan geçirildi. Optimum deneysel şartların belirlenmesi için 10 mL tampon çözelti ve 0.2 µg/mL metal iyonu içeren 50 mL sentetik çözeltiler hazırlandı. Sentetik çözeltiler kolondan geçirildikten sonra biyosorbent üzerinde tutulan metal iyonları 10 mL 1 M HCl çözeltisi ile elue edildi. Balon joje içerisinde 1 M HCl çözeltisi ile 10 mL'ye tamamlandı. Elde edilen eluent

çözeltisindeki metal iyonları ICP-OES cihazında tayin edildi ve % geri kazanımlar aşağıda verilen eşitlik ile hesaplandı.

$$\% R_A = \frac{Q_A(\text{verim})}{Q_A(\text{orijinal})} \times 100$$

Burada  $Q_A$  (orijinal), işlem öncesi orijinal örnekte bulunan analit miktarıdır ve  $Q_A$  (verim) ise A analitinin işlem sonrası geri kazanılan miktarıdır.

### 3.5. Zenginleştirme Yönteminin Optimum Koşullarının Belirlenmesi

Bu çalışmada silika jel üzerine termofilik bakterilerin immobilize edilmesi ile elde edilen biyosorbent kullanılarak  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonları için yeni bir ayırma ve zenginleştirme yöntemi geliştirilmeye çalışıldı. Zenginleştirme yöntemi için optimize edilmesi gereken parametreler aşağıda sıralanmaktadır.

- pH
- Bakteriyel biyokütle miktarı
- Eluent türü ve hacmi
- Örnek hacmi
- Örnek ve eluent akış hızı

Zenginleştirme çalışmalarında ilk olarak belirlenmesi gereken parametre, pH olduğundan en yüksek geri kazanımın elde edildiği pH veya pH aralığı tespit edildi. Daha sonra kolona doldurulan biyosorbent içerisindeki bakteriyel biyokütle oranı tespit edildi. pH ve bakteriyel biyokütle oranı araştırılırken diğer parametrelerin değerlerine literatür bilgisine göre karar verildi. Örneğin, pH etkisi araştırılırken 0.2 ppm metal iyonu içeren 50 mL çözeltiler 4 mL/min akış hızında kolondan geçirildi. 1 M HCl çözeltisinin 10 mL'si ile 4 mL/min akış hızında kolondan elue edildi.

Zenginleştirme işlemi için, pH ve bakteriyel biyokütle oranı optimize edildikten sonra diğer parametrelerin etkisi çalışıldı. Çalışmada parametrelerden biri araştırılırken diğer parametreler belirli değerlerde tutuldu. Çizelge 3.3'de bir sütunda sabit tutulan değerler, diğer sütunda çalışma aralığı verilmektedir. Örneğin



eluent türü araştırılırken, eluent hacmi 10 mL, örnek ve eluent çözeltisi akış hızları 1 mL/min, örnek hacmi 50 mL, biyosorbent miktarı 290 mg, örnek çözelti içindeki metal derişimi 0.2 µg/mL ve çalışılan pH 6 veya 8 olarak daha önce belirlenen değerler kullanıldı. Daha sonra eluent türü ve hacmi, örnek ve eluent çözeltisi akış hızları, örnek çözeltisi hacmi gibi diğer analitik parametreler optimize edildi.

Çizelge 3.3. Zenginleştirme işlemi için parametreler ve çalışma aralıkları

Parametre	Çalışma aralığı	Bir parametre çalışılırken sabit tutulan diğer parametrelerin değerleri*
Eluent türü	0.5–1.0–1.5–2.0 M HCl ve HNO <sub>3</sub>	1 M HCl
Eluent hacmi	4–6–8–10 mL incelendi	10 mL
Örnek çözelti akış hızı	1–6 mL/min aralığında incelendi	1 mL/min
Eluent akış hızı	1–6 mL/min aralığında incelendi	1 mL/min
Örnek hacmi	50–1000 mL aralığında incelendi	50 mL

\*Eluent türü çalışılırken 1 M HCl dışındaki değerler, eluent hacmi çalışılırken 10 mL dışındaki değerler, örnek çözeltisi akış hızı çalışılırken 1 mL/min dışındaki değerler, eluent akış hızı çalışılırken 1 mL/min dışındaki değerler, örnek hacmi çalışılırken ise 50 mL dışındaki değerler sabit tutularak çalışma aralığı sütununda yer alan değerler denendi.

Belirlenen optimum şartlarda tekrarlanabilirlik, yöntemin metal iyonları için gözlenebilme sınırı ve biyosorbentin metal iyonlarını tutma kapasitesi belirlendi.

Çeşitli su ve çevre örneklerinde en fazla bulunan Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> ve Mg<sup>2+</sup> gibi alkali iyonlarının çalışılan elementlerin geri kazanımı üzerine olan girişim etkileri ve çalışılan elementlerin birbirleri üzerine olan girişim etkileri araştırıldı.

Yöntemin doğruluğunu belirlemek amacıyla yöntem standart eklenmiş çeşitli su örneklerine ve standart referans maddeye (BCR 146R- endüstriyel kaynaklı atık su çamuru) uygulandı.

Tüm deney sonuçları aynı kolonda üç kez tekrarlanan deneysel sonuçların ortalamasıdır.

### **3.5.1. Geri Kazanıma pH Etkisi**

Termofilik bakteri immobilize edilmiş silika jel ile en yüksek geri kazanımın sağlandığı pH değerlerinin tespit edilmesi amacıyla pH'ı 2–10 aralığında değişen 0.2 µg/mL metal iyonu içeren 50 mL sentetik çözeltiler hazırlandı. pH değerleri uygun tampon çözeltiler kullanılarak ayarlandı. pH dışındaki diğer parametreler belirli değerlerde tutuldu. Kolona yerleştirilen biyosorbent miktarı 250 mg, metal iyonu derişimi tüm metaller için 0.2 µg/mL ve çözelti hacmi 50 mL olarak seçildi. Tüm metal iyonları için 10 mL 1 M HCl çözeltisi eluent olarak kullanıldı. Örnek çözelti ve eluent çözeltisi akış hızları, peristaltik pompa ile 4 mL/min'a ayarlandı.

### **3.5.2. Biyosoğuruma Bakteriyel Biyokütle Miktarının Etkisi**

Bakteriyel biyokütle miktarının optimize edildiği deneylerde, 250 mg silika jel üzerine 5–50 mg aralığında değişen bakteri biyokütleri immobilize edildi ve ayrı ayrı kolonlara dolduruldu. Metal iyonu derişimi tüm metaller için 0.2 µg/mL ve çözelti hacmi 50 mL olarak alındı. Tüm metal iyonları için 10 mL 1 M HCl çözeltisi eluent olarak kullanıldı. Örnek çözelti ve eluent çözeltisi akış hızları, peristaltik pompa ile 4 mL/min'a ayarlandı. Hesaplanan biyosoğurum yüzdeleri, bakteri biyokütlesinin silika jel kütlesi oranına karşı grafiğe geçirilerek değerlendirildi.

### **3.5.3. Eluent Türünün Desorpsiyona Etkisi**

Biyosorbent kullanılarak gerçekleştirilen zenginleştirme çalışmalarında literatürde çeşitli çözeltiler eluent olarak kullanılmaktadır. Bunlar arasında en çok kullanılanlar farklı derişimlerdeki HCl ve HNO<sub>3</sub> çözeltileridir. HCl ve HNO<sub>3</sub> çözeltilerinin 0.5, 1.0, 1.5 ve 2 M olmak üzere 4 farklı derişimi eluent olarak deneylerde kullanıldı. Çalışma koşulları olarak parametreler için Çizelge 3.3'de belirlenen değerler kullanıldı.

### **3.5.4. Eluent Hacminin Desorpsiyona Etkisi**

Yüksek geri kazanımın elde edildiği eluent çözeltisi türü belirlendikten sonra, eluent çözeltisinin hacmi 4–10 mL aralığında incelendi. Çizelge 3.3'de verilen

çalışma koşulları kullanılarak eluent çözeltisi hacminin zenginleştirme işlemine olan etkisi araştırıldı.

### 3.5.5. Geri Kazanıma Örnek Çözeltisi Hacminin Etkisi

Zenginleştirme işlemi için uygulanabilir en yüksek örnek çözeltisi hacminin belirlenmesi amacıyla Çizelge 3.3'deki çalışma koşulları altında, 10 µg metal iyonu içeren ve hacimleri 25–1000 mL aralığında değişen bir seri çözelti hazırlandı ve kolondan geçirildi. Çözeltilerin hacmi giderek artarken, içerdikleri metal miktarı aynı bırakılmış oldu. Böylelikle çözeltilerin hacmi artarken molar derişimleri azalan bir seri çözelti hazırlanmış oldu. Çözeltiler kolondan geçirildikten sonra 1 M HCl ile elue edildi.

### 3.5.6. Geri Kazanıma Örnek ve Eluent Akış Hızının Etkisi

Önerilen zenginleştirme yöntemine örnek çözeltisi ve eluent çözeltisi akış hızlarının etkisi 1–6 mL/min aralığında incelendi. Kolondan geçen örnek ve eluent çözeltilerinin akış hızları peristaltik pompa ile kontrol edildi.

### 3.5.7. Geri Kazanıma Girişim Yapabilecek Diğer İyonların Etkisi

Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup> ve Mg<sup>2+</sup> gibi alkali ve toprak alkali iyonları çeşitli su ve çevre örneklerinde en fazla bulunan elementlerdir. Çalışılan elementlerin geri kazanımı üzerine olan girişim etkileri ve çalışılan elementlerin birbirleri üzerine olan girişim etkileri araştırıldı.

## 3.6. Biyosorbentlerin Kapasitelerinin Belirlenmesi

Biyosorbentin metal iyonlarını tutma kapasitesi optimize edilmiş koşullar altında kolonda çalışıldı. Bunun için 500 mg biyosorbent kolona dolduruldu. Çözeltilerdeki metal iyonu derişimlerinin yüksek olması nedeniyle örnek çözelti pH'ları fosfat tamponu yerine seyreltik HCl ve NH<sub>3</sub> çözeltileri ile 6 ve 8'e ayarlandı. Zn<sup>2+</sup> iyonları için 5–100 µg/mL, Cd<sup>2+</sup> iyonları için 25–500 µg/mL ve Co<sup>2+</sup> iyonları 10–80 µg/mL aralığında 25 mL'lik çözeltiler hazırlandı. Bu çözeltilerin pH'ları ayarlandıktan sonra daha önce belirlenen deney koşulları altında kolondan geçirildi. Kolonda tutulan metal iyonları uygun eluentin 25 mL'si ile elue edildi. Geri alınan çözeltilerdeki metal iyonlarının ICP-OES'deki analizleri derişimin yüksek olması nedeniyle 100 kat seyreltilerek yapıldı. Cu<sup>2+</sup>,

Pb<sup>2+</sup> ve Ni<sup>2+</sup> iyonlarının yüksek derişimlerinde çökme olduğu için bu iyonlar için kapasite çalışması yapılamadı. Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup> ve Co<sup>2+</sup> iyonlarının her biri için tutulan metal miktarı aşağıdaki eşitlik ile hesaplandı. 1 g biyosorbent tarafından tutulan metal iyonunun µg ve µmol cinsinden miktarı, metal iyonunun örnek çözeltideki başlangıç derişimine karşı grafiğe geçirildi. Biyosorbentin metal iyonunu tutma kapasitesi grafiğin plato yaptığı bölgedeki kapasite değerinden bulundu.

$$C = \frac{cV}{m}$$

C, biyosorbentin kapasitesidir.

c, elue edilen metalin derişimidir.

V, kullanılan metal çözeltisinin hacmidir.

m ise kolona doldurulan biyosorbent kütlesidir.

### 3.7. Yöntemin Gözlenebilme Sınırı

Yöntemin gözlenebilme sınırını tespit etmek amacıyla 290 mg biyosorbent kolona dolduruldu. pH'ı çalışma koşullarına ayarlanmış 50 mL tanık çözeltisi (analiz elementlerini içermeyen veya sinyal okunacak seviyede içeren çözelti) kolondan geçirildi. 50 mL 1 M HCl çözeltisi ile elue edildi. Bu işlem 10 kez tekrarlandı. Elde edilen çözeltiler, çizilen kalibrasyona karşı 5 kez okundu. Okunan sinyallerin standart sapmasının üç katı, kalibrasyondan elde edilen eğim değerine bölünerek gözlenebilme sınırı hesaplandı.

### 3.8. Optimum Koşullar Altında Yöntemin Tekrarlanabilirliği

Yöntemin tekrarlanabilirliğini tespit etmek amacıyla optimum şartlar altında aynı kolon kullanılarak, zenginleştirme yöntemi her bir metal iyonu için 5 kez tekrarlandı.

### 3.9. Yöntemin Çeşitli Su Örneklerine ve Standart Referans Maddeye Uygulanması

Geliştirilen zenginleştirme yönteminin doğruluğunu kontrol etmek amacıyla yöntem, çalışılan metal iyonlarının Aydın şehir suyunda, piyasada satılan

şişelenmiş kaynak suyunda ve Büyük Menderes Nehrinden alınan su örneklerinde tayini için uygulandı. Sonuçlar standart ekleme yapılarak kontrol edildi. Bunun için alınan su örnekleri 0.45 µm gözenek büyüklüğüne sahip membran filtreden süzüldü. Örneklerin hemen analizi yapılmayacaksa asitlendirilerek +4 °C’de saklandı. Örneklerin 250 mL’si uygun pH’a ayarlandıktan sonra kolondan geçirildi. Tutulan metal iyonları uygun eluentin 10 mL’si ile geri alındı ve ICP-OES ile analizlendi.

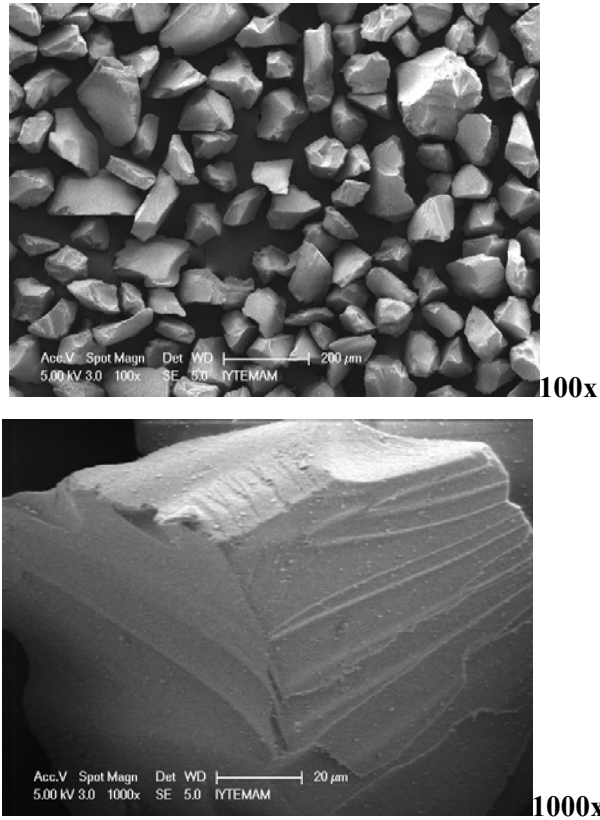
Bir yöntemin doğruluğunu göstermenin en etkin yolu, yöntemin standart referans maddeye veya maddelere uygulanmasıdır. Bu amaçla yöntem “Community Bureau of Reference, Belgium” enstitüsünden sağlanan BCR 146R- endüstriyel kaynaklı atık su çamuru örneğine uygulandı. Örnek, mikrodalga çözünürleştirme sistemi kullanılarak çözünür hale getirildi. Standart referans madde, toplam metal iyonu derişimleri için sertifikalandırıldığı gibi, kral suyunda (aqua regia) çözünen derişimleri için de sertifikalandırılmıştır. Örneğin çözünürleştirme işlemi, sıcaklık programı uygulanarak gerçekleştirildi.  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ve  $Ni^{2+}$  iyonlarının analizi için sırasıyla 0.1, 0.1, 0.5, 1.0, 0.1 ve 0.1 gram örnekler tam olarak tartılarak PTFE (Politetrafloretillen) mikrodalga kaplarına konuldu. Üzerine 10 mL kral suyu eklendi ve tepkimenin tamamlanması için bir süre bekletildi. Mikrodalga çözünürleştirme işlemi için 400 W güç kullanılarak oda sıcaklığından 200 °C’ye çıkarıldı ve 200 °C’de 15 dakika tutuldu. Örnekler oda sıcaklığına geldikten sonra 0.45 µm membran filtreden süzüldü. Örnekler nötrleştirildikten sonra uygun tampon çözelti eklenerek 50 mL’ye seyreltildi. Ancak standart referans maddedeki  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$  derişimlerinin yüksek olması nedeniyle 50 mL’ye seyreltilen örneklerden sırasıyla 5, 10 ve 2 mL’lik kısımlar alınarak uygun tampon çözelti eklendikten sonra 50 mL’ye seyreltildi. Elde edilen bu çözeltiler yöntemin doğruluğunu belirlemek üzere zenginleştirme işleminde kullanıldı.

## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

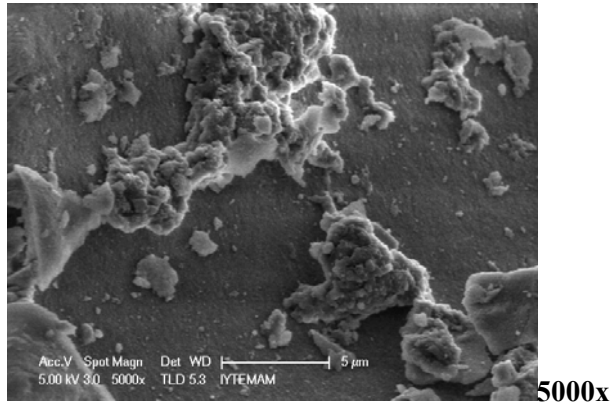
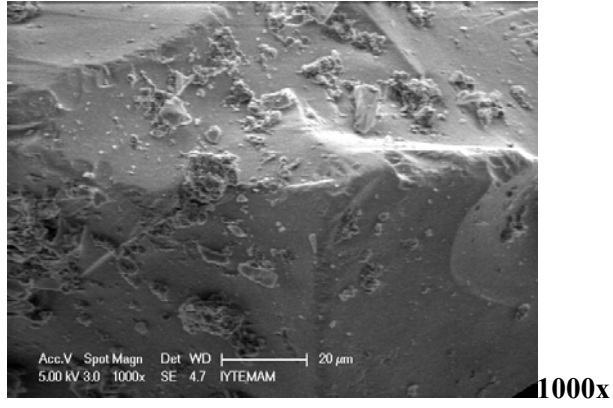
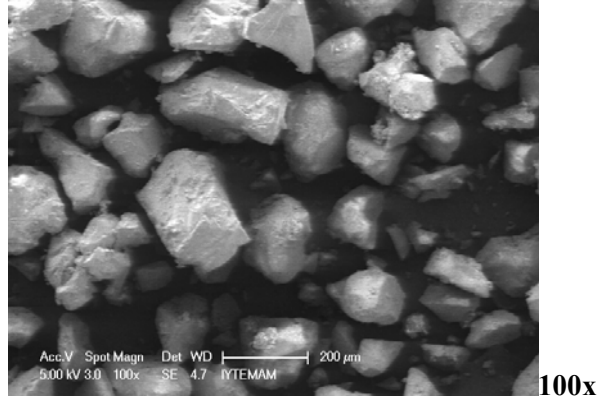
### 4.1. SEM Sonuçları

Taramalı elektron mikroskopta incelenecek örnek altın gibi ağır bir metal ile ince bir tabaka halinde kaplanır. SEM'den gelen elektron demeti örnek üzerine yönlendirilir ve bu demet örneği tarar. Bu mikroskobun alan derinliği çok iyi olduğu için, büyük örneklerin incelenmesine olanak verir. SEM ile 15X'den  $10^6$ X'e kadar değişen oranlarda büyütme sağlanabilir; ancak incelenen objenin sadece yüzeyi gözlemlenebilir.

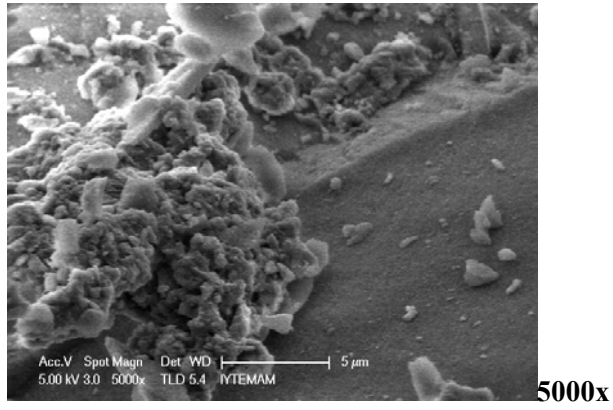
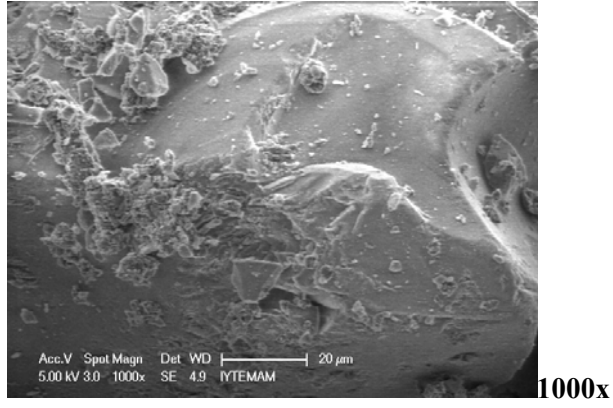
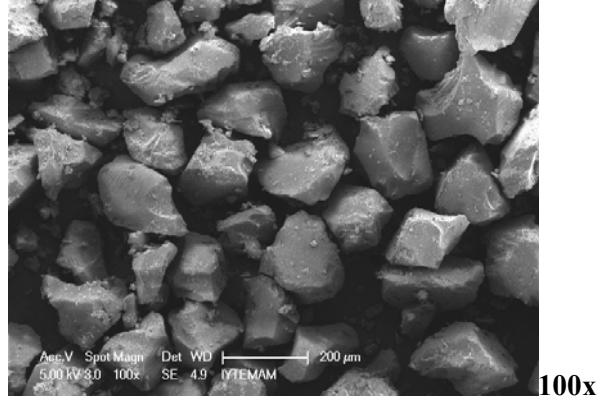
İmmobilizasyonun tamamlanıp tamamlanmadığını araştırmak için silika jel yüzeyine immobilize termofilik bakteriler, SEM fotoğrafları alınarak değerlendirildi. Şekil 4.1, 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5'de saf silika jel ile termofilik bakteri immobilize edilmiş silika jel partikülleri arasındaki karşılaştırmalar görülmektedir.



Şekil 4.1. Saf silika jelin farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları

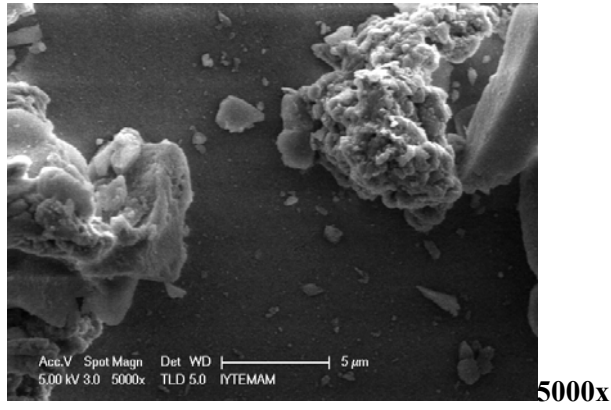
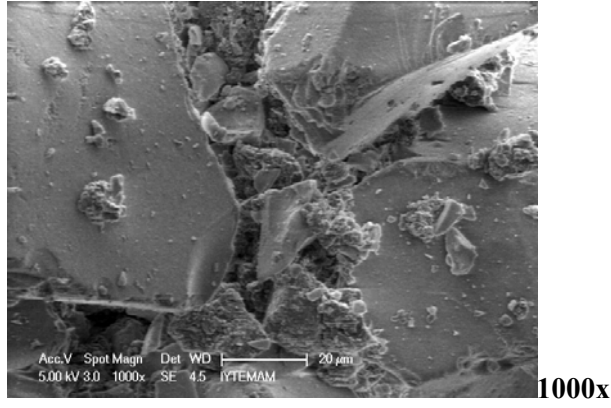
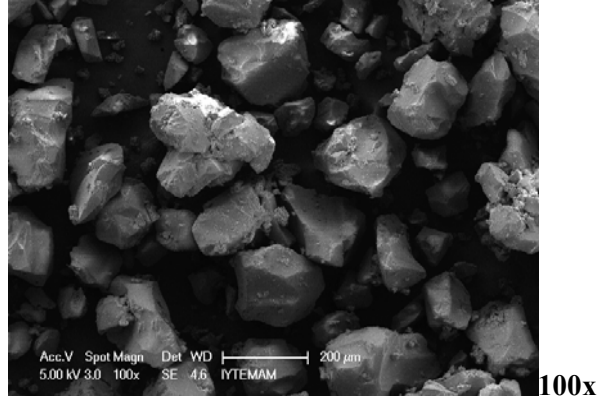


Şekil 4.2. Silika jel üzerine immobilize *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22'nin farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları

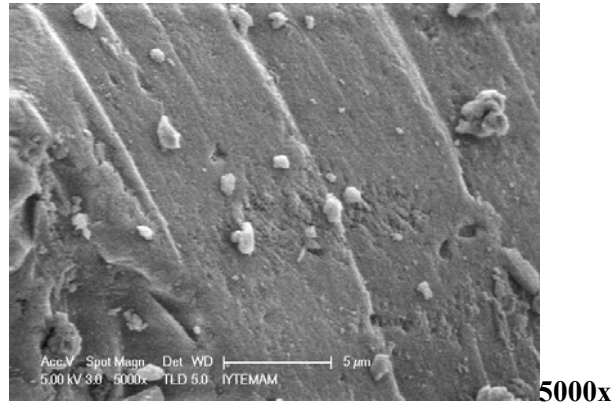
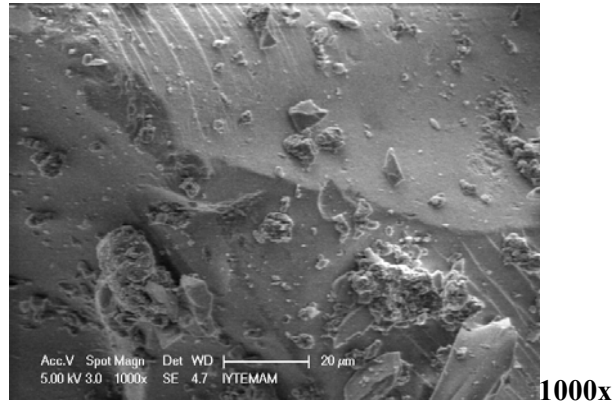
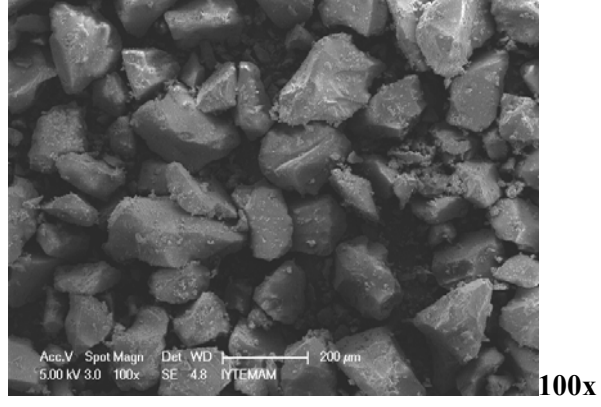


Şekil 4.3. Silika jel üzerine immobilize *Geobacillus toebii* HBB 218'in farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları

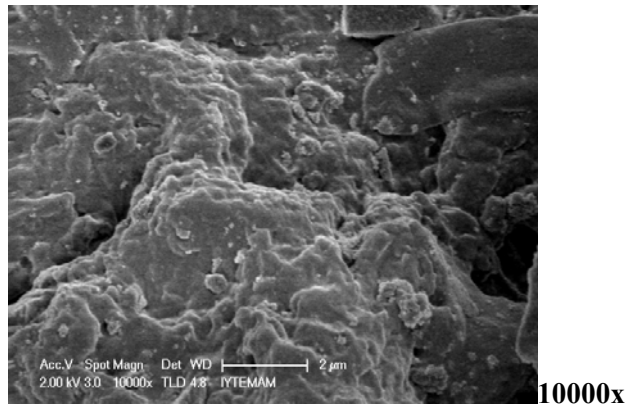
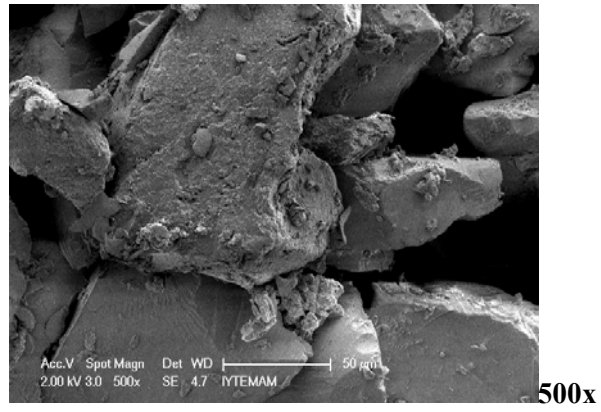
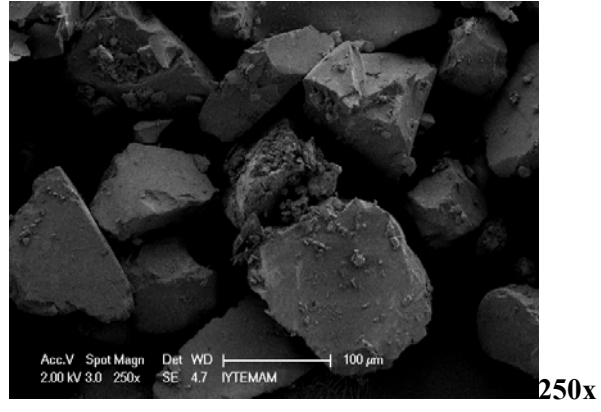




Şekil 4.4. Silika jel üzerine immobilize *Anoxybacillus puschionensis* HBB 246'nın farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları



Şekil 4.5. Silika jel üzerine immobilize *Geobacillus thermoglucosidasius* HBB 269'un farklı büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları



Şekil 4.6. Silika jel üzerine immobilize *Geobacillus toebii* HBB 218'in zenginleştirme işleminde kullanıldıktan sonraki SEM fotoğrafları

Şekil 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5’de yer alan silika jel yüzeyine immobilize bakterilerin SEM fotoğrafları farklı büyütme oranları kullanılarak elde edildi. Şekil 4.1’deki silika jele ait görüntülerde, silika jel yüzeyi boş iken, Şekil 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5’deki bakteri immobilize edilmiş silika jele ait görüntülerde, yüzeylerde görülen pürüzlü yapı bakterilerden kaynaklanmaktadır. Şekil 4.2, 4.3, 4.4 ve 4.5’deki görüntülerde silika jel parçacıklarının yüzeyi üzerinde bakterilerin yayılması görülmektedir. Bazı bölgelerin yüksek yoğunlukla kaplandığı görülürken diğer bölgelerde örtü tamamlanmamış veya boş yüzeyler ortaya çıkmıştır. Şekillerde, bakterilerin bazı bölgelerde bir araya toplanma eğiliminde olduğu görülmektedir. Özellikle *Geobacillus thermoglucosidasius* HBB 269’un 5000 kat büyütülmüş görüntüsünde (Şekil 4.5) silika jel yüzeyindeki bakterilerin miktarının, diğer 5000 kat büyütülmüş görüntülere (Şekil 4.2, 4.3 ve 4.4) göre daha az olduğu görülmektedir. Ancak bu durum, SEM görüntülerinin alınması sırasında materyal üzerinde yaklaşılan bölge ile oldukça ilgilidir. Görüntüler alınırken, materyalin yüzeyinde bakterilerin daha az bulunduğu veya daha çok bulunduğu bölgelere yaklaşılması söz konusu olabilir.

Biyosorbentin zenginleştirme işleminde kullanımı sonrası yüzeyi, yeniden SEM ile görüntülendi. Zenginleştirme işleminden sonra biyosorbent yüzeyinde bozulma olup olmadığını tespit etmek üzere, *Geobacillus toebii* HBB 218’in immobilize edildiği silika jelin SEM fotoğrafları alındı (Şekil 4.6). Biyosorbent, SEM fotoğrafları alınmadan önce kolonda 20 kere soğurum ve desorpsiyon işlemi için kullanıldıktan sonra kolondan alınarak kurutuldu. 20 kere soğurum ve desorpsiyon işleminde kullanıldıktan sonra yüzeyde bir miktar daha immobilize bakterinin bulunduğu Şekil 4.6’da görülmektedir. Silika jel yüzeyinde immobilize bakterilerin bulunması zenginleştirme işlemi için biyosorbentlerin tekrar kullanılabilirliğini göstermektedir.

Ayrıca, zenginleştirme çalışmalarında kolonun doldurulması için hazırlanan biyosorbentlerin üzerine saf su eklendiğinde, su yüzeyinin berrak olduğu görüldü. Silika jel yüzeyine termofilik bakteriler immobilize edildikten sonra elde edilen biyosorbentlerin tek bir faz halinde olduğu, SEM görüntüleri yanı sıra yapılan gözlemler ile belirlendi.

#### 4.2. FT-IR Sonuçları

Bağlanmadan sorumlu fonksiyonel grupların tespit edilmesi amacı ile bakteri biyokütlelerinin FT-IR spektrumları alındı. Metal iyonu içermeyen bakteri biyokütlesine ait FT-IR spektrumları Şekil 4.7, 4.8, 4.9, 4.10'da ve metal iyonu yüklenen iki adet bakteriye ait IR spektrumları Şekil 4.11, 4.12'de verilmektedir.

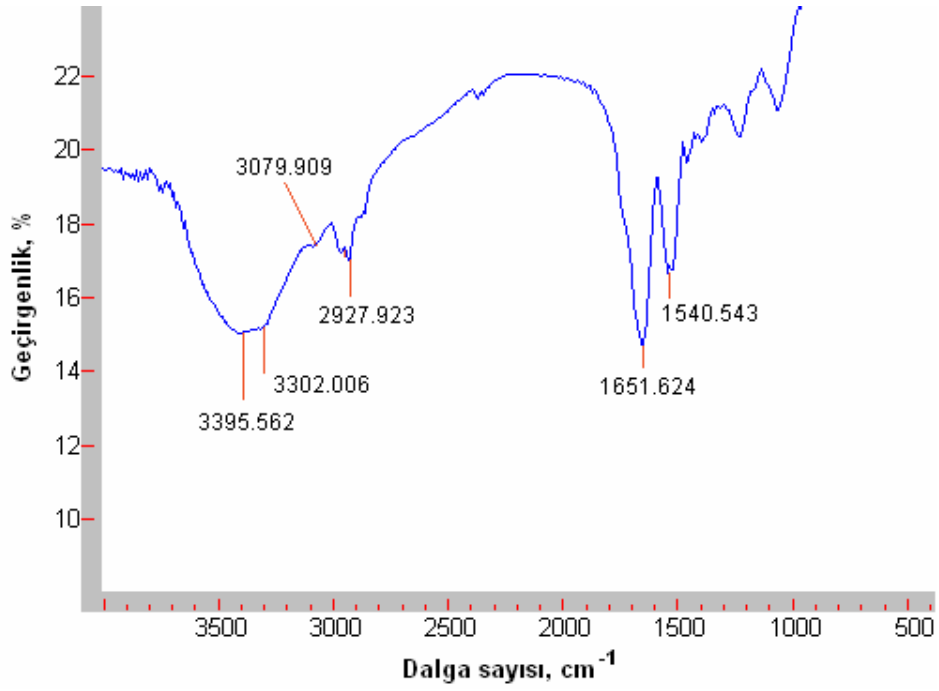
Biyokütle üzerindeki metal iyonlarının biyosoğurumu, biyokütlenin aktif bölgeleri üzerindeki fonksiyonel gruplara bağlıdır. Biyokütle üzerindeki etkileşimler çözeltinin fizikokimyasal koşullarına bağlıdır. Çalışılan metal iyonlarının biyosoğurum mekanizmasını anlamak amacıyla metal iyonu içermeyen tüm bakteriyel biyokütlelerin ve metal iyonu yüklü bakteriyel biyokütlenin sadece iki tanesinin FT-IR spektrumları değerlendirildi.

Metal yüklü olmayan bakteri biyokütlelerinin FT-IR spektrumlarında 3395, 3422 ve 3323  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pikler O-H ve N-H gerilmeleri nedeniyledir. Yaklaşık 2930 ve 2960  $\text{cm}^{-1}$ 'deki ikili pikler, alifatik C-H gerilmelerdir. 1651 ve 1540–1520  $\text{cm}^{-1}$  aralığında görülen pikler ise sırasıyla  $\text{C}=\text{O}$  ve  $\text{C}=\text{C}$ - veya C-N titreşimi nedeniyledir. Bazı spektrumlarda yaklaşık 2400  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pik  $\text{CO}_2$  pikidir ve cihazdan herhangi bir madde için alınan bazı spektrumlarda görülmektedir.

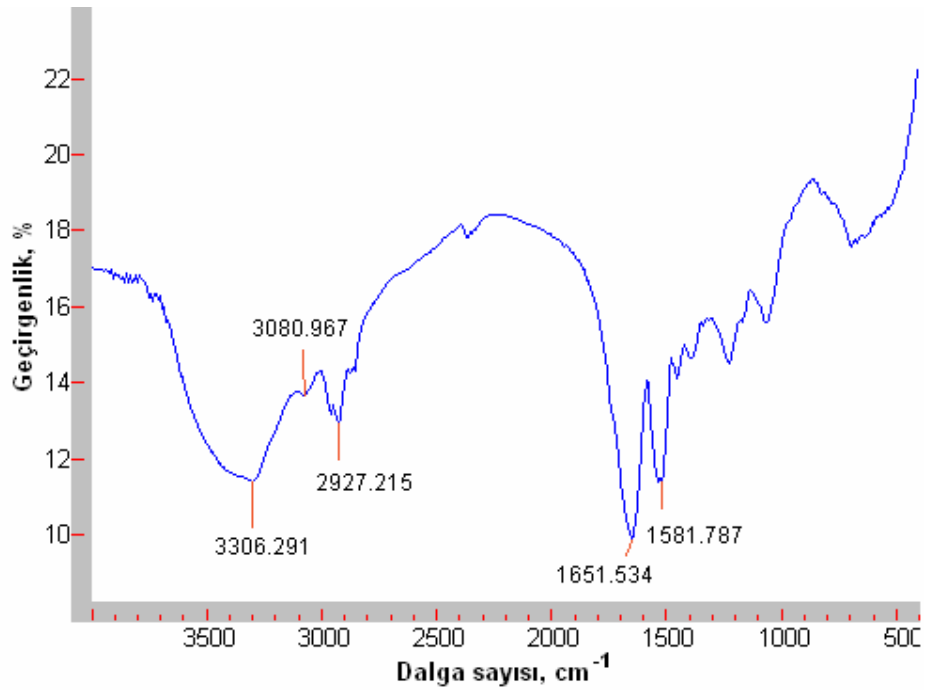
Feo ve Aller (2001), tarafından yapılan çalışmada *Escherichia coli* kültürlerinin FT-IR spektrumları değerlendirilmektedir. 1652.5 ve 1538  $\text{cm}^{-1}$ 'de görülen pikler sırasıyla Amid 1 ( $\text{C}=\text{O}$ ) ve Amid 2 (C-N) piki olarak belirtilmektedir.

Metal iyonu içeren ve içermeyen bakteriyel biyokütlelerin FT-IR spektrum bantları değerlendirildiğinde, bantlarda net bir kayma olmadığı görüldü. Ancak 1651  $\text{cm}^{-1}$ 'de gözlenen pikler metal içermeyen bakteriyel biyokütlenin spektrumlarında keskin bir pik iken, metal iyonu içeren bakteriyel biyokütlenin spektrumlarında bu bant keskinliğini kaybetmekte ve geniş bir banda dönüşmektedir (Şekil 4.11 ve 4.12). Banttaki bu yapısal değişimin nedeni, karbonil grubuna metallerin bağlanması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir.

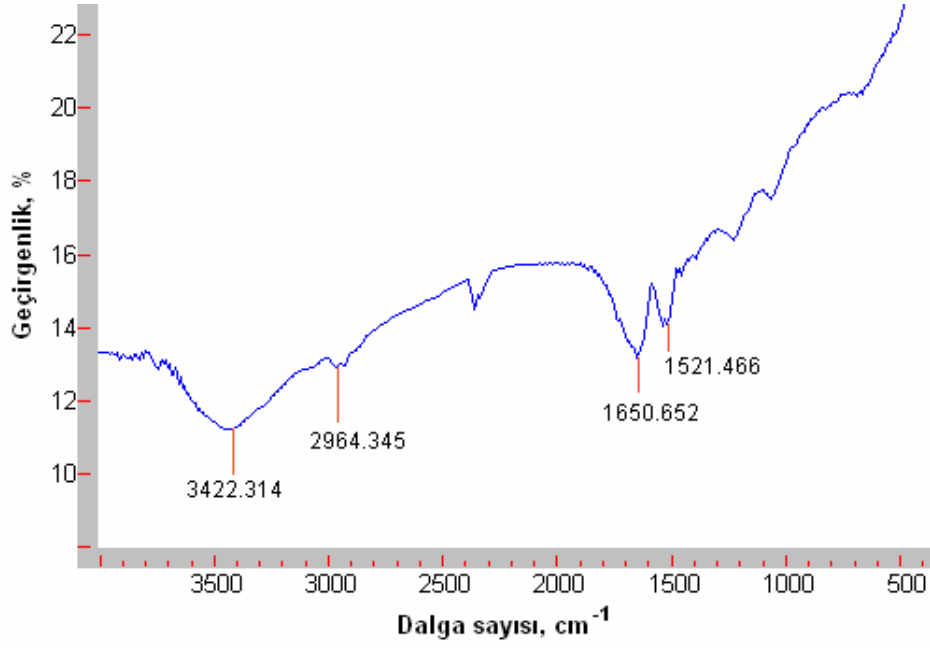
Çalışmada,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$  ile yüklenmiş DSMZ 22'nin FT-IR spektrumları ve  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  ve  $\text{Cd}^{2+}$  ile yüklenmiş HBB 269'un FT-IR spektrumları değerlendirilmiştir. Her iki bakterinin de, farklı metal iyonları ile hemen hemen aynı sonuçları vermesi nedeniyle diğer iki bakteri için çalışma yapılmamıştır.



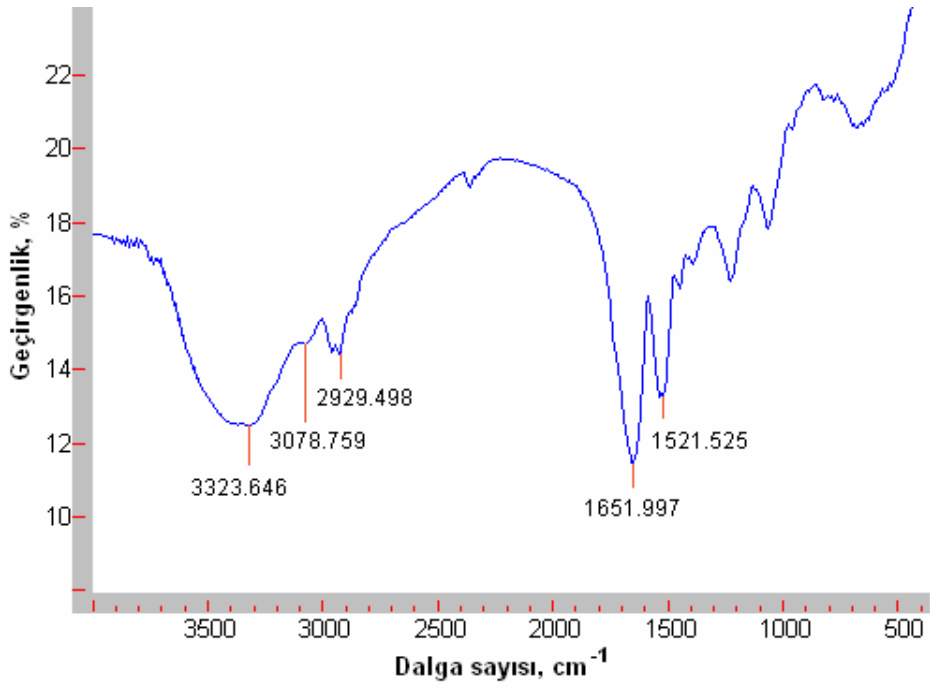
Şekil 4.7. DSMZ 22'ye ait FT-IR spektrumu



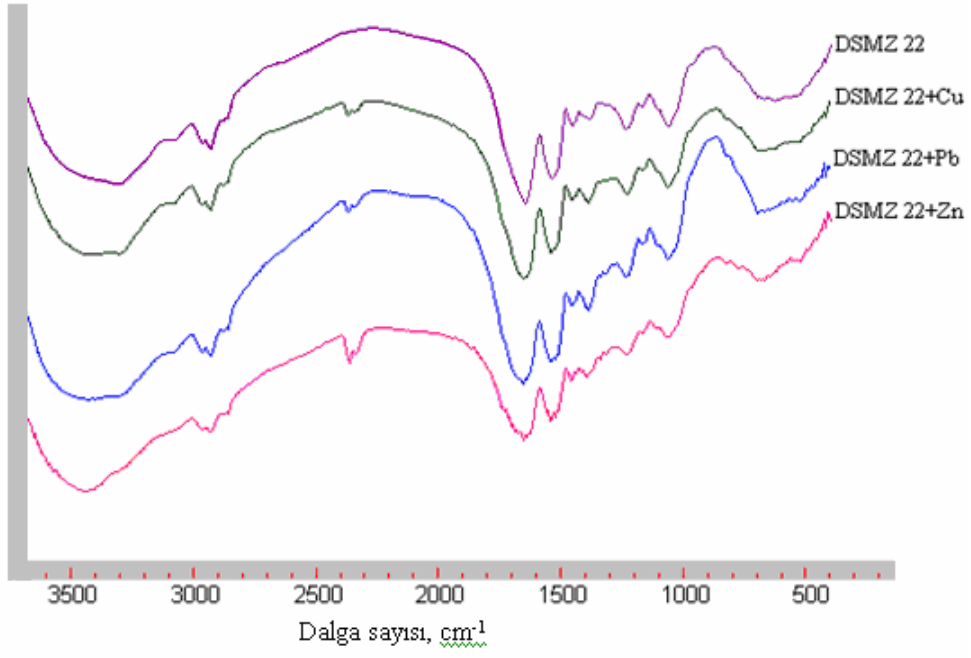
Şekil 4.8. HBB 218'e ait FT-IR spektrumu



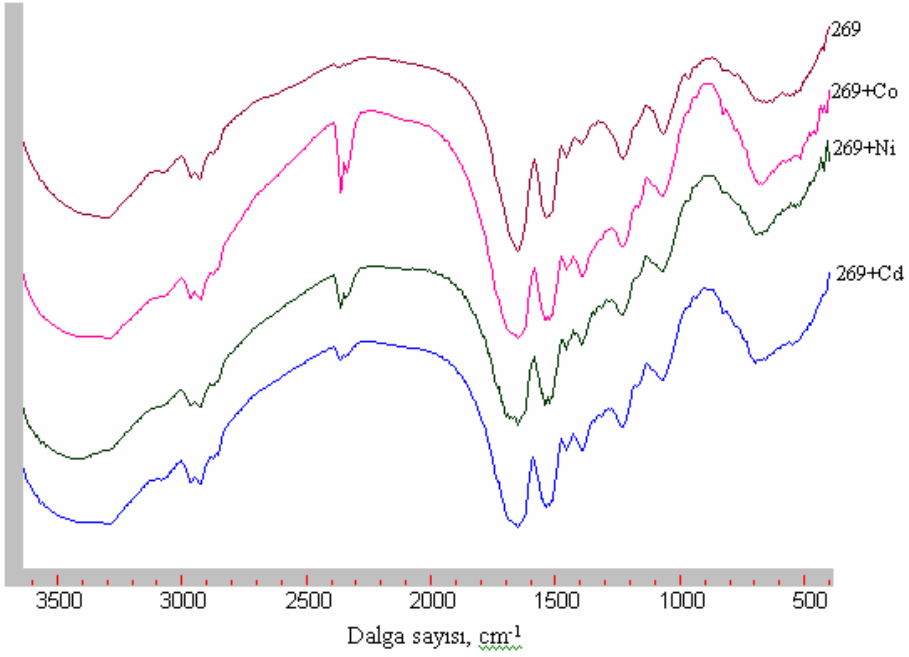
Şekil 4.9. HBB 246'ya ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.10. HBB 269'a ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.11.  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Zn}^{2+}$  ile yüklenmiş DSMZ 22'nin FT-IR spektrumları



Şekil 4.12.  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  ve  $\text{Cd}^{2+}$  ile yüklenmiş HBB 269'un FT-IR spektrumları



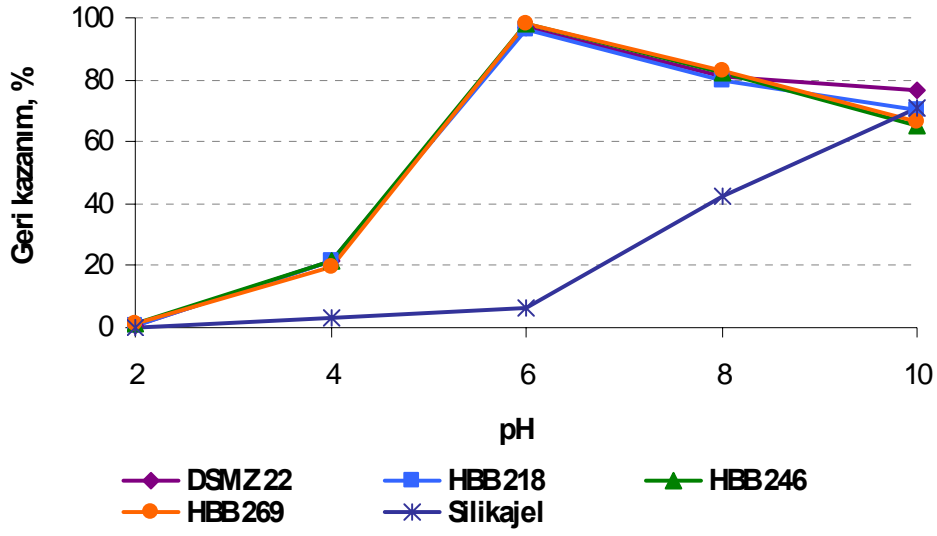
### 4.3. Zenginleştirme Yönteminin Optimum Koşullarının Belirlenmesi

Ayırma ve zenginleştirme şartlarını etkileyen örnek pH'ı, bakteriyel biyokütle miktarı, eluent çözeltisi türü, eluent çözeltisi hacmi, örnek çözeltisi hacmi, örnek çözeltilerinin akış hızı, eluent çözeltilerinin akış hızı ve ortamda bulunabilecek diğer iyonların etkisi gibi analitik parametreler Bölüm 3.5.1–3.5.7'de anlatıldığı şekilde detaylı olarak araştırıldı. Bu analitik parametrelere ilişkin sonuçlar ise aşağıda Bölüm 4.3.1–4.3.7'de verilmektedir.

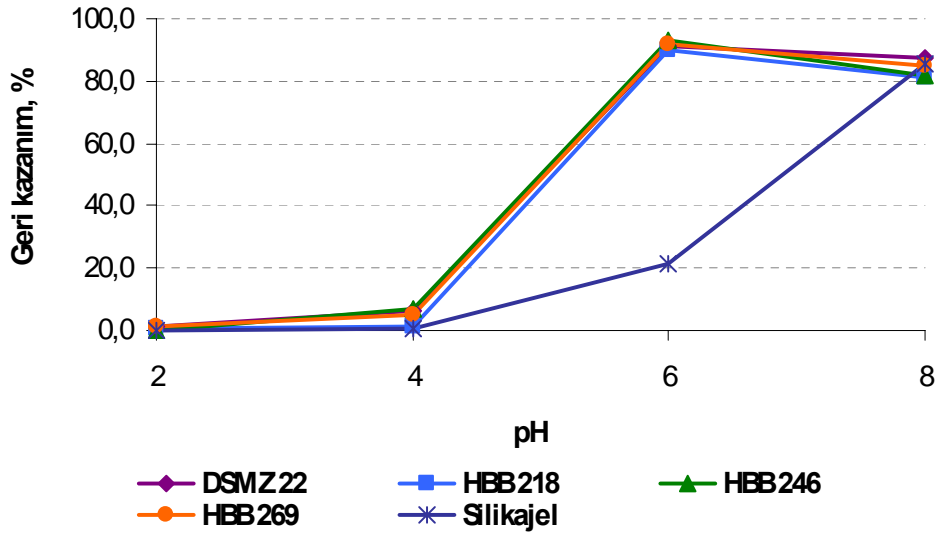
#### 4.3.1. Geri Kazanıma pH Etkisi

Biyosorbent kullanılarak gerçekleştirilen metal iyonlarının zenginleştirilmesindeki pH etkisi, Şekil 4.13, 4.14, 4.15, 4.16, 4.17 ve 4.18'de görülmektedir. Grafikler incelendiğinde, yüksek geri kazanımlar 4 bakteride de  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ve  $\text{Pb}^{2+}$  için pH 6'da,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  için ise pH 8'de gözlemlendi. Çalışılan metal iyonlarının maksimum biyosoğurumunun nötrale yakın pH'larda gerçekleşmesi literatürdeki biyosoğurum çalışmalarının sonuçları ile uyumludur (Bağ vd., 1999; Rangsayatorn vd., 2004; Özdemir vd., 2009). Grafiklerde bakteri immobilize edilmemiş saf silika jele ait sonuçlar da verilmektedir. Silika jel yüzeyinde bulunan silanol grupları, iyonik türlerin bağlanması ve ekstraksiyonu için düşük etkileşime sebep olan zayıf iyon deşitiricilerdir. Silika jel ile yüksek geri kazanımlar pH 8'in üzerindeki değerlerde görülmeye başlandı. Asidik koşullar altında silanol grupları protonlanmaktadır. Böylelikle silika jelin iyon deşitim kapasitesi oldukça azalmakta veya düşük pH'larda sifira kadar azalmaktadır.

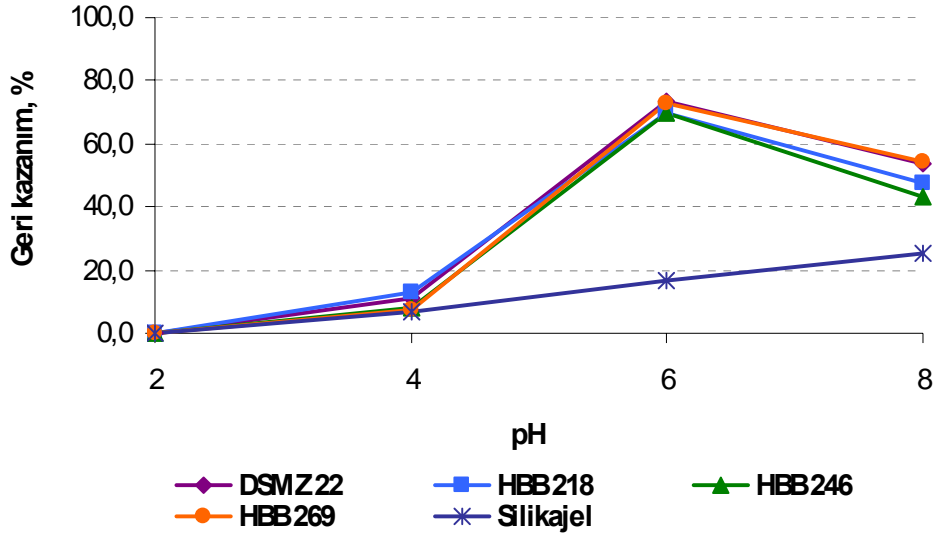
Hüresel bileşenlerin doğası nedeniyle bakteriyel hücre duvarında mevcut, karboksil, fosfonat, amin, amid ve hidroksil grupları gibi pek çok fonksiyonel gruplar vardır. Genelde pH artışı ile hücrelerin yüzeyindeki fonksiyonel gruplar protonlarını kaybederek negatif yük artar. Pek çok metal iyonu için maksimum biyosoğurum, nötr veya zayıf asidik pH'larda gözlenmektedir. Bu durum, çeşitli mekanizmalar yoluyla bağlanan metal iyonları için uygun olan karboksil gruplarına ve diğer asidik fonksiyonel gruplara bağlanma nedeniyledir. Ek olarak metal hidroksit ve diğer metal-ligand komplekslerinin oluşumu yüksek pH'larda soğurulan metal iyonlarının miktarını önemli şekilde azaltır. Daha düşük pH değerlerinde fonksiyonel grupların protonlanması nedeniyle, pozitif yüklerin derişimi artar. Bu durumda anyonların hücrelere daha kuvvetle bağlanması beklenir.



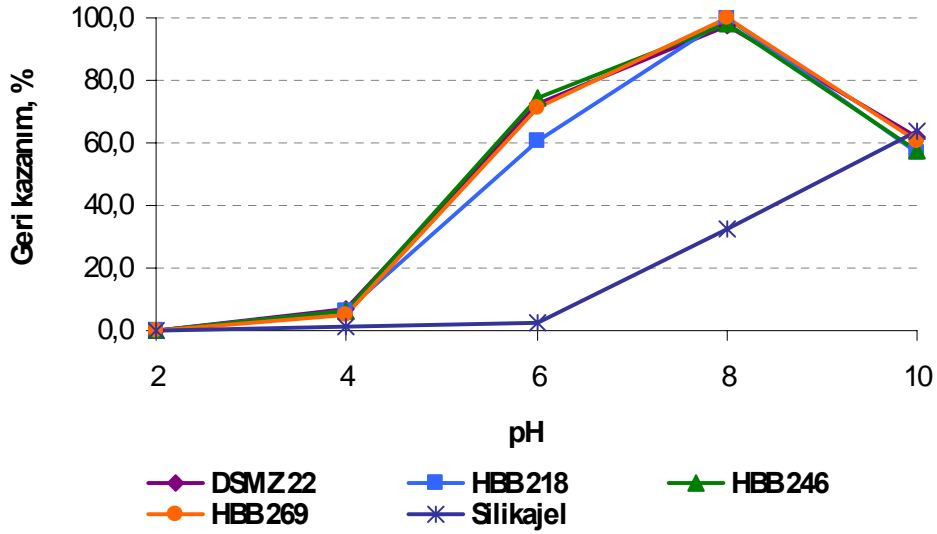
Şekil 4.13.  $\text{Cu}^{2+}$ 'ın geri kazanımı üzerine pH'nın etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Cu}^{2+}$ , 250 mg biyosorbent, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



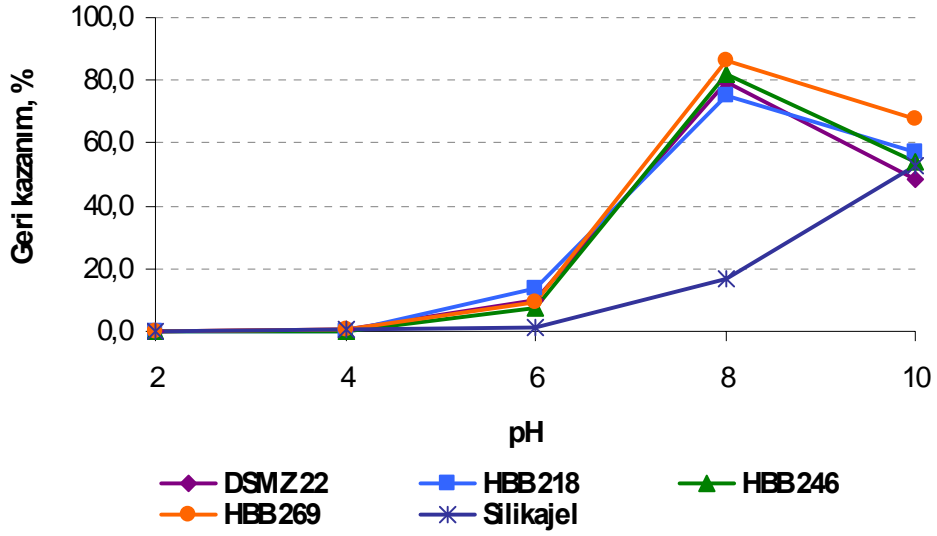
Şekil 4.14.  $\text{Zn}^{2+}$ 'nın geri kazanımı üzerine pH'nın etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Zn}^{2+}$ , 250 mg biyosorbent, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



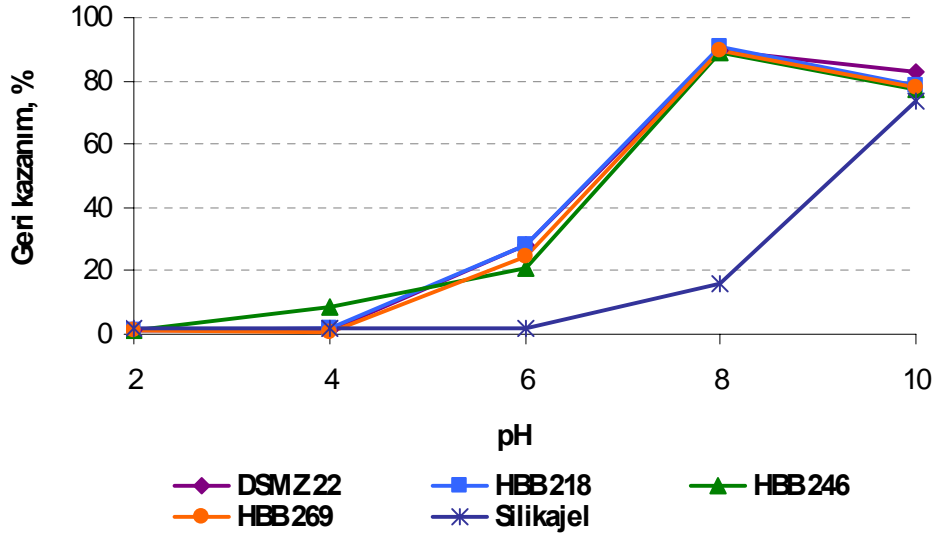
Şekil 4.15.  $Pb^{2+}$ 'un geri kazanımı üzerine pH'nın etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Pb^{2+}$ , 250 mg biyosorbent, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.16.  $Cd^{2+}$ 'un geri kazanımı üzerine pH'nın etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Cd^{2+}$ , 250 mg biyosorbent, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.17.  $\text{Co}^{2+}$ 'in geri kazanımı üzerine pH'nın etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Co}^{2+}$ , 250 mg biyosorbent, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)

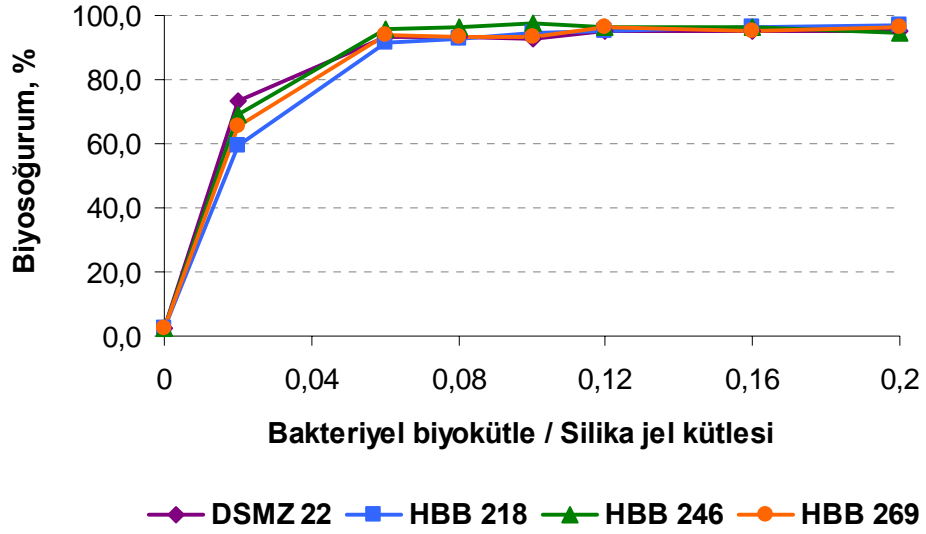


Şekil 4.18.  $\text{Ni}^{2+}$ 'in geri kazanımı üzerine pH'nın etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Ni}^{2+}$ , 250 mg biyosorbent, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)

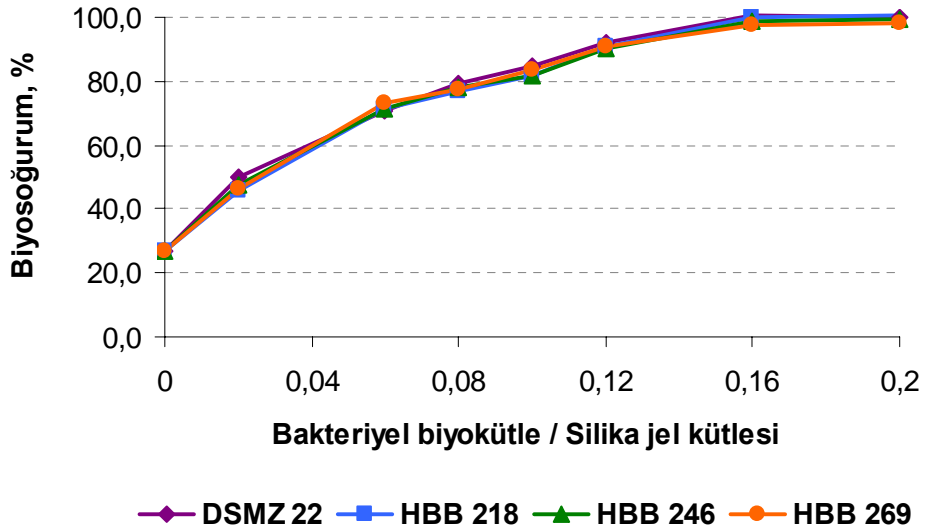
#### 4.3.2. Biyosoğuruma Bakteriyel Biyokütle Miktarının Etkisi

Biyosorbent miktarı, biyosoğurum miktarını güçlü bir şekilde etkiler. Biyokütle derişimindeki artış genellikle biyosorbent yüzey alanını artırdığından dolayı biyosoğurulan maddenin miktarı da artar. Biyosorbentin boyutu da biyosoğurumda önemli bir rol oynamaktadır. Daha küçük boyutlu tanecikler daha fazla yüzey alanına sahiptir ve daha kısa denge süreleri söz konusudur.

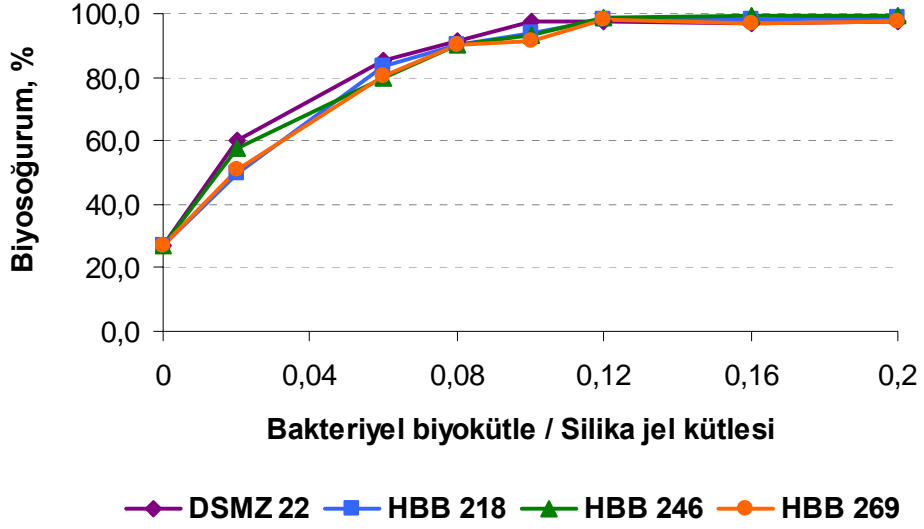
Silika jel kütlesi sabit olmak üzere bakteriyel biyokütlenin silika jele olan oranı artırılarak bakteriyel biyokütlenin biyosoğurum üzerine olan etkisi her bir metal için ayrı ayrı araştırıldı. Sonuçlara ilişkin grafikler, Şekil 4.19, 4.20, 4.21, 4.22, 4.23 ve 4.24'de verilmektedir. Bakteriyel biyokütlenin silika jel kütlesine olan oranı artırıldığında her metal iyonu için biyosoğurumun arttığı ve belli bir noktadan sonra sabit kaldığı görülmektedir. Bakteriyel biyokütlenin silika jel kütlesine oranının biyosoğurum yüzdesine karşı çizildiği grafiklerde biyosoğurum yüzdesinin sabit kalmaya başladığı oran her bir metal iyonu için değişmektedir. Biyokütle/silika jel oranının, Cu için 0.06, Zn için 0.16, Cd için 0.12, Co için 0.16, Pb için 0.16 ve Ni için 0.12'den itibaren sabit kalmaya başladığı grafiklerden görülmektedir. Tüm metal iyonları için ortak bir oran olan 0.16 oranı kullanılarak biyosorbentler hazırlandı ve bu biyosorbentler diğer parametrelerin optimizasyonunda kullanıldı. Bu 0.16 oranı, 250 mg silika jel kütlesi üzerine 40 mg bakteriyel biyokütlenin immobilizasyonu sonucu elde edildi. Toplam biyosorbent kütlesi 290 mg'a karşılık gelmektedir. Çalışılan yöntemde bakteriyel biyokütle miktarının biyosoğurum üzerine olan etkileri araştırıldı ancak biyosorbent (biyokütle + silika jel) miktarının etkisi araştırılmamıştır. Biyosorbent miktarının artırılması ile kolondaki yatak yüksekliği arttığından, eluent çözeltisinin hacmi artmaktadır. Bunun sonucu olarak da daha düşük zenginleştirme faktörleri elde edilmektedir. Kolona doldurulan biyosorbent kütlesi ile elde edilen geri kazanımların yüksek olması nedeniyle biyosorbent kütlesinin etkisi araştırılmamıştır.



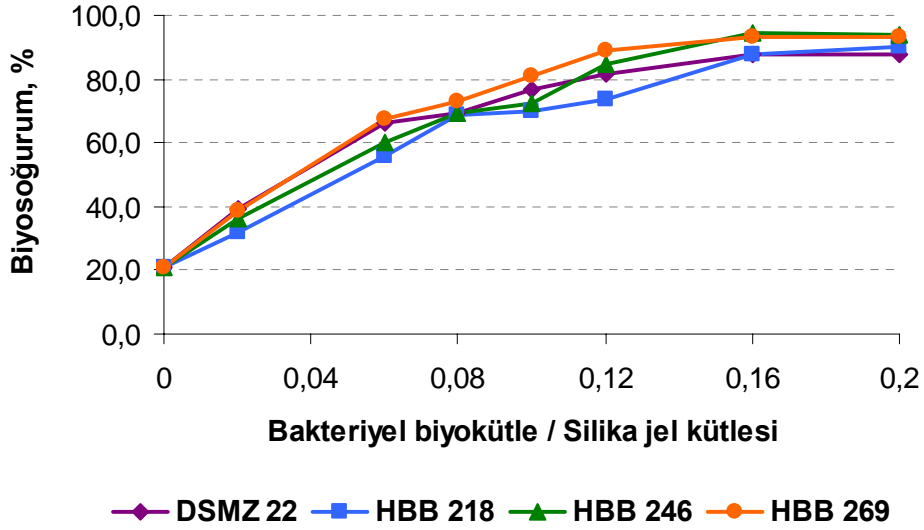
Şekil 4.19.  $\text{Cu}^{2+}$ 'ın biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Cu}^{2+}$ , pH: 6, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



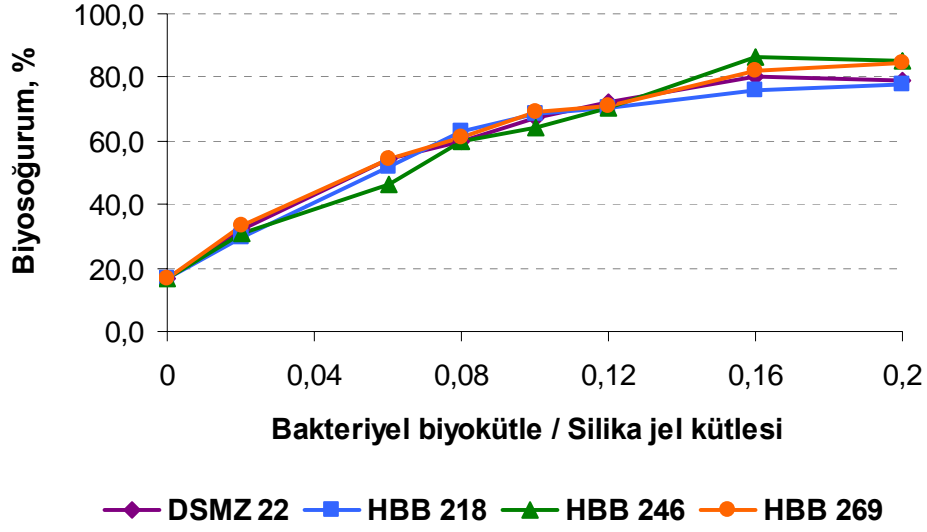
Şekil 4.20.  $\text{Zn}^{2+}$ 'nin biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Zn}^{2+}$ , pH: 6, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



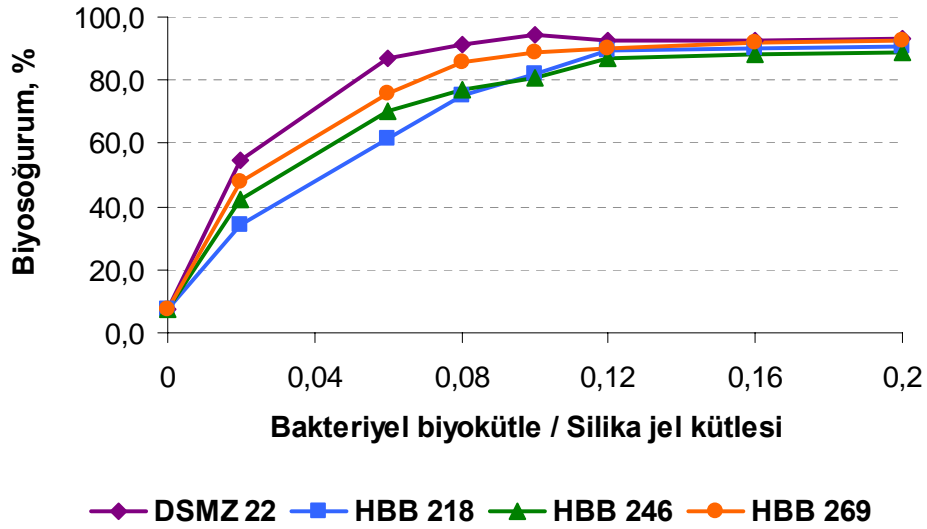
Şekil 4.21.  $Cd^{2+}$ 'ın biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Cd^{2+}$ , pH: 8, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.22.  $Co^{2+}$ 'ın biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Co^{2+}$ , pH: 8, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.23.  $Pb^{2+}$ 'un biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Pb^{2+}$ , pH: 6, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.24.  $Ni^{2+}$ 'in biyosoğurumuna bakteriyel biyokütle miktarının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Ni^{2+}$ , pH: 8, akış hızı: 4 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



### 4.3.3. Eluent Türünün Desorpsiyona Etkisi

Kolonda tutulan metallerin yüksek geri kazanımlarının elde edilmesini sağlayan eluent ve eluent derişimi tespit edilmeye çalışıldı. Literatürde bu amaçla en çok kullanılan HCl ve HNO<sub>3</sub> çözeltilerinin çeşitli derişimleri çalışıldı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1, 4.2, 4.3, 4.4, 4.5 ve 4.6'da verilmektedir. Burada kullanılan eluent çözeltilisinin hacmi 10 mL kullanılarak sabit tutuldu.

Ni<sup>2+</sup> iyonu haricindeki metal iyonları için yüksek geri kazanımlar 1.0 M HCl çözeltilisi ile elde edildi. Ancak Ni<sup>2+</sup> iyonu için 1.0 M HNO<sub>3</sub> çözeltilisi eluent olarak tercih edildi. Ni<sup>2+</sup> iyonu için 1.0 M HCl çözeltilisi ile elde edilen geri kazanımların da düşük olduğu söylenemez. Ancak HNO<sub>3</sub> çözeltilerinin diğer derişimlerinin sonuçlarının neredeyse tümü % 95'in üzerindedir. Bu nedenle 1 M HNO<sub>3</sub> çözeltilisinin Ni<sup>2+</sup> iyonu için daha uygun bir eluent olduğuna karar verildi ve takip eden deneylerde bu çözeltili kullanıldı.

Literatürde biyosoğurumun kullanıldığı zenginleştirme çalışmalarında başta HCl ve HNO<sub>3</sub> çözeltileri olmak üzere pek çok çözeltili eluent olarak kullanılmıştır. Öncelikli olarak en çok kullanılan HCl ve HNO<sub>3</sub> çözeltileri denendi ve bu çözeltiler ile yeterli yüksek geri kazanımların elde edilmesi nedeni ile diğer çözeltiler çalışılmadı.

Çizelge 4.1. Cu<sup>2+</sup>'in desorpsiyonuna eluent türünün etkisi (N=3)

Eluent	Bakteri türü			
	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
0.5 M HCl	90 ± 3*	92 ± 1	94 ± 4	93 ± 4
1.0 M HCl	95 ± 2	97 ± 3	98 ± 2	96 ± 3
1.5 M HCl	92 ± 5	94 ± 2	98 ± 3	92 ± 4
2.0 M HCl	93 ± 3	94 ± 4	97 ± 3	93 ± 2
0.5 M HNO <sub>3</sub>	88 ± 4	89 ± 3	87 ± 3	90 ± 2
1.0 M HNO <sub>3</sub>	90 ± 3	91 ± 2	90 ± 4	91 ± 1
1.5 M HNO <sub>3</sub>	90 ± 2	92 ± 5	92 ± 2	90 ± 3
2.0 M HNO <sub>3</sub>	90 ± 3	90 ± 3	93 ± 3	92 ± 4

\* Ortalama ± S. Sapma

(50 mL 0.2 ppm Cu<sup>2+</sup>, 290 mg biyosorbent, pH: 6, akış hızı: 1 mL/min, eluent hacmi: 10 mL)

Çizelge 4.2. Zn<sup>2+</sup>'nin desorpsiyonuna eluent türünün etkisi (N=3)

Eluent	Bakteri türü			
	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
0.5 M HCl	97 ± 4*	97 ± 2	95 ± 2	94 ± 3
1.0 M HCl	99 ± 1	98 ± 2	97 ± 1	97 ± 2
1.5 M HCl	98 ± 2	97 ± 2	98 ± 3	96 ± 3
2.0 M HCl	99 ± 4	97 ± 3	96 ± 2	95 ± 4
0.5 M HNO <sub>3</sub>	93 ± 1	92 ± 2	93 ± 3	91 ± 2
1.0 M HNO <sub>3</sub>	94 ± 1	93 ± 3	93 ± 3	92 ± 3
1.5 M HNO <sub>3</sub>	96 ± 3	96 ± 4	97 ± 3	96 ± 2
2.0 M HNO <sub>3</sub>	95 ± 2	96 ± 5	95 ± 4	97 ± 3

\* Ortalama ± S. Sapma

(50 mL 0.2 ppm Zn<sup>2+</sup>, 290 mg biyosorbent, pH: 6, akış hızı: 1 mL/min, eluent hacmi: 10 mL)Çizelge 4.3. Cd<sup>2+</sup>'un desorpsiyonuna eluent türünün etkisi (N=3)

Eluent	Bakteri türü			
	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
0.5 M HCl	95 ± 2*	93 ± 3	91 ± 2	93 ± 1
1.0 M HCl	98 ± 2	99 ± 2	97 ± 1	96 ± 2
1.5 M HCl	96 ± 3	98 ± 2	97 ± 3	91 ± 4
2.0 M HCl	98 ± 3	96 ± 4	95 ± 3	92 ± 2
0.5 M HNO <sub>3</sub>	95 ± 3	92 ± 3	93 ± 2	96 ± 5
1.0 M HNO <sub>3</sub>	92 ± 4	95 ± 2	92 ± 4	92 ± 4
1.5 M HNO <sub>3</sub>	93 ± 2	95 ± 3	93 ± 4	93 ± 3
2.0 M HNO <sub>3</sub>	95 ± 3	96 ± 4	94 ± 3	94 ± 3

\* Ortalama ± S. Sapma

(50 mL 0.2 ppm Cd<sup>2+</sup>, 290 mg biyosorbent, pH: 8, akış hızı: 1 mL/min, eluent hacmi: 10 mL)

Çizelge 4.4. Co<sup>2+</sup> in desorpsiyonuna eluent türünün etkisi (N=3)

Eluent	Bakteri türü			
	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
0.5 M HCl	90 ± 4*	92 ± 3	94 ± 4	93 ± 4
1.0 M HCl	93 ± 2	94 ± 3	98 ± 3	95 ± 2
1.5 M HCl	94 ± 2	94 ± 2	95 ± 4	94 ± 3
2.0 M HCl	92 ± 2	94 ± 3	95 ± 2	91 ± 5
0.5 M HNO <sub>3</sub>	87 ± 4	85 ± 3	90 ± 3	88 ± 3
1.0 M HNO <sub>3</sub>	89 ± 3	87 ± 2	91 ± 4	89 ± 2
1.5 M HNO <sub>3</sub>	88 ± 3	89 ± 3	93 ± 4	92 ± 5
2.0 M HNO <sub>3</sub>	89 ± 4	89 ± 4	92 ± 3	87 ± 4

\* Ortalama ± S. Sapma

(50 mL 0.2 ppm Co<sup>2+</sup>, 290 mg biyosorbent, pH: 8, akış hızı: 1 mL/min, eluent hacmi: 10 mL)Çizelge 4.5. Pb<sup>2+</sup> un desorpsiyonuna eluent türünün etkisi (N=3)

Eluent	Bakteri türü			
	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
0.5 M HCl	92 ± 4*	91 ± 3	92 ± 4	94 ± 3
1.0 M HCl	97 ± 3	94 ± 2	99 ± 1	97 ± 2
1.5 M HCl	95 ± 1	94 ± 1	95 ± 2	95 ± 3
2.0 M HCl	93 ± 2	93 ± 4	96 ± 4	95 ± 4
0.5 M HNO <sub>3</sub>	91 ± 1	91 ± 3	91 ± 2	89 ± 2
1.0 M HNO <sub>3</sub>	96 ± 3	92 ± 4	96 ± 2	92 ± 3
1.5 M HNO <sub>3</sub>	94 ± 3	89 ± 2	94 ± 3	93 ± 3
2.0 M HNO <sub>3</sub>	94 ± 4	90 ± 5	94 ± 5	92 ± 4

\* Ortalama ± S. Sapma

(50 mL 0.2 ppm Pb<sup>2+</sup>, 290 mg biyosorbent, pH: 6, akış hızı: 1 mL/min, eluent hacmi: 10 mL)

Çizelge 4.6. Ni<sup>2+</sup>'in desorpsiyonuna eluent türünün etkisi (N=3)

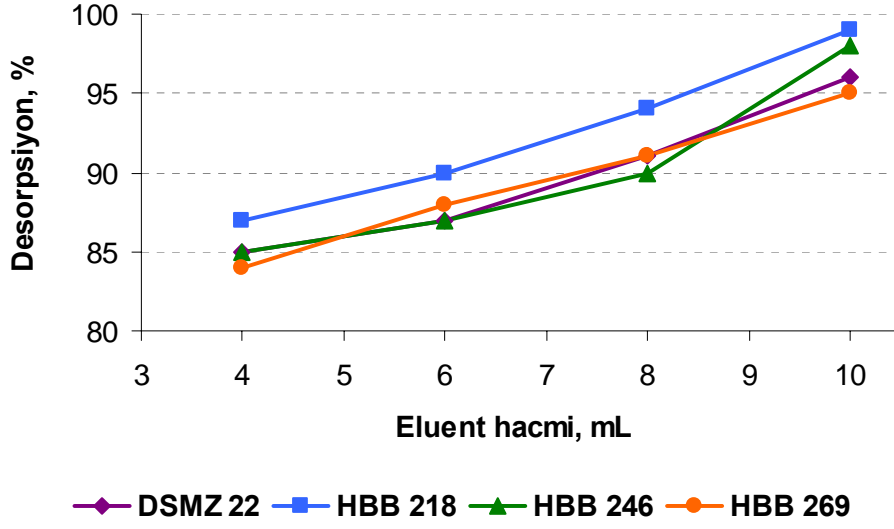
Eluent	Bakteri türü			
	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
0.5 M HCl	92 ± 3*	95 ± 4	93 ± 2	92 ± 3
1.0 M HCl	97 ± 3	95 ± 3	94 ± 1	94 ± 2
1.5 M HCl	94 ± 3	93 ± 2	92 ± 2	90 ± 3
2.0 M HCl	91 ± 4	92 ± 4	93 ± 3	91 ± 4
0.5 M HNO <sub>3</sub>	96 ± 3	94 ± 3	93 ± 4	98 ± 2
1.0 M HNO <sub>3</sub>	97 ± 1	97 ± 2	96 ± 2	99 ± 3
1.5 M HNO <sub>3</sub>	95 ± 3	96 ± 3	94 ± 4	98 ± 2
2.0 M HNO <sub>3</sub>	95 ± 3	96 ± 4	95 ± 3	99 ± 1

\* Ortalama ± S. Sapma

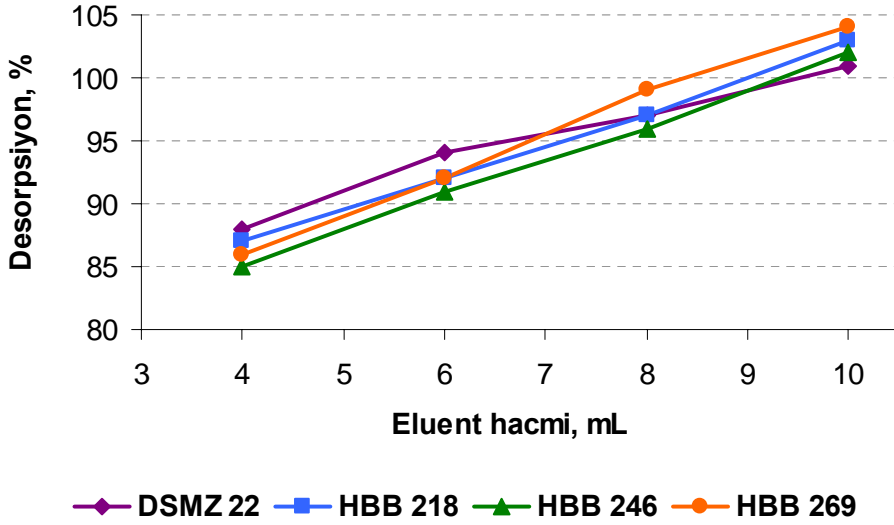
(50 mL 0.2 ppm Ni<sup>2+</sup>, 290 mg biyosorbent, pH: 8, akış hızı: 1 mL/min, eluent hacmi: 10 mL)

#### 4.3.4. Eluent Hacminin Desorpsiyona Etkisi

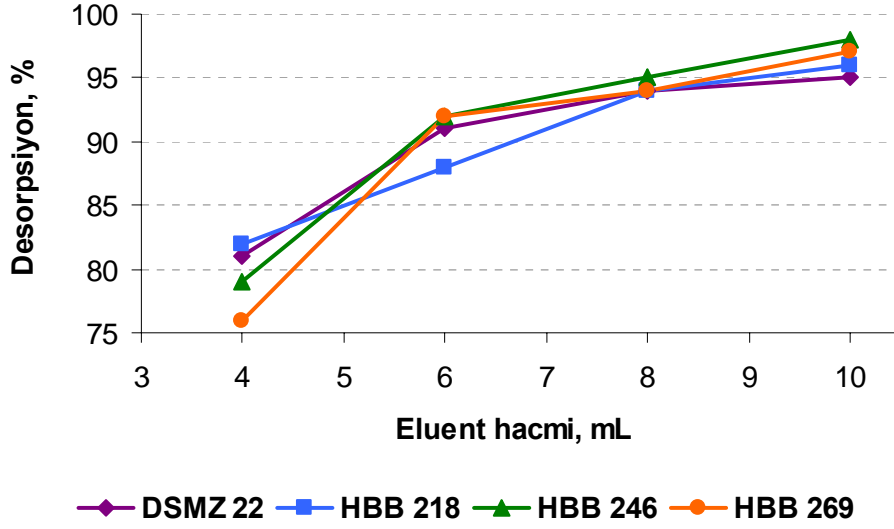
1 M HCl'in Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup>, Cd<sup>2+</sup>, Co<sup>2+</sup> ve Pb<sup>2+</sup> iyonları için uygun eluent olduğu, 1 M HNO<sub>3</sub>'ün ise Ni<sup>2+</sup> iyonu için uygun eluent olduğu daha önceki çalışmalarda tespit edilmişti ve bu çözeltilerin 10 mL'si kullanılmıştı. Eluent hacmi, zenginleştirme faktörünü etkilemektedir. Eluent hacmi azaldıkça zenginleştirme faktörü artmaktadır. Bu nedenden dolayı eluent hacminin etkisi, 4, 6, 8, 10 mL gibi daha küçük eluent hacimleri kullanılarak araştırıldı. Sonuçlar Şekil 4.25, 4.26, 4.27, 4.28, 4.29 ve 4.30'da verilmektedir. Grafiklerden eluent hacminin azalması ile geri kazanımların da azaldığı görülmektedir. Zn<sup>2+</sup> iyonu için 8 ve 10 mL 1 M HCl çözeltileri kullanılarak % 95'in üzerinde geri kazanımlar elde edildi. Diğer metal iyonları için eluentin 10 mL'si ile % 95'in üzerinde geri kazanımlar, eluentin 8 mL'si ile yaklaşık % 90–95 aralığındaki geri kazanımlar elde edildi.



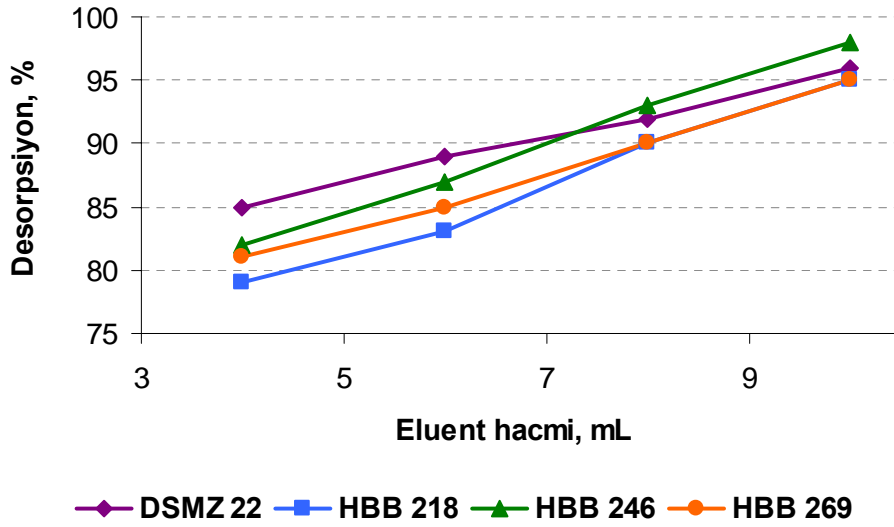
Şekil 4.25.  $\text{Cu}^{2+}$ 'ın desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Cu}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 1 M HCl)



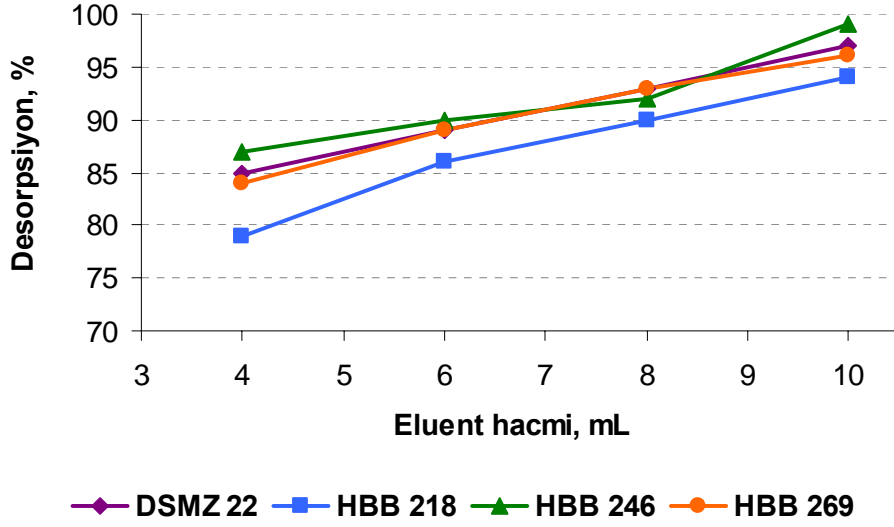
Şekil 4.26.  $\text{Zn}^{2+}$ 'nın desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Zn}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 1 M HCl)



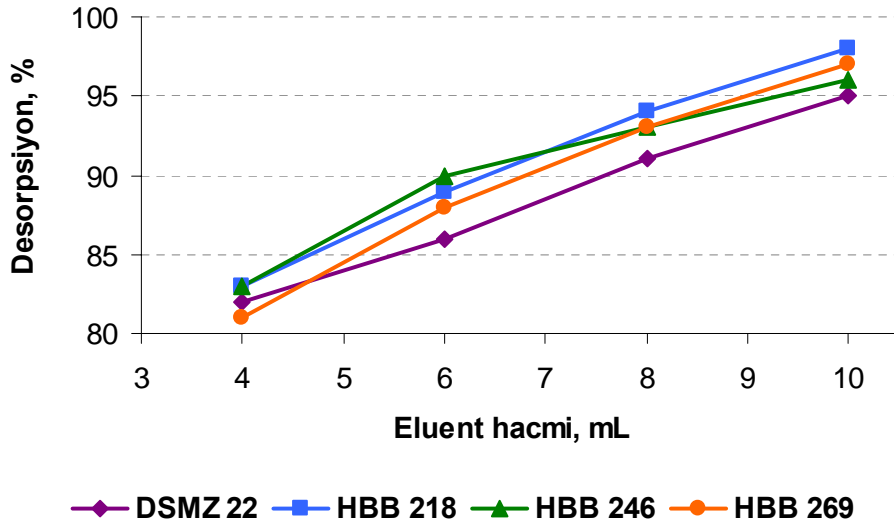
Şekil 4.27.  $\text{Cd}^{2+}$ 'un desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Cd}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 1 M HCl)



Şekil 4.28.  $\text{Co}^{2+}$ 'ın desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Co}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 1 M HCl)



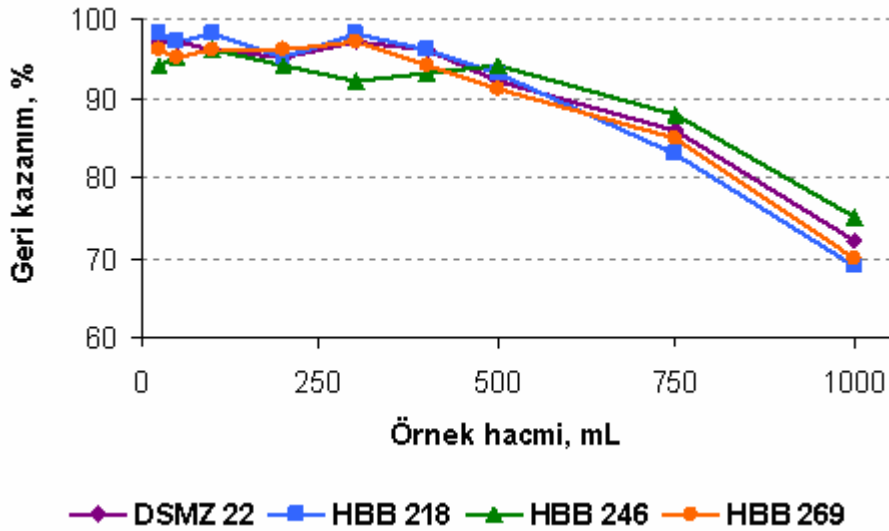
Şekil 4.29.  $Pb^{2+}$ 'un desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Pb^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 1 M HCl)



Şekil 4.30.  $Ni^{2+}$ 'in desorpsiyonuna eluent hacminin etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Ni^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 1 M  $HNO_3$ )

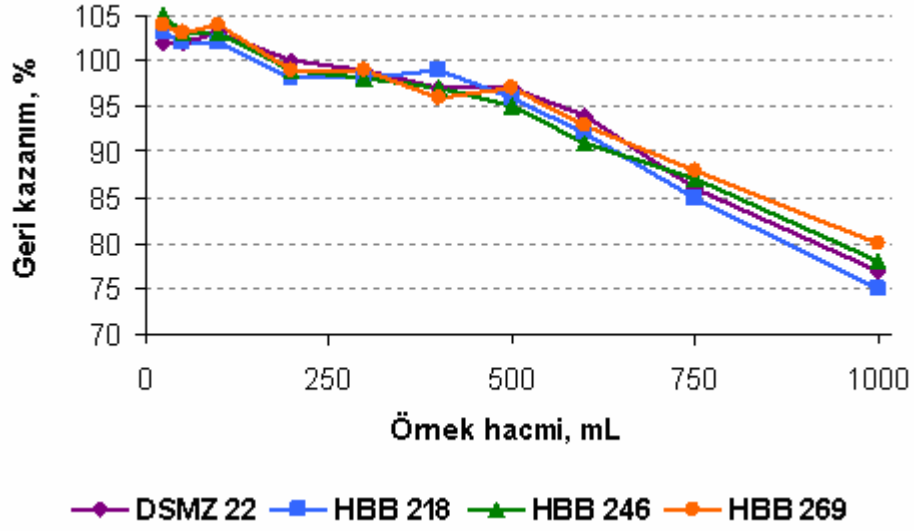
#### 4.3.5. Geri Kazanıma Örnek Çözeltisi Hacminin Etkisi

Örnek çözeltisi hacminin etkisi araştırılırken, çözeltinin içerdiği madde miktarı sabit tutularak çözeltinin hacmi artırıldı ve böylelikle giderek derişimi azalan bir seri çözeltiler elde edildi. Bu çözeltiler daha önce hazırlanan kolonlardan geçirildikten sonra uygun eluent ile elue edildi. Kantitatif geri kazanımların elde edildiği en yüksek hacmin belirlenmesi, zenginleştirme faktörünün hesaplanması açısından önemlidir. Zenginleştirme faktörü, kantitatif sonuçların elde edildiği örnek çözeltisi hacminin eluent hacmine bölünmesi ile hesaplanır. Kantitatif sonuçların elde edildiği örnek hacminin artması ile yüksek geri kazanımlar elde edilir. Sonuçlar, Şekil 4.31, 4.32, 4.33, 4.34, 4.35 ve 4.36'da verilmektedir.  $Zn^{2+}$  için 600 mL,  $Cu^{2+}$  ve  $Ni^{2+}$  için 500 mL,  $Cd^{2+}$  ve  $Co^{2+}$  için 400 mL,  $Pb^{2+}$  için ise 100 mL % 90'nın üzerinde geri kazanımların elde edildiği en yüksek örnek hacimleridir. Bu hacimlerden sonra örnek hacimleri arttırılmaya devam edildiğinde geri kazanımlar azalmaktadır. Geri kazanımların azalması, çözeltilerdeki seyrelmenin artması veya kolonda tutulan metallerin bir süre sonra kolondan sızması nedeniyle olabilir. Tüm iyonlar için kullanılan eluent hacmi 10 mL'dir. Kolondan geçirilen çözelti hacminin eluent hacmine bölünmesi ile zenginleştirme faktörü hesaplandı. Böylelikle  $Cu^{2+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Cd^{2+}$ ,  $Co^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ve  $Ni^{2+}$  için zenginleştirme faktörleri sırasıyla 50, 60, 40, 40, 10 ve 50 olarak hesaplandı.

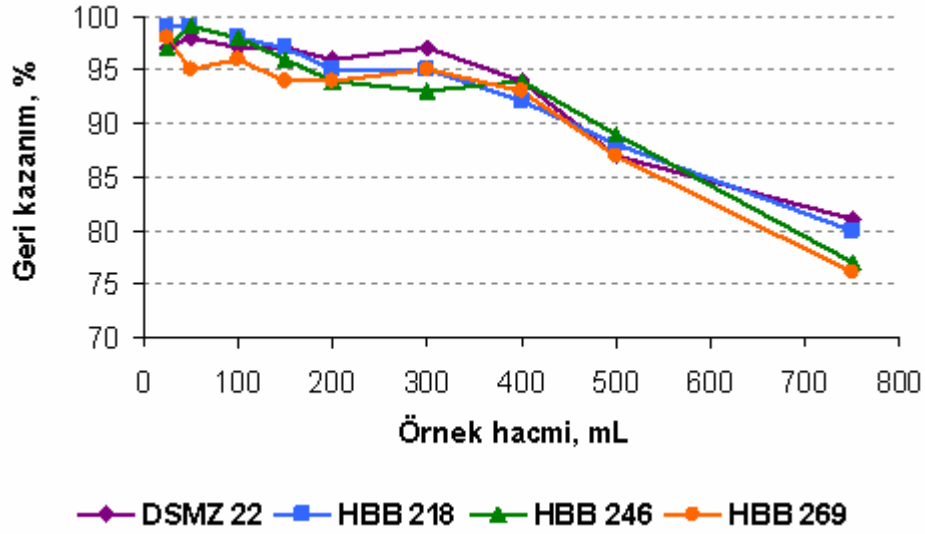


Şekil 4.31.  $Cu^{2+}$ 'ın geri kazanımına örnek hacminin etkisi (N=3)  
(10  $\mu g$   $Cu^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)

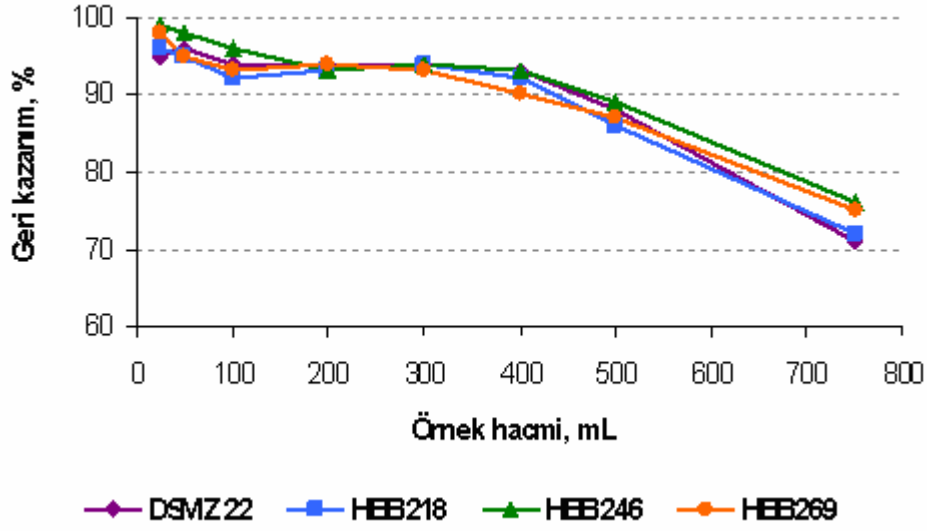




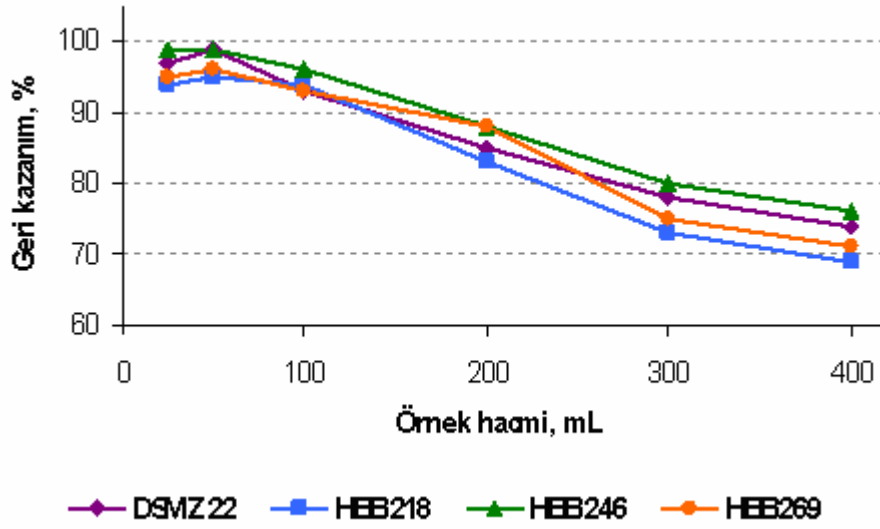
Şekil 4.32.  $Zn^{2+}$ 'nin geri kazanımına örnek hacminin etkisi (N=3)  
( $10 \mu g Zn^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



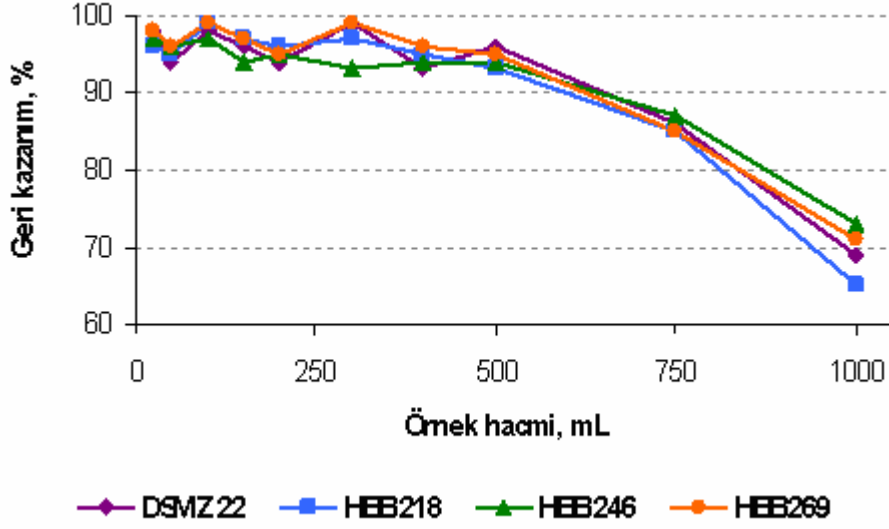
Şekil 4.33.  $Cd^{2+}$ 'un geri kazanımına örnek hacminin etkisi (N=3)  
( $10 \mu g Cd^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.34.  $\text{Co}^{2+}$ 'ın geri kazanımına örnek hacminin etkisi (N=3)  
( $10 \mu\text{g Co}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.35.  $\text{Pb}^{2+}$ 'un geri kazanımına örnek hacminin etkisi (N=3)  
( $10 \mu\text{g Pb}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HCl)

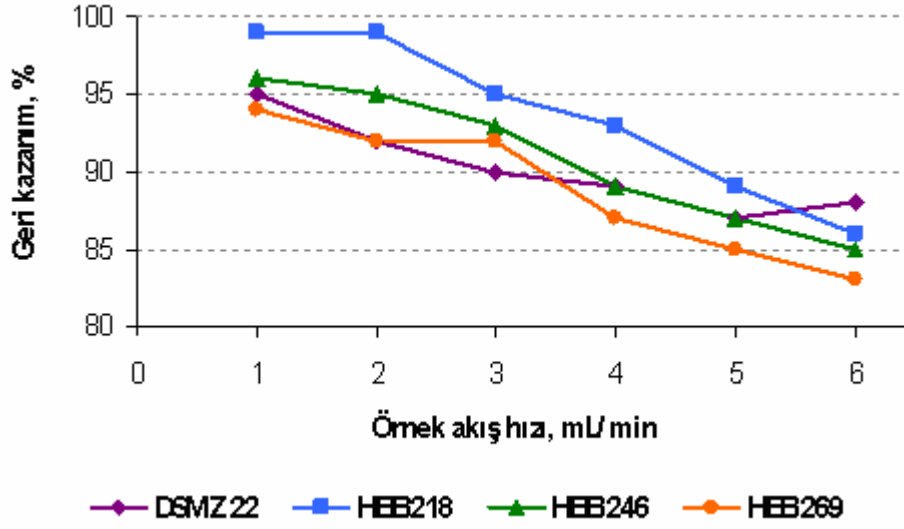


Şekil 4.36. Ni<sup>2+</sup>'in geri kazanımına örnek hacminin etkisi (N=3)  
(10 µg Ni<sup>2+</sup>, 290 mg biyosorbent, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 10 mL 1 M HNO<sub>3</sub>)

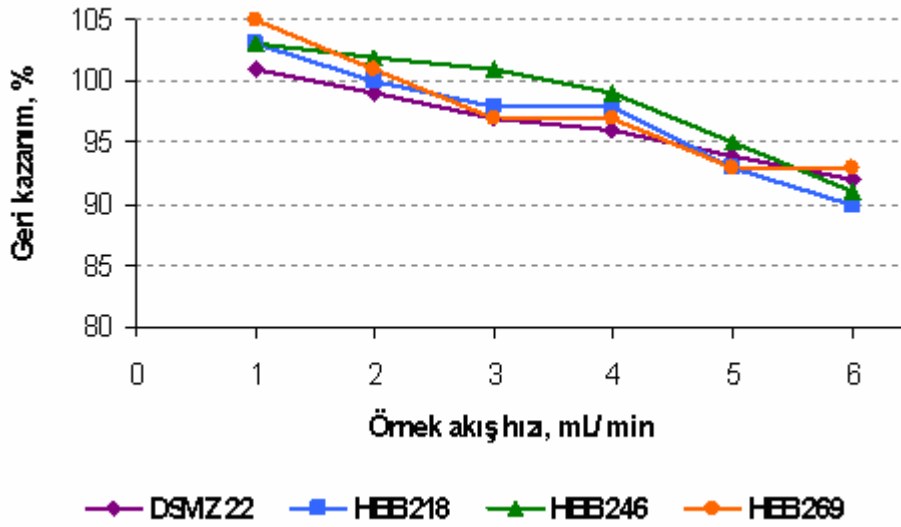
#### 4.3.6. Geri Kazanıma Örnek ve Eluent Çözeltisi Akış Hızının Etkisi

Zenginleştirme işleminde örnek ve eluent akış hızının etkisi tüm metal iyonları için 1–6 mL/min aralığında incelendi. Sonuçlar Şekil 4.37–4.48 aralığındaki şekillerde verilmektedir. Örnek akış hızı analitlerin etkin bir şekilde tutulmasını sağlayacak kadar düşük olmalı ve aşırı beklemeyi önleyecek kadar da yüksek olmalıdır. Pb<sup>2+</sup> iyonu haricindeki tüm iyonların geri kazanımlarında örnek akış hızının bir dereceye kadar etkili olduğu görülmektedir. Pb<sup>2+</sup> iyonunun geri kazanımı akış hızından diğer iyonlara göre daha çok etkilenmektedir. Örnek akış hızının azalması ile tüm iyonların geri kazanımları artmaktadır. Zn<sup>2+</sup> için tüm akış hızlarında, Cu<sup>2+</sup> için 3-4 mL/min, Cd<sup>2+</sup> için 5 mL/min, Co<sup>2+</sup> için 5 mL/min, Pb<sup>2+</sup> için 2 mL/min ve Ni<sup>2+</sup> için 5 mL/min akış hızlarına kadar geri kazanım değerleri % 90'nın üzerindedir. Bu belirtilen akış hızlarından daha yüksek akış hızları kullanıldığında, geri kazanım değerleri azalmaya başlamaktadır.

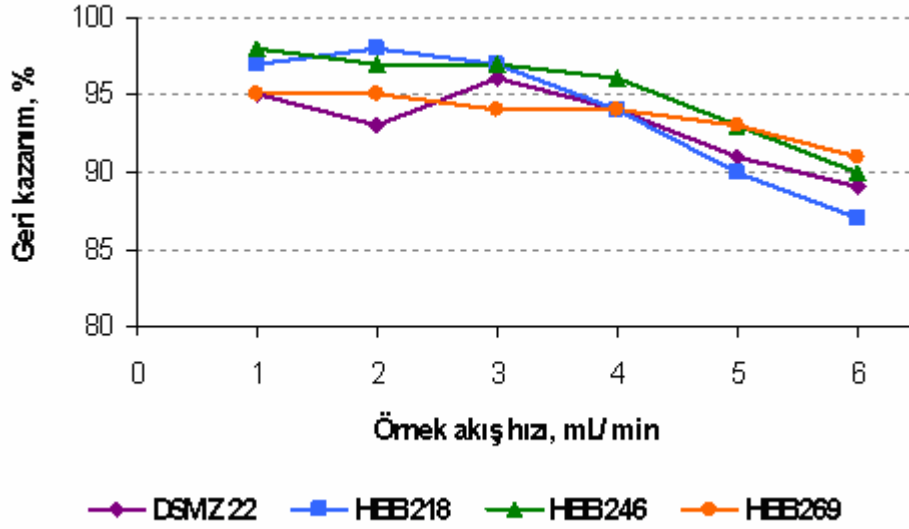
Eluent akış hızının tüm iyonların geri kazanımlarındaki etkisi, örnek çözeltisi akış hızının etkisine göre daha azdır. Tüm iyonlar için geri kazanımlar 4–5 mL/min akış hızlarına kadar % 90'nın üzerindedir.



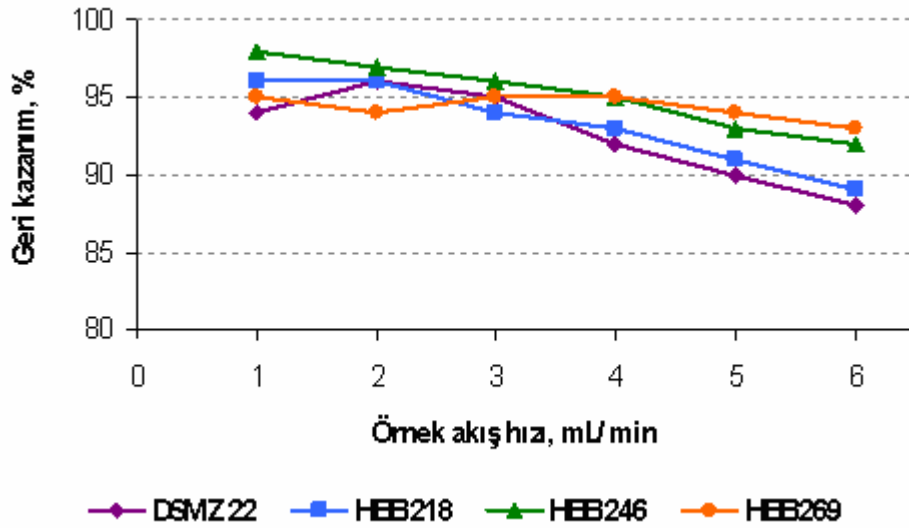
Şekil 4.37.  $\text{Cu}^{2+}$ 'ın geri kazanımına örnek akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Cu}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)



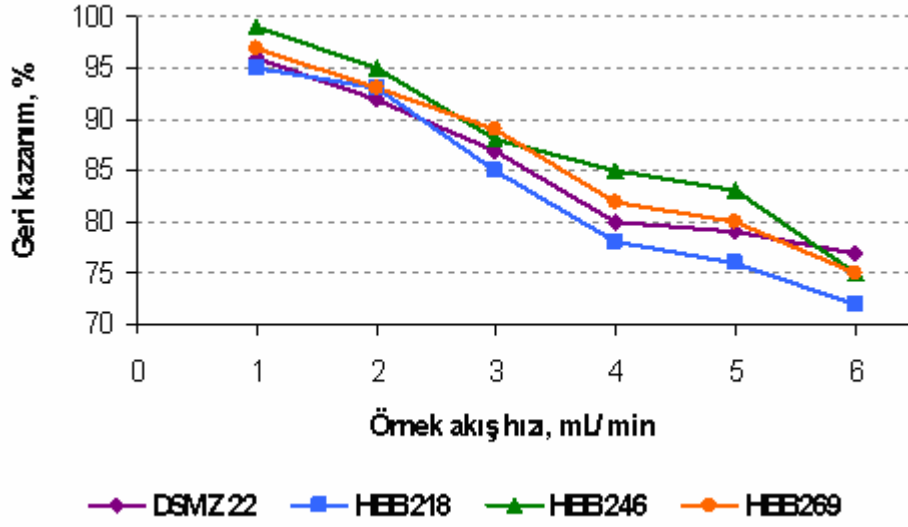
Şekil 4.38.  $\text{Zn}^{2+}$ 'nın geri kazanımına örnek akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Zn}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)



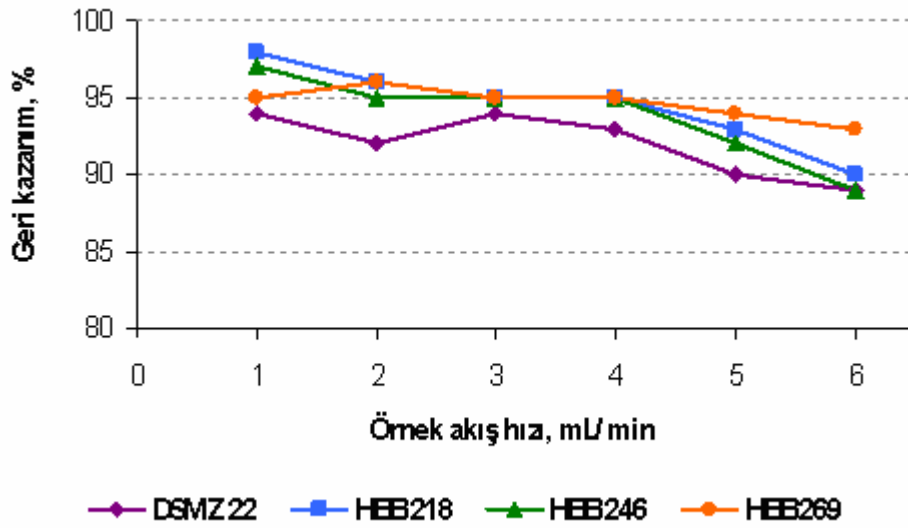
Şekil 4.39.  $\text{Cd}^{2+}$ 'un geri kazanımına örnek akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Cd}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)



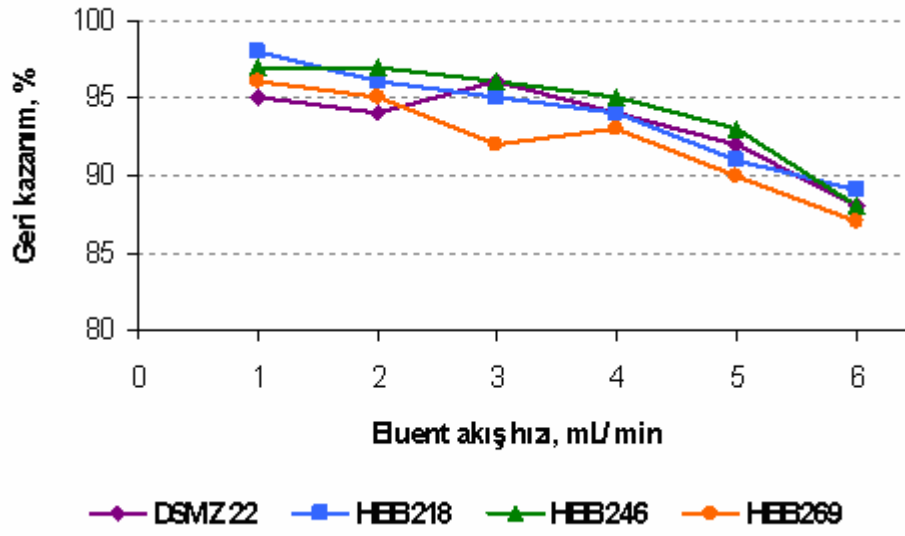
Şekil 4.40.  $\text{Co}^{2+}$ 'ın geri kazanımına örnek akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Co}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)



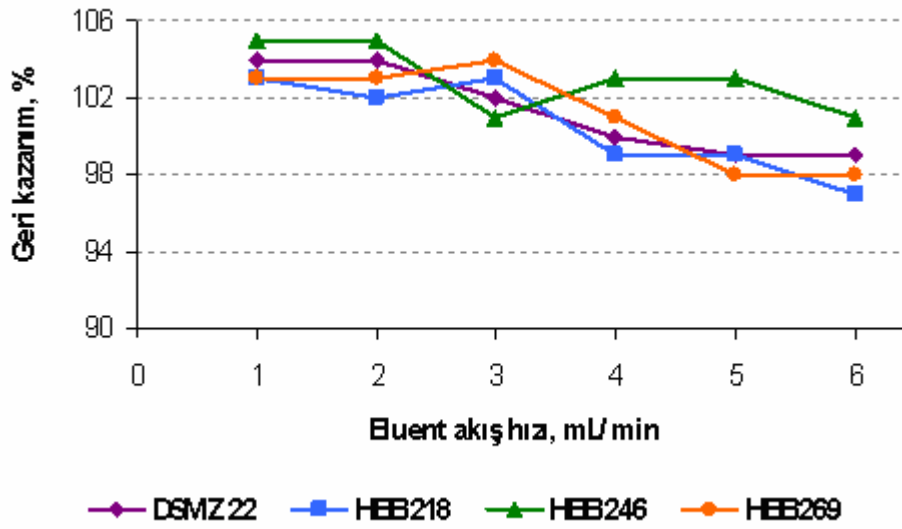
Şekil 4.41.  $Pb^{2+}$ 'un geri kazanımına örnek akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Pb^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)



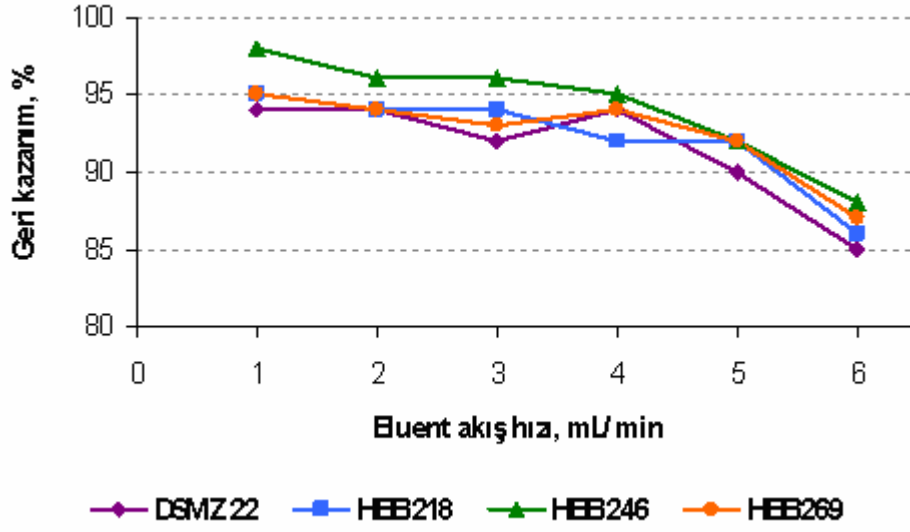
Şekil 4.42.  $Ni^{2+}$ 'in geri kazanımına örnek akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Ni^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M  $HNO_3$ )



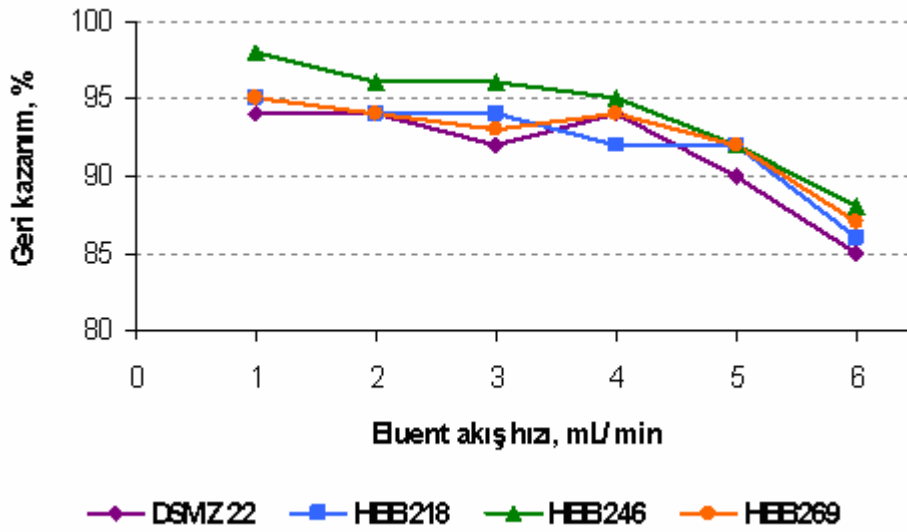
Şekil 4.43.  $\text{Cu}^{2+}$ 'ın geri kazanımına eluent akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Cu}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.44.  $\text{Zn}^{2+}$ 'nın geri kazanımına eluent akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $\text{Zn}^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)

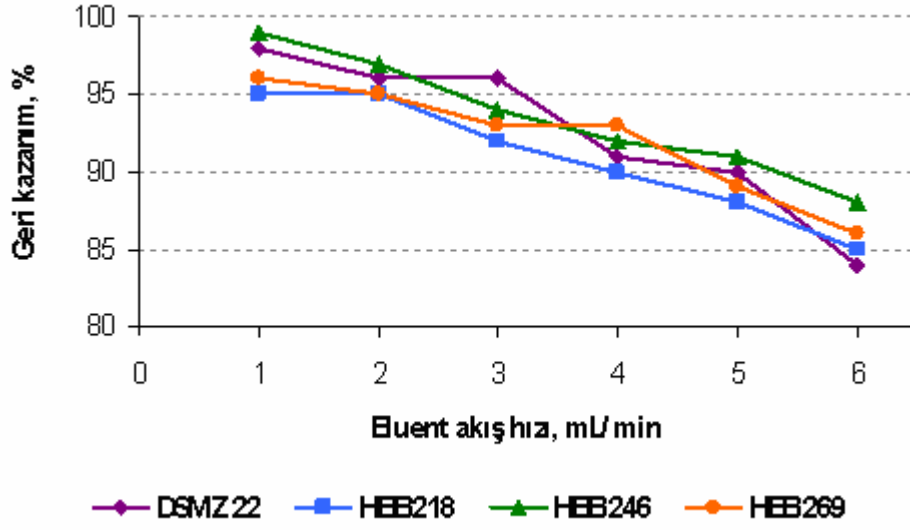


Şekil 4.45.  $Cd^{2+}$ 'un geri kazanımına eluent akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Cd^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)

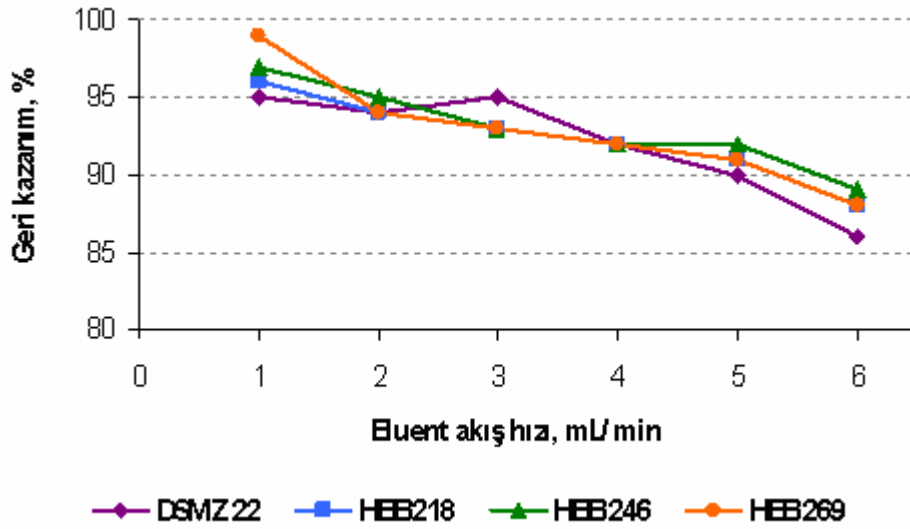


Şekil 4.46.  $Co^{2+}$ 'ın geri kazanımına eluent akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Co^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)





Şekil 4.47.  $Pb^{2+}$ 'un geri kazanımına eluent akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Pb^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M HCl)



Şekil 4.48.  $Ni^{2+}$ 'in geri kazanımına eluent akış hızının etkisi (N=3)  
(50 mL 0.2 ppm  $Ni^{2+}$ , 290 mg biyosorbent, eluent: 10 mL 1 M  $HNO_3$ )

#### 4.3.7. Geri Kazanıma Girişim Yapabilecek Diğer İyonların Etkisi

$\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  ve  $\text{Mg}^{2+}$  gibi alkali ve toprak alkalilerin girişim etkisi çalışıldı. Ayrıca yöntemde çalışılan metal iyonlarının aynı ortamda bir arada olması durumunu değerlendirmek üzere birbirleri üzerine olan girişim etkileri de araştırıldı.  $\text{Na}^+$  ve  $\text{K}^+$  iyonlarının 10, 100, 1000 ppm derişimleri,  $\text{Mg}^{2+}$  iyonlarının 1, 5, 10 ppm derişimleri,  $\text{Ca}^{2+}$  iyonlarının 10, 50, 100 ppm derişimleri ve diğer metal iyonlarının 1, 10 ppm derişimleri çalışıldı. Sonuçlar, Çizelge 4.7, 4.8, 4.9, 4.10, 4.11 ve 4.12'de verilmektedir. Bu girişim yapabilecek iyonların, bazı metal iyonları üzerine pozitif veya negatif girişim etkisinin olduğu görülmektedir. Elde edilen yüzde geri kazanım değerlerinden yöntemin girişim etkilerini yaklaşık olarak  $\pm$  % 10 aralığında tolere edebildiği söylenebilir.

Çizelge 4.7. Cu<sup>2+</sup>'ın geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi (N=3)

İyon	Bileşik	Derişim (ppm)	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
		10	98 ± 2*	99 ± 3	96 ± 3	97 ± 4
Na <sup>+</sup>	NaCl	100	96 ± 3	98 ± 4	98 ± 3	97 ± 1
		1000	94 ± 3	97 ± 4	95 ± 2	94 ± 2
		10	97 ± 4	98 ± 3	97 ± 1	99 ± 4
K <sup>+</sup>	KCl	100	95 ± 2	98 ± 2	95 ± 5	99 ± 3
		1000	93 ± 1	95 ± 5	95 ± 4	95 ± 2
		1	95 ± 3	96 ± 1	98 ± 1	97 ± 2
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	5	91 ± 4	92 ± 2	92 ± 2	93 ± 4
		10	89 ± 3	90 ± 2	90 ± 3	91 ± 5
		10	94 ± 5	96 ± 1	98 ± 3	97 ± 3
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	50	92 ± 2	95 ± 2	96 ± 2	95 ± 3
		100	87 ± 2	90 ± 3	92 ± 4	91 ± 2
		1	91 ± 2	96 ± 2	93 ± 5	93 ± 3
Zn <sup>2+</sup>	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	93 ± 3	98 ± 4	99 ± 4	100 ± 2
		1	94 ± 5	95 ± 4	97 ± 3	96 ± 2
Pb <sup>2+</sup>	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	105 ± 4	107 ± 3	110 ± 3	108 ± 3
		1	97 ± 3	96 ± 3	96 ± 2	98 ± 4
Cd <sup>2+</sup>	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	98 ± 3	99 ± 4	96 ± 3	97 ± 2
		1	93 ± 1	95 ± 2	97 ± 2	96 ± 4
Co <sup>2+</sup>	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	94 ± 2	98 ± 3	98 ± 5	92 ± 5
		1	93 ± 4	92 ± 1	91 ± 4	94 ± 3
Ni <sup>2+</sup>	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	106 ± 5	103 ± 3	99 ± 3	102 ± 4

\* Ortalama ± S. Sapma

Çizelge 4.8. Zn<sup>2+</sup>'nin geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi (N=3)

İyon	Bileşik	Derişim (ppm)	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
		10	104 ± 4*	105 ± 5	103 ± 3	106 ± 2
Na <sup>+</sup>	NaCl	100	102 ± 3	103 ± 4	101 ± 6	103 ± 5
		1000	99 ± 4	98 ± 4	99 ± 2	100 ± 4
		10	105 ± 3	107 ± 6	106 ± 4	105 ± 4
K <sup>+</sup>	KCl	100	104 ± 4	103 ± 5	104 ± 3	102 ± 3
		1000	101 ± 5	99 ± 3	102 ± 4	100 ± 2
		1	96 ± 3	98 ± 2	97 ± 3	98 ± 2
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	5	102 ± 3	103 ± 4	100 ± 3	104 ± 3
		10	103 ± 4	102 ± 3	99 ± 3	102 ± 2
		10	102 ± 1	100 ± 2	97 ± 3	99 ± 3
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	50	104 ± 3	99 ± 4	98 ± 5	102 ± 3
		100	105 ± 5	101 ± 3	103 ± 3	103 ± 4
		1	99 ± 4	98 ± 3	99 ± 5	97 ± 5
Pb <sup>2+</sup>	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	102 ± 2	104 ± 4	101 ± 5	103 ± 3
		1	103 ± 3	104 ± 2	102 ± 3	102 ± 2
Cd <sup>2+</sup>	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	107 ± 5	108 ± 3	105 ± 4	106 ± 4
		1	101 ± 3	99 ± 5	102 ± 4	98 ± 3
Co <sup>2+</sup>	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	105 ± 4	106 ± 4	104 ± 2	105 ± 3
		1	96 ± 3	97 ± 3	98 ± 4	96 ± 6
Ni <sup>2+</sup>	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	107 ± 3	103 ± 6	106 ± 3	105 ± 5
		1	109 ± 3	108 ± 4	106 ± 5	105 ± 4
Cu <sup>2+</sup>	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	93 ± 2	91 ± 3	93 ± 4	91 ± 3

\* Ortalama ± S. Sapma

Çizelge 4.9. Cd<sup>2+</sup>'un geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi (N=3)

İyon	Bileşik	Derişim (ppm)	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
		10	101 ± 3*	102 ± 2	99 ± 3	98 ± 4
Na <sup>+</sup>	NaCl	100	98 ± 5	96 ± 2	98 ± 4	97 ± 3
		1000	94 ± 3	93 ± 3	95 ± 6	95 ± 5
		10	99 ± 4	98 ± 6	100 ± 5	96 ± 3
K <sup>+</sup>	KCl	100	97 ± 3	95 ± 2	96 ± 3	95 ± 4
		1000	96 ± 3	96 ± 5	96 ± 4	93 ± 6
		1	95 ± 1	96 ± 3	98 ± 4	94 ± 3
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	5	98 ± 2	99 ± 4	100 ± 3	96 ± 5
		10	96 ± 3	99 ± 3	102 ± 2	97 ± 4
		10	93 ± 2	96 ± 5	95 ± 2	97 ± 1
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	50	98 ± 3	97 ± 4	96 ± 3	97 ± 3
		100	104 ± 4	101 ± 6	103 ± 5	99 ± 4
		1	98 ± 5	95 ± 4	98 ± 4	97 ± 2
Zn <sup>2+</sup>	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	105 ± 5	107 ± 4	106 ± 3	101 ± 4
		1	97 ± 3	96 ± 3	98 ± 2	97 ± 1
Pb <sup>2+</sup>	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	106 ± 2	108 ± 3	110 ± 4	102 ± 6
		1	102 ± 1	99 ± 2	97 ± 2	100 ± 3
Co <sup>2+</sup>	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	108 ± 4	111 ± 6	106 ± 5	102 ± 2
		1	97 ± 2	97 ± 3	96 ± 3	98 ± 3
Ni <sup>2+</sup>	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	103 ± 3	104 ± 1	103 ± 5	101 ± 2

\* Ortalama ± S. Sapma

Çizelge 4.10. Co<sup>2+</sup>'ın geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi (N=3)

İyon	Bileşik	Derişim (ppm)	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
		10	95 ± 3*	96 ± 3	98 ± 2	95 ± 5
Na <sup>+</sup>	NaCl	100	96 ± 2	94 ± 4	96 ± 3	99 ± 4
		1000	93 ± 3	92 ± 6	93 ± 5	94 ± 7
		10	95 ± 3	96 ± 2	99 ± 4	97 ± 2
K <sup>+</sup>	KCl	100	95 ± 3	96 ± 3	95 ± 5	94 ± 3
		1000	94 ± 4	92 ± 2	91 ± 4	92 ± 3
		1	95 ± 4	97 ± 3	98 ± 4	95 ± 2
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	5	97 ± 2	99 ± 2	100 ± 5	97 ± 3
		10	98 ± 4	99 ± 4	101 ± 6	99 ± 4
		10	94 ± 3	96 ± 3	95 ± 4	97 ± 3
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	50	96 ± 3	96 ± 5	98 ± 3	98 ± 2
		100	99 ± 3	97 ± 4	99 ± 4	98 ± 3
		1	96 ± 2	95 ± 2	96 ± 3	97 ± 1
Zn <sup>2+</sup>	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	99 ± 3	98 ± 3	96 ± 4	100 ± 3
		1	99 ± 3	101 ± 3	102 ± 2	98 ± 2
Pb <sup>2+</sup>	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	102 ± 3	103 ± 3	105 ± 4	103 ± 2
		1	94 ± 2	93 ± 4	95 ± 3	95 ± 5
Cd <sup>2+</sup>	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	99 ± 4	104 ± 3	101 ± 5	100 ± 3
		1	98 ± 3	97 ± 2	96 ± 2	94 ± 1
Ni <sup>2+</sup>	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	101 ± 4	102 ± 6	99 ± 3	95 ± 2

\* Ortalama ± S. Sapma

Çizelge 4.11. Pb<sup>2+</sup>'un geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi (N=3)

İyon	Bileşik	Derişim (ppm)	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
		10	99 ± 3*	98 ± 4	96 ± 4	97 ± 6
Na <sup>+</sup>	NaCl	100	98 ± 3	95 ± 2	98 ± 4	96 ± 3
		1000	96 ± 4	97 ± 3	94 ± 2	98 ± 4
		10	99 ± 5	98 ± 4	97 ± 4	98 ± 3
K <sup>+</sup>	KCl	100	99 ± 4	97 ± 4	94 ± 2	97 ± 5
		1000	97 ± 2	94 ± 6	96 ± 3	97 ± 3
		1	96 ± 4	99 ± 3	95 ± 3	96 ± 4
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	5	95 ± 2	97 ± 5	94 ± 2	97 ± 3
		10	94 ± 3	98 ± 2	96 ± 4	93 ± 4
		10	105 ± 7	103 ± 5	102 ± 4	106 ± 4
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	50	88 ± 6	90 ± 4	89 ± 3	92 ± 3
		100	82 ± 5	81 ± 4	85 ± 5	86 ± 4
		1	94 ± 5	94 ± 2	95 ± 5	95 ± 2
Zn <sup>2+</sup>	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	96 ± 2	98 ± 3	97 ± 2	99 ± 1
		1	109 ± 4	105 ± 5	102 ± 4	103 ± 3
Cd <sup>2+</sup>	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	111 ± 7	108 ± 6	108 ± 5	109 ± 4
		1	92 ± 5	93 ± 3	92 ± 4	95 ± 3
Co <sup>2+</sup>	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	97 ± 2	99 ± 2	98 ± 3	99 ± 2
		1	90 ± 4	89 ± 2	89 ± 2	91 ± 3
Ni <sup>2+</sup>	Ni(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	92 ± 4	93 ± 3	94 ± 4	96 ± 2
		1	93 ± 3	92 ± 4	94 ± 2	94 ± 3
Cu <sup>2+</sup>	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	108 ± 5	107 ± 5	105 ± 3	109 ± 6

\* Ortalama ± S. Sapma

Çizelge 4.12. Ni<sup>2+</sup>'in geri kazanımı üzerine diğer iyonların etkisi (N=3)

İyon	Bileşik	Derişim (ppm)	DSMZ 22	HBB 218	HBB 246	HBB 269
		10	99 ± 4*	98 ± 2	95 ± 3	96 ± 3
Na <sup>+</sup>	NaCl	100	96 ± 3	99 ± 3	97 ± 4	95 ± 2
		1000	98 ± 3	96 ± 4	99 ± 6	97 ± 5
		10	99 ± 2	97 ± 3	98 ± 2	94 ± 1
K <sup>+</sup>	KCl	100	97 ± 4	97 ± 3	96 ± 5	96 ± 2
		1000	94 ± 2	95 ± 4	93 ± 3	93 ± 2
		1	98 ± 2	99 ± 4	97 ± 3	92 ± 3
Mg <sup>2+</sup>	MgCl <sub>2</sub>	5	95 ± 4	96 ± 2	98 ± 6	95 ± 2
		10	97 ± 1	95 ± 3	96 ± 2	96 ± 1
		10	94 ± 3	91 ± 3	92 ± 5	93 ± 4
Ca <sup>2+</sup>	CaCl <sub>2</sub>	50	98 ± 4	94 ± 3	98 ± 3	96 ± 3
		100	95 ± 2	98 ± 4	97 ± 2	99 ± 3
		1	98 ± 2	95 ± 3	96 ± 2	97 ± 1
Zn <sup>2+</sup>	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	103 ± 3	105 ± 5	102 ± 3	103 ± 6
		1	96 ± 4	97 ± 2	96 ± 2	94 ± 3
Pb <sup>2+</sup>	Pb(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	98 ± 2	99 ± 4	101 ± 1	98 ± 4
		1	98 ± 3	95 ± 2	96 ± 4	97 ± 3
Cd <sup>2+</sup>	Cd(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	103 ± 3	102 ± 5	101 ± 4	100 ± 4
		1	94 ± 4	93 ± 4	94 ± 3	95 ± 3
Co <sup>2+</sup>	Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	10	104 ± 5	99 ± 1	102 ± 2	100 ± 4

\* Ortalama ± S. Sapma



#### 4.4. Biyosorbentlerin Kapasitelerinin Belirlenmesi

Biyosorbentin metal iyonlarını tutma kapasitesinin belirlenmesi, zenginleştirme çalışmaları için çok önemli olmamakla beraber, çevre örneklerinden ağır metal kirliliğini uzaklaştırmasındaki potansiyelini ortaya koyması bakımından da önemlidir. Literatürde yer alan tutma kapasitelerinden bazıları deneysel bazıları da izoterm eğrilerinden elde edilen kapasitelerdir. Bu çalışmada elde edilen kapasite değerleri deneysel olarak elde edilen kapasite değerleridir.

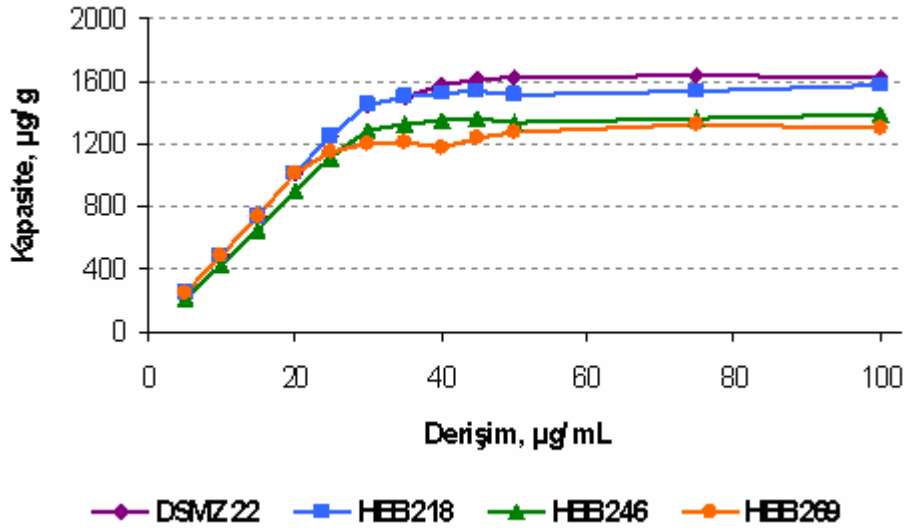
Öte yandan, literatürde deneysel olarak belirlenen kapasite değerlerinin de kesikli yöntem veya kolon yöntemi kullanılarak, iki şekilde belirlendiği görülmektedir. Ağır metal kirliliğinin uzaklaştırılmasında kolon yöntemi kolay olması ve dolgu maddesinin rejenere edilerek tekrar tekrar kullanılabilmesi gibi avantajları nedeniyle tercih edilmektedir. Biyosorbentin kapasitesinin belirlenmesinde önerilen zenginleştirme yönteminin optimum şartlarının kullanılması daha uygun görülmüş ve kapasite çalışmaları kolonda gerçekleştirilmiştir.

Biyosorbentlerin  $Zn^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi toplam kütlesi (silika jel + bakteri) başına yaklaşık olarak 1300–1630  $\mu\text{g/g}$  (20–25  $\mu\text{mol/g}$ ) aralığında değişiklik göstermektedir (Şekil 4.49). Biyosorbentlerin  $Zn^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi bakterilerin kütlesi başına yaklaşık olarak 9.4–11.8  $\text{mg/g}$  aralığında değişiklik göstermektedir.

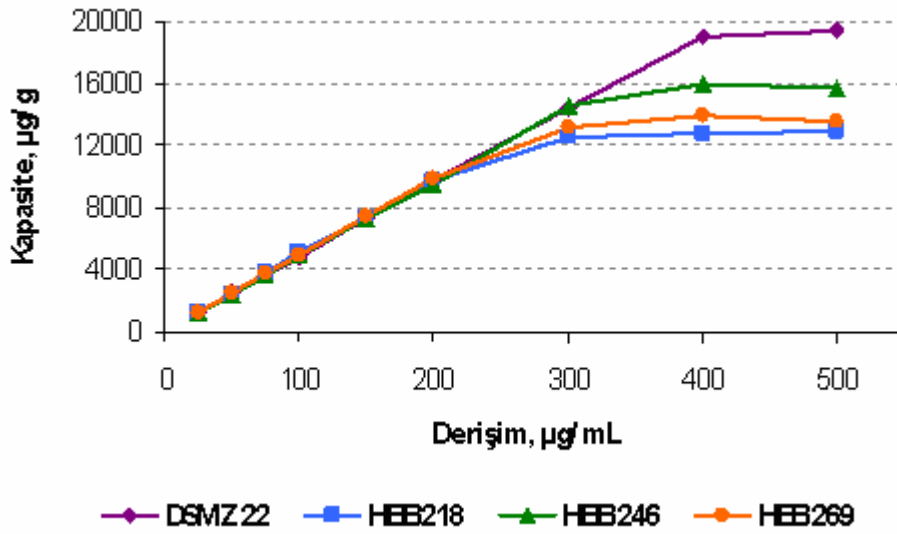
Biyosorbentlerin  $Cd^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi toplam kütlesi (silika jel + bakteri) başına yaklaşık olarak 12750–19000  $\mu\text{g/g}$  (110–170  $\mu\text{mol/g}$ ) aralığında değişiklik göstermektedir (Şekil 4.50). Biyosorbentlerin  $Cd^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi bakterilerin kütlesi başına yaklaşık olarak 92.4–137.8  $\text{mg/g}$  aralığında değişiklik göstermektedir.  $Cd^{2+}$  iyonları için oldukça yüksek geri kazanımlar elde edilmiştir.

Biyosorbentlerin  $Co^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi toplam kütlesi (silika jel + bakteri) başına yaklaşık olarak 2050–2750  $\mu\text{g/g}$  (35–47  $\mu\text{mol/g}$ ) aralığında değişiklik göstermektedir (Şekil 4.51). Biyosorbentlerin  $Co^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi bakterilerin kütlesi başına yaklaşık olarak 14.9–19.9  $\text{mg/g}$  aralığında değişiklik göstermektedir.

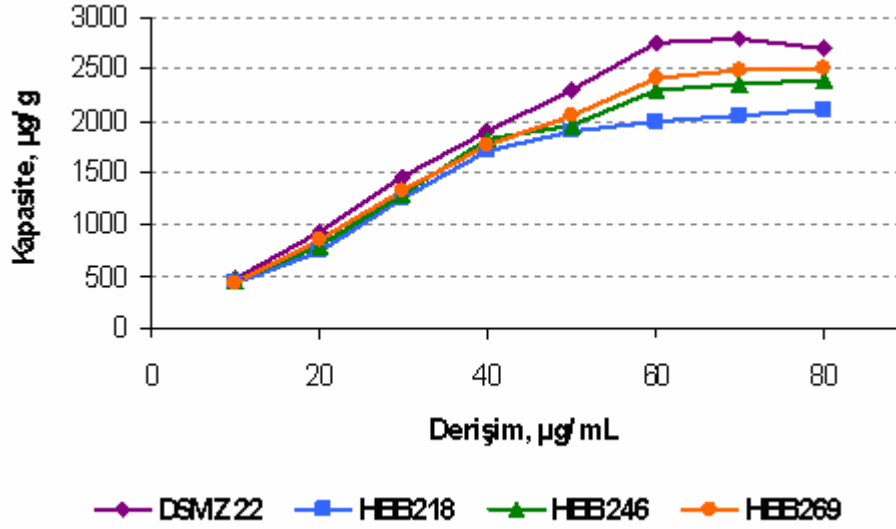
$Cu^{2+}$ ,  $Pb^{2+}$  ve  $Ni^{2+}$  iyonlarının yüksek derişimlerinde çökme olduğu için bu iyonlar için kapasite çalışması yapılamamıştır.



Şekil 4.49. Biyosorbentlerin  $Zn^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi (N=3)  
(Çözelti hacmi: 25 mL, biyosorbent: 500 mg, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 25 mL 1 M HCl)



Şekil 4.50. Biyosorbentlerin  $Cd^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi (N=3)  
(Çözelti hacmi: 25 mL, biyosorbent: 500 mg, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 25 mL 1 M HCl)



Şekil 4.51. Biyosorbentlerin  $Co^{2+}$  iyonlarını tutma kapasitesi (N=3)  
(Çözelti hacmi: 25 mL, biyosorbent: 500 mg, akış hızı: 1 mL/min, eluent: 25 mL 1 M HCl)

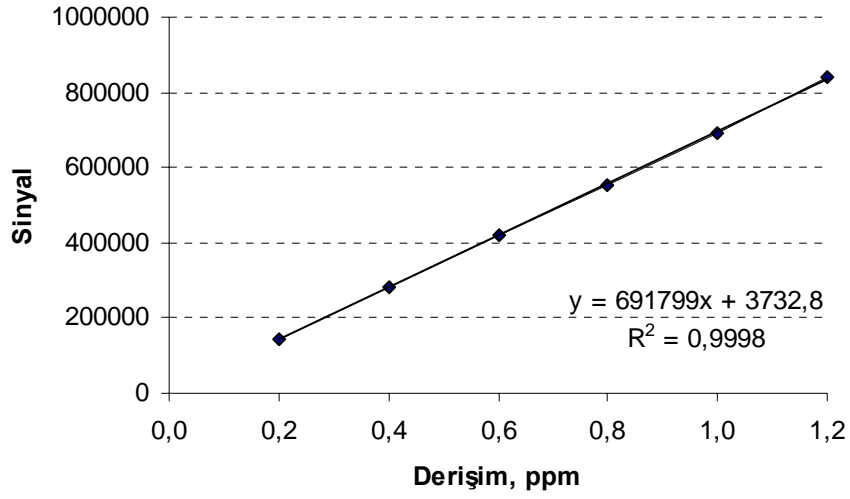
#### 4.5. Geliştirilen Yöntemin Gözlenebilme Sınırının Belirlenmesi

Zenginleştirme yönteminin gözlenebilme sınırı, metal iyonu içermeyen pH'ı tampon çözelti ile çalışma pH'ına ayarlanmış 50 mL tanık çözeltisi kullanılarak belirlendi. Tanık çözelti optimum şartlar altında kolondan geçirildi ve elue edildi. Gözlenebilme sınırı, eluent çözeltisinin okunan sinyallerinin standart sapmasının üç katı, kalibrasyondan elde edilen eğim değerine bölünerek aşağıda verilen eşitlik ile hesaplandı.

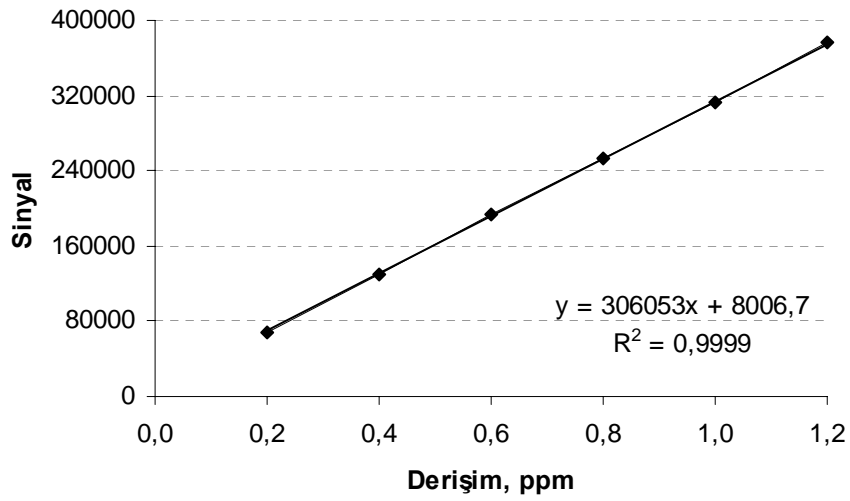
$$C_{LOD} = 3s_t / m$$

Burada,  $C_{LOD}$ , gözlenebilme sınırını,  $s_t$ , tanık sinyallerinin standart sapmasını,  $m$  ise kalibrasyon grafiğinden bulunan eğimi göstermektedir.

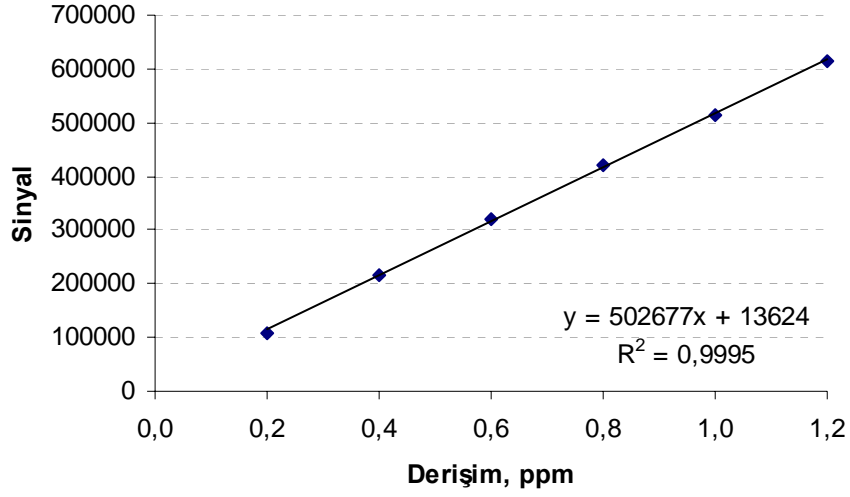
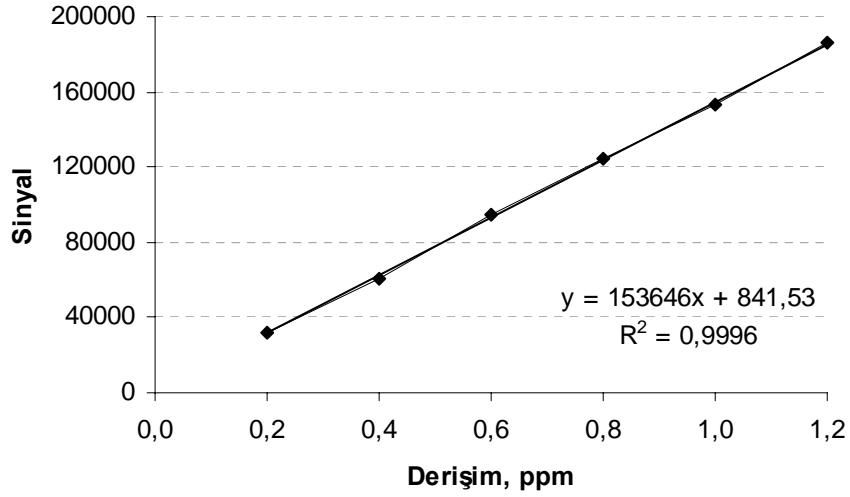
Gözlenebilme sınırının hesaplanmasında kullanılan kalibrasyon grafikleri Şekil 4.52, 4.53, 4.54, 4.55, 4.56 ve 4.57'de verilmektedir. Metal iyonları için elde edilen gözlenebilme sınırları Çizelge 4.13'de verilmektedir. En düşük sonuçlar,  $Cd^{2+}$  ve  $Co^{2+}$  iyonları için ve en yüksek sonuçlar ise  $Zn^{2+}$  ve  $Pb^{2+}$  iyonları için bulundu.

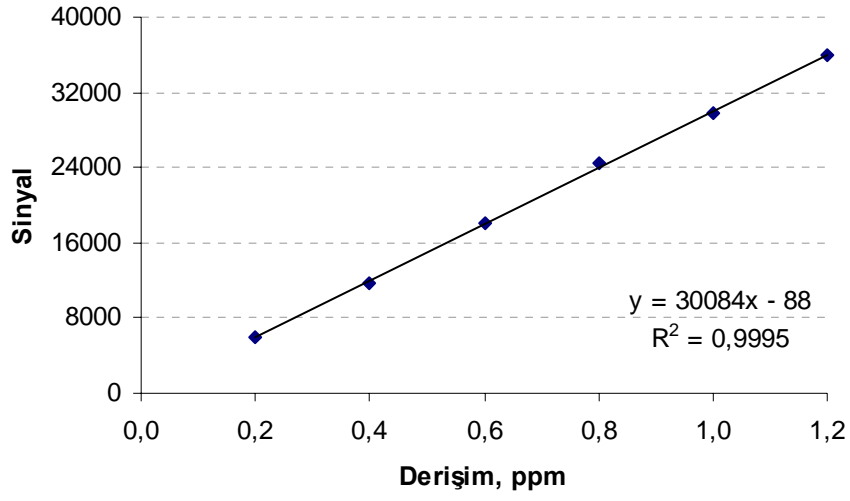


Şekil 4.52. Cu<sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği

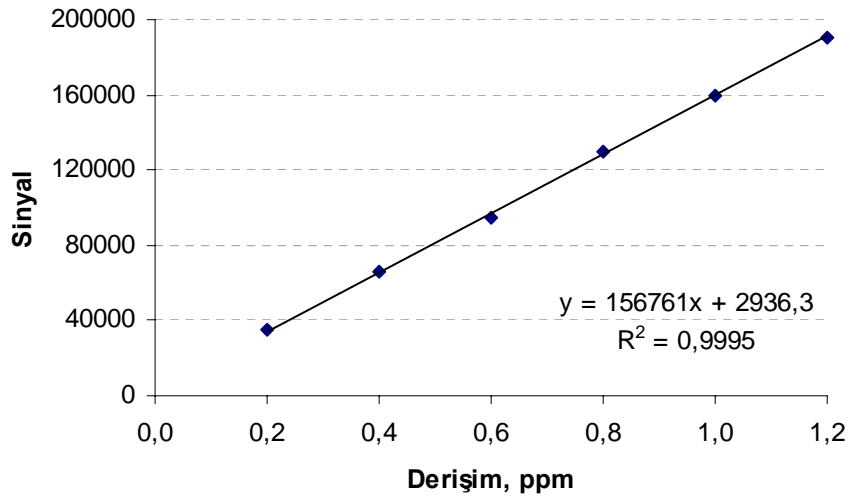


Şekil 4.53. Zn<sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği

Şekil 4.54. Cd<sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiğiŞekil 4.55. Co<sup>2+</sup> için kullanılan kalibrasyon grafiği



Şekil 4.56.  $Pb^{2+}$  için kullanılan kalibrasyon grafiği



Şekil 4.57.  $Ni^{2+}$  için kullanılan kalibrasyon grafiği

Çizelge 4.13. Çalışılan metal iyonları için yöntemin gözlenebilme sınırı (N=10)

Bakteri türü	Gözlenebilme sınırı, LOD ( $\mu\text{g/L}$ )					
	$\text{Cu}^{2+}$	$\text{Zn}^{2+}$	$\text{Cd}^{2+}$	$\text{Co}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$
DSMZ 22	1.51	3.11	0.44	0.64	4.48	1.39
HBB 218	1.79	4.05	0.41	0.52	5.19	1.32
HBB 246	1.24	4.32	0.41	0.66	4.77	1.60
HBB 269	1.37	3.89	0.25	0.81	6.00	1.51

#### 4.6. Geliştirilen Yöntemin Optimize Edilmiş Koşullar Altında Tekrarlanabilirliği

pH, bakteriyel biyokütle miktarının etkisi, eluent türü ve hacmi, örnek çözeltisi hacmi, örnek ve eluent çözeltisi akış hızları gibi zenginleştirme işlemi etkileyen analitik parametreler yukarıda Bölüm 4.3.1–4.3.7 arasında anlatıldığı şekilde detaylı olarak araştırıldı. Sentetik çözelti kullanılarak gerçekleştirilen bu zenginleştirme yöntemi için belirlenen optimum şartlar Çizelge 4.14’de özetlenmiştir. Tüm bakteriler için birbirine yakın sonuçlar elde edildiğinden, Çizelge 4.14’de optimum şartlar tüm bakteriler için toplu olarak verilmiştir. Her bir bakteri için ayrı ayrı belirtilmemiştir.

Optimize edilmiş koşullar altında yöntemin tekrarlanabilirliği sentetik çözeltiler kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirildi. Sonuçlar, yöntemin aynı kolonda 5 kez tekrarlanması ile elde edildi.  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ve  $\text{Cd}^{2+}$  iyonları için sonuçlar Çizelge 4.15’de,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonları için ise Çizelge 4.16’da verilmektedir. Optimize edilmiş koşullar altında elde edilen sonuçların tekrarlanabilirliği oldukça iyidir. Elde edilen geri kazanımların standart sapmaları, 0.9–5.1 aralığında değişmektedir.

Çizelge 4.14. Silika jel üzerine immobilize edilmiş DSMZ 22, HBB218, HBB 246 ve HBB 269 ile geliştirilen zenginleştirme yöntemi için belirlenen optimum şartlar

Parametre	Optimum Değer
pH	Cu <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> ve Pb <sup>2+</sup> iyonları için 6 Cd <sup>2+</sup> , Co <sup>2+</sup> ve Ni <sup>2+</sup> iyonları için 8
Bakteriyel biyokütlenin, silika jel kütlesine oranı	0.16
Eluent türü	Cu <sup>2+</sup> , Zn <sup>2+</sup> , Pb <sup>2+</sup> , Cd <sup>2+</sup> ve Co <sup>2+</sup> iyonları için 1 M HCl Ni <sup>2+</sup> iyonu için 1 M HNO <sub>3</sub>
Eluent hacmi (mL)	10
Maksimum çözelti hacmi (mL)	Zn <sup>2+</sup> iyonu için 600 Cu <sup>2+</sup> ve Ni <sup>2+</sup> iyonları için 500 Cd <sup>2+</sup> ve Co <sup>2+</sup> iyonları için 400 Pb <sup>2+</sup> iyonu için 100
Örnek çözeltisi akış hızı (mL/min)	1
Eluent çözeltisi akış hızı (mL/min)	1

Çizelge 4.15. Cu<sup>2+</sup>, Zn<sup>2+</sup> ve Cd<sup>2+</sup> iyonları için optimize edilmiş koşullar altında yöntemin tekrarlanabilirliği (N=5)

Bakteri türü	Geri kazanım		
	Cu <sup>2+</sup>	Zn <sup>2+</sup>	Cd <sup>2+</sup>
DSMZ 22	100.8 ± 3.4*	103.1 ± 2.9	99.2 ± 5.1
HBB 218	102.1 ± 5.1	102.9 ± 3.7	98.5 ± 3.5
HBB 246	101.6 ± 2.9	101.6 ± 4.2	99.8 ± 2.6
HBB 269	99.6 ± 4.3	99.6 ± 4.7	100.6 ± 1.7

\* Ortalama ± S. Sapma



Çizelge 4.16.  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonları için optimize edilmiş koşullar altında yöntemin tekrarlanabilirliği (N=5)

Bakteri türü	Geri kazanım		
	$\text{Co}^{2+}$	$\text{Pb}^{2+}$	$\text{Ni}^{2+}$
DSMZ 22	$94.6 \pm 3.5^*$	$97.3 \pm 3.4$	$98.6 \pm 4.2$
HBB 218	$96.5 \pm 3.1$	$95.2 \pm 2.6$	$99.2 \pm 2.6$
HBB 246	$98.2 \pm 2.3$	$98.7 \pm 4.3$	$100.6 \pm 4.7$
HBB 269	$95.6 \pm 0.9$	$96.5 \pm 4.2$	$101.9 \pm 3.2$

\* Ortalama  $\pm$  S. Sapma

#### 4.7. Geliştirilen Yöntemin Standart Referans Maddeye Uygulanması

Geliştirilen zenginleştirme yöntemi, “Community Bureau of Reference, Belgium” enstitüsünden sağlanan BCR 146R-endüstriyel kaynaklı atık su çamuru örneğine uygulandı. Örnek, mikrodalga çözünürleştirme sistemi kullanılarak çözünür hale getirildi. Örnekte Cd, Co, Cr, Cu, Hg, Mn, Ni, Pb ve Zn metalleri bulunmaktadır. Standart referans madde, toplam metal iyonu derişimleri için sertifikalandırıldığı gibi, kral suyunda (aqua regia) çözünen derişimleri için de sertifikalandırılmıştır. Sonuçlar, Çizelge 4.17 ve 4.18’de verilmektedir. Analizlenen standart referans maddedeki metal iyonları en çok % 8 bağıl hata ile tayin edilmiştir.

#### 4.14. Geliştirilen Yöntemin Çeşitli Su Örneklerine Uygulanması

Geliştirilen zenginleştirme yöntemi, belirlenen en uygun şartlar altında çalışılan metal iyonlarının Aydın şehir suyunda, piyasada satılan şişelenmiş kaynak suyunda ve Büyük Menderes Nehrinden alınan su örneklerinde tayini için uygulandı. Sonuçlar, Çizelge 4.19, 4.20, 4.21, 4.22, 4.23 ve 4.24’de verilmektedir. Bulunan sonuçlardan hesaplanan geri kazanım değerleri, yaklaşık olarak % 85–106 aralığında değişiklik göstermektedir ve bağıl standart sapmalar % 7’nin altındadır. Büyük Menderes Nehrinden alınan su örneklerinde  $\text{Zn}^{2+}$ ’nın geri kazanım değerleri, diğer geri kazanım değerlerine göre düşüktür (Çizelge 4.20). Bu durumun Büyük Menderes Nehrinde  $\text{Zn}^{2+}$ ’nın daha yüksek derişimlerde bulunması nedeniyle olabileceği düşünülmektedir. Sonuçlardan, zenginleştirme yönteminin sentetik çözeltilerde olduğu gibi gerçek su örneklerinde de doğruya yakın ve güvenilir sonuçlar verdiği görülmektedir.

Çizelge 4.17. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile standart referans maddede (BCR 146R)  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ve  $\text{Cd}^{2+}$  tayini (N=3)

	$\text{Cu}^{2+}$		$\text{Zn}^{2+}$		$\text{Cd}^{2+}$	
	Bulunan değer ( $\mu\text{g/g}$ )	Bağlı hata (%)	Bulunan değer ( $\mu\text{g/g}$ )	Bağlı hata (%)	Bulunan değer ( $\mu\text{g/g}$ )	Bağlı hata (%)
DSMZ 22	892 ± 54*	7	2839 ± 134	-7	17.9 ± 0.7	-3
HBB 218	878 ± 30	6	2885 ± 114	-5	18.1 ± 0.9	-2
HBB 246	860 ± 48	4	2848 ± 146	-6	18.5 ± 0.5	1
HBB 269	896 ± 63	8	2906 ± 155	-4	17.8 ± 0.8	3

\* Ortalama ± S. Sapma

\*\* BCR 146R bileşimi: Cd 18.4, Co 6.5, Cr 174, Cu 831, Hg 8.39, Mn 298, Ni 65.0, Pb 583 ve Zn 3040  $\mu\text{g/g}$ .

Çizelge 4.18. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile standart referans maddede (BCR 146R)  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  tayini (N=3)

	$\text{Co}^{2+}$		$\text{Pb}^{2+}$		$\text{Ni}^{2+}$	
	Bulunan değer ( $\mu\text{g/g}$ )	Bağlı hata (%)	Bulunan değer ( $\mu\text{g/g}$ )	Bağlı hata (%)	Bulunan değer ( $\mu\text{g/g}$ )	Bağlı hata (%)
DSMZ 22	$6.2 \pm 0.4^*$	-5	$545 \pm 41$	-7	$66.0 \pm 2.1$	2
HBB 218	$6.1 \pm 0.4$	-6	$535 \pm 40$	-8	$67.5 \pm 2.9$	4
HBB 246	$6.1 \pm 0.5$	-6	$547 \pm 34$	-6	$66.9 \pm 3.5$	3
HBB 269	$6.1 \pm 0.4$	-6	$541 \pm 38$	-7	$67.7 \pm 2.8$	4

\* Ortalama  $\pm$  S. Sapma\*\* BCR 146R bileşimi: Cd 18.4, Co 6.5, Cr 174, Cu 831, Hg 8.39, Mn 298, Ni 65.0, Pb 583 ve Zn 3040  $\mu\text{g/g}$ .

Çizelge 4.19. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde  $\text{Cu}^{2+}$  tayini (N=3)

		Kaynak Suyu			Aydın Şehir Suyu		Nehir Suyu (B. Menderes Nehri)	
		Eklene ( $\mu\text{g/L}$ )	Bulunan ( $\mu\text{g/L}$ )	Geri Kazanım, % R	Bulunan ( $\mu\text{g/L}$ )	Geri Kazanım, % R	Bulunan ( $\mu\text{g/L}$ )	Geri Kazanım, % R
DSMZ	22	0	$1.77 \pm 0.02^*$	-	$1.72 \pm 0.11$	-	$2.56 \pm 0.07$	-
		20	$21.89 \pm 0.12$	100.6	$20.90 \pm 0.05$	95.9	$23.53 \pm 0.28$	104.8
		40	$41.81 \pm 0.48$	100.1	$41.35 \pm 0.24$	99.1	$42.29 \pm 0.32$	99.3
HBB	218	0	$1.68 \pm 0.11$	-	$1.62 \pm 0.10$	-	$2.54 \pm 0.09$	-
		20	$21.84 \pm 0.18$	100.8	$21.58 \pm 0.16$	99.8	$23.69 \pm 0.68$	105.7
		40	$41.30 \pm 0.51$	99.0	$41.14 \pm 0.37$	98.8	$42.00 \pm 0.55$	98.6
HBB	246	0	$1.78 \pm 0.05$	-	$1.71 \pm 0.09$	-	$2.50 \pm 0.06$	-
		20	$21.95 \pm 0.09$	100.8	$20.96 \pm 0.21$	96.2	$23.21 \pm 0.23$	103.6
		40	$41.03 \pm 0.67$	98.1	$41.61 \pm 0.46$	99.8	$42.23 \pm 0.29$	99.3
HBB	269	0	$1.73 \pm 0.07$	-	$1.84 \pm 0.12$	-	$2.63 \pm 0.13$	-
		20	$22.03 \pm 0.17$	101.5	$21.09 \pm 0.08$	96.2	$21.92 \pm 0.62$	96.4
		40	$42.15 \pm 0.32$	101.0	$41.32 \pm 0.35$	98.7	$42.23 \pm 0.45$	99.0

\* Ortalama  $\pm$  S. Sapma

Çizelge 4.20. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde Zn<sup>2+</sup> tayini (N=3)

		Kaynak Suyu			Aydın Şehir Suyu		Nehir Suyu (B. Menderes Nehri)	
		Eklene (µg/L)	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R
DSMZ	22	0	1.08 ± 0.08*	-	11.89 ± 0.62	-	161.55 ± 2.47	-
		20	21.21 ± 0.40	100.6	32.36 ± 0.89	102.3	179.39 ± 2.64	89.2
		40	40.62 ± 0.52	98.8	51.61 ± 1.18	99.3	197.09 ± 3.77	88.9
HBB	218	0	1.16 ± 0.12	-	12.47 ± 1.25	-	164.89 ± 4.86	-
		20	21.32 ± 0.51	100.8	32.55 ± 2.89	99.6	182.05 ± 2.08	85.8
		40	41.27 ± 0.36	100.3	54.13 ± 1.23	104.1	201.39 ± 3.12	91.2
HBB	246	0	0.96 ± 0.13	-	11.33 ± 0.67	-	161.92 ± 1.83	-
		20	20.80 ± 0.85	99.2	32.59 ± 2.15	106.3	180.32 ± 2.64	92.0
		40	41.22 ± 0.62	100.6	52.44 ± 2.38	102.8	199.09 ± 3.77	92.9
HBB	269	0	1.21 ± 0.09	-	11.89 ± 1.17	-	162.83 ± 3.04	-
		20	21.25 ± 0.26	100.2	32.36 ± 3.98	102.4	181.43 ± 4.98	93.0
		40	41.35 ± 0.42	100.4	52.21 ± 5.32	100.8	198.09 ± 3.77	88.1

\* Ortalama ± S. Sapma

Çizelge 4.21. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde Cd<sup>2+</sup> tayini (N=3)

		Kaynak Suyu			Aydın Şehir Suyu		Nehir Suyu (B. Menderes Nehri)	
		Eklene (µg/L)	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R
DSMZ	22	0	0.92 ± 0.04*	-	1.62 ± 0.09	-	2.30 ± 0.54	-
		20	21.29 ± 0.11	101.8	21.64 ± 0.48	100.1	22.82 ± 0.88	102.6
		40	40.13 ± 0.97	98.0	41.22 ± 0.32	99.0	41.24 ± 1.03	97.4
HBB	218	0	0.89 ± 0.06	-	1.50 ± 0.07	-	1.91 ± 0.14	-
		20	21.26 ± 0.33	101.8	21.89 ± 0.41	102.0	22.30 ± 0.76	102.0
		40	41.42 ± 0.84	101.3	42.08 ± 0.99	101.4	41.13 ± 0.92	98.0
HBB	246	0	0.84 ± 0.05	-	1.44 ± 0.08	-	1.92 ± 0.10	-
		20	20.90 ± 0.36	100.3	21.68 ± 0.36	101.2	22.62 ± 0.33	103.5
		40	41.03 ± 1.06	100.5	40.84 ± 0.57	98.5	41.96 ± 0.85	100.1
HBB	269	0	0.87 ± 0.02	-	1.46 ± 0.03	-	1.71 ± 0.10	-
		20	21.10 ± 0.45	101.2	21.73 ± 0.14	101.4	22.58 ± 0.26	104.3
		40	41.13 ± 2.07	100.6	40.91 ± 1.02	98.6	40.11 ± 1.06	96.0

\* Ortalama ± S. Sapma

Çizelge 4.22. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde  $\text{Co}^{2+}$  tayini (N=3)

		Kaynak Suyu			Aydın Şehir Suyu		Nehir Suyu (B. Menderes Nehri)	
		Eklene ( $\mu\text{g/L}$ )	Bulunan ( $\mu\text{g/L}$ )	Geri Kazanım, % R	Bulunan ( $\mu\text{g/L}$ )	Geri Kazanım, % R	Bulunan ( $\mu\text{g/L}$ )	Geri Kazanım, % R
DSMZ	22	0	TSA*	-	TSA	-	TSA	-
		20	$18.71 \pm 0.16^{**}$	93.6	$18.68 \pm 0.48$	93.4	$18.74 \pm 0.57$	93.7
		40	$39.19 \pm 1.02$	98.0	$39.63 \pm 1.14$	99.1	$37.94 \pm 0.78$	94.8
HBB	218	0	TSA	-	TSA	-	TSA	-
		20	$19.43 \pm 0.37$	97.2	$19.69 \pm 0.22$	98.4	$19.76 \pm 0.55$	98.8
		40	$38.48 \pm 1.57$	96.2	$39.00 \pm 0.86$	97.5	$37.79 \pm 0.99$	94.5
HBB	246	0	TSA	-	TSA	-	TSA	-
		20	$19.06 \pm 0.42$	95.3	$19.21 \pm 0.44$	96.0	$19.26 \pm 0.23$	96.3
		40	$38.22 \pm 1.06$	95.6	$39.23 \pm 0.95$	98.1	$38.75 \pm 0.81$	96.9
HBB	269	0	TSA	-	TSA	-	TSA	-
		20	$19.07 \pm 0.36$	95.4	$21.03 \pm 0.28$	105.2	$19.25 \pm 0.51$	96.2
		40	$38.63 \pm 0.50$	96.6	$41.29 \pm 0.32$	103.0	$41.35 \pm 1.26$	103.4

\*TSA: Tayin sınırı altında

\*\* Ortalama  $\pm$  S. Sapma

Çizelge 4.23. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde Pb<sup>2+</sup> tayini (N=3)

		Kaynak Suyu			Aydın Şehir Suyu		Nehir Suyu (B. Menderes Nehri)	
		Eklene (µg/L)	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R
DSMZ	22	0	TSA*	-	TSA	-	TSA	-
		20	18.89 ± 0.59**	94.4	19.61 ± 0.61	98.0	18.90 ± 0.85	94.5
		40	37.64 ± 0.34	94.1	38.88 ± 0.25	97.2	37.68 ± 1.20	94.2
HBB	218	0	TSA	-	TSA	-	TSA	-
		20	18.58 ± 1.12	92.9	19.24 ± 0.71	96.2	18.50 ± 1.45	92.5
		40	38.66 ± 2.05	96.6	38.05 ± 0.21	95.1	36.82 ± 0.76	92.0
HBB	246	0	TSA	-	TSA	-	TSA	-
		20	19.33 ± 1.21	96.6	18.59 ± 1.18	93.0	19.12 ± 0.69	95.6
		40	38.12 ± 1.89	95.3	38.11 ± 1.54	95.3	38.78 ± 0.98	97.0
HBB	269	0	TSA	-	TSA	-	TSA	-
		20	19.53 ± 1.54	97.6	19.92 ± 0.17	99.6	18.68 ± 0.42	93.4
		40	38.91 ± 2.49	97.3	39.27 ± 0.67	98.2	38.82 ± 2.12	97.0

\*TSA: Tayin sınırı altında

\*\* Ortalama ± S. Sapma



Çizelge 4.24. Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile çeşitli su örneklerinde Ni<sup>2+</sup> tayini (N=3)

		Kaynak Suyu			Aydın Şehir Suyu		Nehir Suyu (B. Menderes Nehri)	
		Eklene (µg/L)	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R	Bulunan (µg/L)	Geri Kazanım, % R
DSMZ	22	0	0.72 ± 0.03*	-	1.01 ± 0.05	-	3.43 ± 0.14	-
		20	20.68 ± 0.73	99.8	21.60 ± 0.62	103.0	23.23 ± 0.45	99.0
		40	40.75 ± 1.17	100.1	41.16 ± 0.97	100.4	42.92 ± 0.72	98.7
HBB	218	0	0.57 ± 0.02	-	1.17 ± 0.06	-	3.74 ± 0.07	-
		20	20.04 ± 0.55	97.4	20.80 ± 0.51	98.2	23.57 ± 0.57	99.2
		40	39.62 ± 1.66	97.6	41.22 ± 0.82	100.1	43.61 ± 0.55	99.7
HBB	246	0	0.69 ± 0.03	-	1.07 ± 0.05	-	3.60 ± 0.09	-
		20	20.48 ± 0.27	99.0	21.22 ± 0.37	100.8	23.80 ± 0.62	101.0
		40	39.87 ± 1.35	98.0	40.84 ± 1.17	99.4	43.78 ± 1.07	100.4
HBB	269	0	0.67 ± 0.02	-	1.08 ± 0.06	-	3.76 ± 0.03	-
		20	20.40 ± 0.67	98.6	21.21 ± 0.40	100.6	23.48 ± 0.21	98.6
		40	39.75 ± 1.07	97.7	40.62 ± 0.52	98.8	43.41 ± 0.43	99.1

\* Ortalama ± S. Sapma

## 5. SONUÇ

- Bu çalışmada silika jel üzerine immobilize edilmiş bazı termofilik bakteriler kullanılarak  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonlarının ayırma ve zenginleştirme şartları araştırılmıştır. *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22, *Geobacillus toebii* HBB 218, *Anoxybacillus puschiensis* HBB 246 ve *Geobacillus thermoglucosidasius* HBB 269 termofilik bakterileri seçilmiştir. Ayırma ve zenginleştirme çalışmaları katı faz ekstraksiyonu yöntemi kullanılarak, bakteriyel biyokütle immobilize edilmiş silika jel dolgulı kolonlarda gerçekleştirilmiştir.
- Çalışmada kullanılan termofilik bakterilerin tümü Gram-pozitif özellik göstermektedir. Gram-pozitif bakteriler amino asit köprüleri ile bağlanmış kalın bir peptidoglikan tabakasından oluşur. Gram-pozitif bakterilerin hücre duvarı, peptidoglikanları, teikoik asitleri ve teikuronik asitleri içerir. Bu anyonik fonksiyonel gruplar hücre duvarının anyonik karakterinin ve metal bağlama yeteneğinin birincil derecede sorumlusudur.
- Silika jel üzerine immobilize termofilik bakteriler SEM ile gözlemlendi. Bakteri immobilize edilmiş silika jel yüzeylerinde bazı boşluklar olduğu görüldü. Gelecekte immobilizasyon yöntemlerinin geliştirilmesi ile daha fazla bakterinin sorbent yüzeyine immobilize olması mümkün olabilir. Bu durum, biyosorbentin yüzey alanını artıracak ve böylelikle tutma kapasiteleri de artacaktır.
- Bakteriler, genellikle pek çok elementin biyosorbumu için belirli bir kapasiteye sahiptir veya nadiren de elemente özgü olabilirler. Hücre içi genetik modifikasyonlara dayanan recombinant DNA teknolojisinin kullanılması ile gelecekte mikroorganizmaların elemente özgü veya bir grup elemente özgü olması da mümkün olabilecektir.
- Bağlanmadan sorumlu fonksiyonel grupların tespit edilmesi amacı ile bakteriyel biyokütellerin ve metal iyonu yüklenen bakteriyel biyokütellerin FT-IR spektrumları alındı. Metal iyonu içeren ve içermeyen bakteriyel biyokütellerin FT-IR spektrum bantları değerlendirildiğinde, bantlarda net bir kayma olmadığı görüldü. Metal iyonunun bağlanma öncesi ve sonrası, FT-IR sonuçlarına göre bakteri hücre duvarı bileşiminde bulunan karboksil

grubunun, metal iyonunun bağlanmasıyla sorumlu fonksiyonel gruplardan biri olabileceği düşünülmektedir.

- Ayırma ve zenginleştirme şartlarını etkileyen parametrelerden olan, örnek pH'ı, bakteriyel biyokütle miktarı, eluent çözeltisi türü, eluent çözeltisi hacmi, örnek çözeltisi hacmi, örnek çözeltilerinin akış hızı, eluent çözeltilerinin akış hızı ve ortamda bulunabilecek diğer iyonların etkisi araştırıldı. Örnek pH'ının geliştirilen zenginleştirme işlemini oldukça fazla etkilediği yapılan çalışmalardan anlaşılmaktadır. Diğer parametreler bir dereceye kadar etkilemektedir. Bu analitik parametrelerin tümü zenginleştirme yöntemi için optimize edilmiştir. Yüksek geri kazanımlar  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$  ve  $\text{Pb}^{2+}$  için pH 6'da,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  için ise pH 8'de elde edilmiştir. Bakteriyel biyokütle miktarının etkisi araştırıldığında, bakteriyel biyokütlenin silika jel kütlelerine olan oranı 0.16 olarak bulunmuştur. Eluent türü araştırıldığında,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$  ve  $\text{Co}^{2+}$  iyonları için 1 M HCl'in,  $\text{Ni}^{2+}$  iyonu için 1 M  $\text{HNO}_3$ 'ün uygun eluent olduğu bulunmuştur. 10 mL eluent hacmi ile yüksek geri kazanımlar elde edilmiştir.  $\text{Zn}^{2+}$  iyonu için 600 mL,  $\text{Cu}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonları için 500 mL,  $\text{Cd}^{2+}$  ve  $\text{Co}^{2+}$  iyonları için 400 mL ve  $\text{Pb}^{2+}$  iyonu için 100 mL örnek hacimleri, zenginleştirme yöntemi için kullanılacak maksimum örnek hacimleri olarak bulunmuştur. 1 mL/min örnek çözeltisi ve eluent çözeltisi akış hızları ile yüksek geri kazanımlar elde edilmiştir.
- Geliştirilen zenginleştirme yöntemi ile  $\text{Pb}^{2+}$  iyonları 10,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$  iyonları 40 kat,  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Ni}^{2+}$  iyonları 50 ve  $\text{Zn}^{2+}$  iyonları 60 kat zenginleştirilebilmektedir.
- $\text{Zn}^{2+}$  iyonları için biyosorbentlerin (silika jel + termofilik bakteri) tutma kapasitesi 1300–1630  $\mu\text{g/g}$  aralığında,  $\text{Cd}^{2+}$  iyonları için 12750–19000  $\mu\text{g/g}$  aralığında,  $\text{Co}^{2+}$  iyonları için 2050–2750  $\mu\text{g/g}$  aralığında değişiklik göstermektedir. Çalışmada kullanılan biyosorbentlerin özellikle  $\text{Cd}^{2+}$  iyonları için oldukça yüksek kapasite değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir.
- Metal iyonlarının sentetik çözeltiler ile gerçekleştirilen optimum şartlardaki geri kazanımı % 95'in üzerinde bulundu. Bu metal iyonları için tekrarlanabilirliği oldukça yüksek sonuçlar elde edildi. Elde edilen bağıl standart sapma değerleri yaklaşık % 5'in altında bulunmuştur.

- Geliştirilen zenginleştirme yöntemine, girişim yapabilecek bazı iyonların etkileri değerlendirilmiş ve bu iyonlar için net bir girişim etkisi gözlemlenmemiştir. Yöntem, girişim etkilerini  $\pm$  % 10 aralığında tolere edebilmektedir.
- Önerilen zenginleştirme yöntemi ile standart eklenmiş çeşitli su örneklerinde  $\text{Cu}^{2+}$ ,  $\text{Zn}^{2+}$ ,  $\text{Cd}^{2+}$ ,  $\text{Co}^{2+}$ ,  $\text{Pb}^{2+}$  ve  $\text{Ni}^{2+}$  iyonları yüksek doğrulukla tayin edilebilmiştir. Bulunan sonuçlardan hesaplanan geri kazanım değerleri, yaklaşık olarak % 85–106 aralığında değişiklik göstermektedir ve bağıl standart sapma değerleri % 7'nin altında bulunmuştur.
- Önerilen zenginleştirme yöntemi oldukça kompleks bileşime sahip olan endüstriyel kaynaklı atık su çamur örneğine (BCR 146R) uygulanmıştır. Yöntemin standart referans maddeye uygulanması ile elde edilen sonuçlar, sertifikalı referans değerlerine yakındır ve uyumludur.
- Tüm metal iyonları için yöntemin gözlenebilme sınırı oldukça düşüktür ve 0.25–6.00  $\mu\text{g/L}$  aralığında değişiklik göstermektedir.
- Geliştirilen zenginleştirme yöntemi çevreye duyarlı bir yöntemdir. Bu yöntemle metal iyonlarının zenginleştirilmesi için şelatlayıcı ajan ve organik çözügenlerin kullanımına ihtiyaç yoktur. Yöntem iz düzeylerdeki metal iyonlarının zenginleştirilmesi için, kolay, hızlı ve düşük maliyetlidir. Deneylerde termofilik bakteri immobilize edilmiş silika jel biyosorbenti, tutma performansını kaybetmeksizin en az 30 kez kullanılabilir.
- Yöntemin dezavantajı, bakterilerin üretilmesi aşamasında elde edilen bakteriyel biyokütlenin miktarının az olmasıdır. Ancak bakteriyel biyokütlenin 1 gramı gibi az bir miktarıyla, yaklaşık 500 zenginleştirme işleminin yapılabilmesi bu dezavantajı tolere edebilecek durumdur.
- Geliştirilen zenginleştirme yönteminde 4 farklı termofilik bakteri kullanıldı. Bu termofilik bakteriler için elde edilen zenginleştirme şartları aynıdır. Bu durum, termofilik bakterilerin içeriğinin ve fonksiyonel gruplarının benzer olması nedeniyle olabilir.

**KAYNAKLAR**

- Alhakawati, M.S., Banks, C.J. 2004. Removal of copper from aqueous solution by *Ascophyllum nodosum* immobilised in hydrophilic polyurethane foam, **J Environ Manag**, 72: 195–204.
- Amorim, F.A.C., Ferreira, S.L.C. 2005. Determination of cadmium and lead in table salt by sequential multi-element flame atomic absorption spectrometry, **Talanta**, 65: 960–964.
- Anthemidis, A.N., Zachariadis, G.A., Farastelis, C.G., Stratis, J.A. 2004. On-line liquid–liquid extraction system using a new phase separator for flame atomic absorption spectrometric determination of ultra-trace cadmium in natural waters, **Talanta**, 62: 437–443.
- Bağ, H., Lale, M., Türker, A.R. 1998. Determination of iron and nickel by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration on *Saccharomyces cerevisiae* immobilized sepiolite, **Talanta**, 47: 689–696.
- Bağ, H., Türker, A.R., Lale, M. 1999. Determination of trace metals in geological samples by atomic absorption Spectrophotometry after preconcentration by *Aspergillus niger* immobilized on sepiolite, **Analytical Sciences**, 15: 1251–1256.
- Bağ, H., Türker, A.R., Lale, M., Tunceli, A. 2000a. Separation and speciation of Cr(III) and Cr(VI) with *Saccharomyces cerevisiae* immobilized on sepiolite and determination of both species in water by FAAS. **Talanta**, 51: 895–902.
- Bağ, H., Türker, A.R., Lale, M. 2000b. Determination of Cu, Zn, Fe, Ni and Cd by flame atomic absorption spectrophotometry after preconcentration by *Escherichia coli* immobilized on sepiolite, **Talanta**, 51: 1035–1043.
- Bai, R.S., Abraham, T.E. 2002. Studies on enhancement of Cr(VI) biosorption by chemically modified biomass of *Rhizopus nigricans*, **Water Res**, 36: 1224–1236.
- Baytak, S., Turker, A.R. 2005a. Determination of iron(III), cobalt(II) and chromium(III) in various water samples by flame atomic absorption spectrometry after preconcentration by means of *Saccharomyces carlsbergensis* immobilized on Amberlite XAD–4, **Microchimica Acta**, 149: 109–116.
- Baytak, S., Türker, A.R. 2005b. The use of *Agrobacterium tumefaciens* immobilized on Amberlite XAD–4 as a new biosorbent for the column preconcentration of iron(III), cobalt(II), manganese(II) and chromium(III), **Talanta**, 65: 938–945.

- Baytak, S., Türker, A.R., Çevrimli, B.S. 2005. Application of silica gel 60 loaded with *Aspergillus niger* as a solid phase extractor for the separation/preconcentration of chromium(III), copper(II), zinc(II), and cadmium(II), **J. Sep. Sci.**, 28: 2482–2488.
- Baytak, S., Kendüzler, E., Türker, A.R., Gök, N. 2008. *Penicillium digitatum* immobilized on pumice stone as a new solid phase extractor for preconcentration and/or separation of trace metals in environmental samples, **Journal of Hazardous Materials**, 153: 975–983.
- Bezerra, M. de A., Arruda M.A.Z., Ferreira, S.L.C. 2005. Cloud point extraction as a procedure of separation and pre-concentration for metal determination using spectroanalytical techniques: a review, **Appl. Spectrosc. Reviews**, 40: 269–299.
- Binupriya, A.R., Sathishkumar, M., Swaminathan, K., Jeong, E.S., Yun, S.E., Pattabi, S. 2006. Biosorption of metal ions from aqueous solution and electroplating industry wastewater by *Aspergillus japonicus*: Phytotoxicity studies, **Bull Environ Contam Toxicol**, 77:219–227.
- Blanco, A., Sanz, B., Llama, M. J., Serra, J. L. 1999. Biosorption of heavy metals to immobilised *Phormidium laminosum* biomass, *Journal of Biotechnology*, 69: 227–240.
- Botes, P. J. 2003. Investigation of mobility of trace elements in river sediments using ICP-OES. University of Pretoria, MS Thesis, 144 s., Pretoria.
- Burns, D.T., Danzer, K., Townshend, A. 2002. Use of the terms “recovery” and “apparent recovery” in analytical procedures, **Pure Applied Chemistry**, 74: 2201–2205.
- Cabanero, A.I., Madrid, Y., Cámara, C. 2002. Capability of diatomaceous earth to preconcentrate and store Pb and Cr: on-line determination by FI-FAAS, **Anal Bioanal Chem**, 373: 244-250.
- Caldorin, R., Menegário, A. A. 2007. Speciation analysis of Sn(II) and Sn(IV) using baker’s yeast and inductively coupled plasma optical emission spectrometry, **Microchimica Acta**, 157: 201–207.
- Camel, V. 2003. Solid phase extraction of trace elements. **Spectrochimica Acta Part B**, 58: 1177–1233.
- Carrilho, E.N.V.M., Nobrega, J.A., Gilbert, T.R. 2003. The use of silica immobilized brown algae (*Pilayella littoralis*) for metal preconcentration and determination by inductively-coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, 60: 1131–1140.

- Chang, J.-S., Law, R., Chang, C.-C. 1997. Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU21, **Water Res**, 31: 1651–1658.
- Chen, S., Wilson, D.B. 1997. Genetic engineering of bacteria and their potential for Hg<sup>2+</sup> bioremediation, **Biodegradation**, 8: 97–103.
- Chen, H., Jin J., Wang, Y. 1997. Flow injection on-line coprecipitation-preconcentration system using copper(II) diethyldithiocarbamate as carrier for flame atomic absorption spectrometric determination of cadmium, lead and nickel in environmental samples, **Analytica Chimica Acta**, 353: 181–188.
- Coelho, L.M., Arruda, M.A.Z. 2005. Preconcentration procedure using cloud point extraction in the presence of electrolyte for cadmium determination by flame atomic absorption spectrometry, **Spectrochimica Acta B**, 60: 743–748.
- Çabuk, A., Akar, T., Tunali, S., Tabak, Ö. 2006. Biosorption characteristics of *Bacillus sp.* ATS-2 immobilized in silica gel for removal of Pb(II), **Journal of Hazardous Materials**, B136: 317-323.
- Dogru, M., Gul-Guven, R., Erdogan, S. 2007. The use of *Bacillus subtilis* immobilized on Amberlite XAD-4 as a new biosorbent in trace metal determination, **Journal of Hazardous Materials**, 149: 166–173.
- Dziwulska, U., Bajguz, A., Godlewska-Żyłkiewicz, B. 2004. The use of algae *Chlorella vulgaris* immobilized on Cellex-T support for separation/preconcentration of platinum and palladium, **Analytical Letters**, 37: 2189–2203.
- Ebdon, L., Evans, E. H., Fisher, A. Hill, S. J. 1998. An introduction to analytical atomic spectrometry. John Wiley and Sons, 195 s., England.
- Feo, J. C., Aller, A. J. 2001. Speciation of mercury, methylmercury, ethylmercury and phenylmercury by Fourier transform infrared spectroscopy of whole bacterial cells, **J. Anal. At. Spectrom.**, 16: 146–151.
- Godlewska-Żyłkiewicz, B. 2003. Biosorption of platinum and palladium for their separation/pre-concentration prior to GFAAS determination. **Spectrochimica Acta Part B**, 58: 1531–1540.
- Godlewska-Żyłkiewicz, B., 2006. Microorganisms in inorganic chemical analysis, **Analytical Bioanalytical Chemistry**, 384: 114–123.

- Henden, E., Gökçel, H.İ., Ertaş, N. 2001. Eser analiz (kimyasal iz analiz) yaz okulu, Ege Üniversitesi, 272 s., İzmir.
- <http://www.biltek.tubitak.gov.tr/bilgipaket/canlilar/monera/poznegfark.htm> (erişim tarihi: 20.04.2010)
- <http://www.dnr.state.wi.us/org/es/science/lc/OUTREACH/Publications/LOD%20Guidance%20Document.pdf> (erişim tarihi: 30.04.2010)
- <http://tr.wikipedia.org/wiki/Flotasyon> (erişim tarihi: 07.05.2010)
- <http://www.wizchem.org/skoog/skoog10.ppt> (erişim tarihi: 15.06.2010)
- Hughes, T.C., Hannaker, P. 1978. Metallic phase analysis of multicomponent systems using a potassium cuprochloride-tartaric acid leach, **Analytical Chemistry**, 50: 1197–1201.
- Jianlong, W., Xinmin, Z., Decai, D., Ding, Z. 2001. Bioadsorption of lead(II) from aqueous solution by fungal biomass of *Aspergillus niger*, **J Biotechnol**, 87: 273–277.
- Jianlong, W. 2002. Biosorption of copper(II) by chemically modified biomass of *Saccharomyces cerevisiae*, **Process Biochemistry**, 37: 847–850.
- İmamoglu, M., Aydin, A.O. 2005. Column solid phase extraction of gold, palladium and copper at trace levels on modified silica gel for their atomic absorption spectrometric determination, **Fresenius Environmental Bulletin**, 14: 940-946.
- Kabata-Pendias, A., Mukherjee, A.B. 2007. Trace elements from soil to human, Springer-Verlag, s., Berlin.
- Kapoor, A., Viraraghavan, T. 1997. Heavy metal biosorption sites in *Aspergillus niger*, **Biores Technol**, 61: 221–227.
- Kartal, A.A. 2004. Amberlite XAD 2000 reçinesi ile dolgulu kolonda eser düzeydeki kurşun, demir ve kromun zenginleştirilmesi. Pamukkale Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi, 73 s., Denizli.
- Kazy, S.K., Das, S.K., Sar, P. 2006. Lanthanum biosorption by a *Pseudomonas sp.*: equilibrium studies and chemical characterization. **J Ind Microbiol Biotech**, 33: 773–783.
- Knapek, J., Komarek, J., Krasensky, P. 2005. Determination of cadmium by electrothermal atomic absorption spectrometry using electrochemical separation in a microcell, **Spectrochimica Acta B**, 60: 393–398.



- Koh, J., Kwon, Y., Pak, Y.-N. 2005. Separation and sensitive determination of arsenic species ( $\text{As}^{3+}/\text{As}^{5+}$ ) using the yeast-immobilized column and hydride generation in ICP–AES, **Microchemical Journal**, 80: 195–199.
- Komarek, J., Holy, J. 1999. Determination of heavy metals by electrothermal atomic absorption spectrometry after electrodeposition on a graphite probe, **Spectrochimica Acta B**, 54: 733–738.
- Kourkoutas, Y., Bekatorou, A., Banat, I.M., Marchant, R., Koutinas A.A. 2004. Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review, **Food Microbiology**, 21: 377–397.
- Krishna, M.V.B., Chandrasekaran, K., Rao, S.V., Karunasagar, D., Arunachalam, J. 2005. Speciation of Cr(III) and Cr(VI) in waters using immobilized moss and determination by ICP-MS and FAAS, **Talanta**, 65: 135–143.
- Kuyucak, N., Volesky, B. 1989. Desorption of cobalt-laden algal biosorbent, **Biotechnol Bioeng**, 33: 815–22.
- Lanças, F.M., 2003. The Role of the Separation Sciences in the 21th Century, **J. Braz. Chem. Soc.**, 14: 183–197.
- Lu, W-B, Shi, J-J, Wang, C-H, Chang, J-S. 2006. Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate *Enterobacter sp.* J1 possessing high heavy-metal resistance, **Journal of Hazardous Material**, 134: 80–86.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M. 2010. Brock mikroorganizmaların biyolojisi. Palme Yayıncılık, 992 s., Ankara.
- Madrid, Y., Cabrera, C., Perez-Corona, T., Cámara, C. 1996. Speciation of methylmercury and Hg(II) using Baker's Yeast Biomass (*Saccharomyces cerevisiae*). Determination by continuous flow mercury cold vapor generation atomic absorption spectrometry, **Anal. Chem.**, 67: 750-754.
- Madrid, Y., Cámara, C. 1997. Biological substrates for metal preconcentration and speciation, **Trends in Analytical Chemistry**, 16: 36–44.
- Mahan, C.A., Holcombe, J.A. 1992. Immobilization of algae cells on silica gel and their characterization for trace metal preconcentration, **Anal. Chem.**, 64: 1933–1939.
- Mameri, N., Boudries, N., Addour, L., Belhocine, D., Lounici, H., Grib, H., Pauss, A. 1999. Batch zinc biosorption by a bacterial nonliving *Streptomyces rimosus* biomass, **Water Res**, 33: 1347–1354.
- Mapolelo, M., Torto, N. 2004. Trace enrichment of metal ions in aquatic environments by *Saccharomyces cerevisiae*, **Talanta**, 64: 39–47.

- Maquélra, A., Elhamadi, H.A.M. and Puchades, R. 1994. Use of *Saccharomyces cerevisiae* in flow injection atomic absorption spectrometry for trace metal preconcentration, **Anal. Chem.**, 66: 1462–1467.
- Mendil, D., Tuzen, M., Soylak, M. 2008. A biosorption system for metal ions on *Penicillium italicum* – loaded on Sepabeads SP 70 prior to flame atomic absorption spectrometric determinations, **Journal of Hazardous Materials**, 152: 1171–1178.
- Menegário, A.A., Smichowski, P., Polla, G. 2005. On-line preconcentration and speciation analysis of Cr(III) and Cr(VI) using baker's yeast cells immobilised on controlled pore glass, **Analytica Chimica Acta**, 546: 244–250.
- Mitra, S. 2003. Sample preparation techniques in analytical chemistry. Wiley Interscience, 458 p., New Jersey.
- Mizuike, A. 1983. Enrichment techniques for inorganic trace analysis, Springer Verlag, 144 p., New York.
- Mizuike, A. 1986. Preconcentration techniques for inorganic trace analysis, **Fresenius Z Anal Chem**, 324: 672–677.
- Nakajima, A., Yasuda, M., Yokoyama, H., Ohya-Nishiguchi, H., Kamada, H. 2001. Copper biosorption by chemically treated *Micrococcus luteus* cells. **World J Microbiol Biotechnol**, 17: 343–347.
- Nakajima, A., Tsuruta, T. 2004. Competitive biosorption of thorium and uranium by *Micrococcus luteus*, **J Radioanal Nucl Chem**, 260: 13–18.
- Nieboer, E., Richardson, D.H.S. 1980. The replacement of the no-descript term 'heavy metals' by a biologically and chemically significant classification of metal ions, **Environ Pollut Series B**, 1: 3–26.
- Niu, H., Xu, X.S., Wang, J.H. 1993. Removal of lead from aqueous solutions by *Penicillium* biomass, **Biotechnol Bioeng**, 42: 785–787.
- Özdemir, S., Kilinc, E., Poli, A., Nicolaus, B., Guven, K. 2009. Biosorption of Cd, Cu, Ni, Mn and Zn from aqueous solutions by thermophilic bacteria, *Geobacillus toebii* sub.sp. *decanicus* and *Geobacillus thermoleovorans* sub.sp. *stromboliensis*: Equilibrium, kinetic and thermodynamic studies, **Chemical Engineering Journal**, 152: 195–206.
- Park, D., Yun, Y.S, Park, J.M. 2005. Use of dead fungal biomass for the detoxification of hexavalent chromium: screening and kinetics, **Process Biochem**, 40: 2559–2565.

- Pazirandeh, M., Chrisey, L.A., Mauro, J.M., Campbell, J.R., Gaber, B.P. 1995. Expression of the *Neurospora crassa* metallothionein gene in *Escherichia coli* and its effects on heavy-metal uptake, **Appl Microbiol Biotechnol**, 43: 1112–1117.
- Pearson, R.G. 1963. Hard and soft acids and bases, **J Am Chem Soc**, 85: 3533–3539.
- Perez-Corona, T., Madrid, Y., Cámara, 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 cells (*Saccharomyces cerevisiae*), **Analytica Chimica Acta**, 345: 249-255.
- Pérez-Corona, T., Madrid-Albamin, Y., Cámara, C., Beceiro, E. 1998. Living organisms as an alternative to hyphenated techniques for metal speciation. Evaluation of baker's yeast immobilized on silica gel for Hg speciation, **Spectrochimica Acta Part B**, 53: 321–329.
- Prasad, K., Gopikrishna, P., Kala, R., Prasada Rao, T., Naidu, G.R.K. 2006. Solid phase extraction vis-à-vis coprecipitation preconcentration of cadmium and lead from soils onto 5,7-dibromoquinoline-8-ol embedded benzophenone and determination by FAAS, **Talanta**, 69: 938–945.
- Rangsayatorn, N., Pokethitiyook, P., Upatham, E.S., Lanza, G.R. 2004. Cadmium biosorption by cells of *Spirulina platensis* TISTR 8217 immobilized in alginate and silica gel, **Environment International**, 30: 57–63.
- Selatnia, A., Bakhti, M.Z., Madani, A., Kertous, L., Mansouri, Y. 2004. Biosorption of Cd<sup>2+</sup> from aqueous solution by a NaOH-treated bacterial dead *Streptomyces rimosus* biomass, **Hydrometallurgy**, 75: 11–24.
- Skoog, D.A., Holler, F.J., Nieman, T.A. 1997. Principles of instrumental analysis, Saunders, 849 s., Philadelphia.
- Soylak, M., Narin, I., Elci, L., Dogan, M., 2002. Copper, nickel, lead and chromium determination by atomic absorption spectrometry in urine after enrichment/separation on Amberlite XAD-2000, **Fresenius Environmental Bulletin**, 11: 132-136.
- Soylak, M., Tuzen, M., Mendil, D., Turkecul, I. 2006. Biosorption of heavy metals on *Aspergillus fumigatus* immobilized Diaion HP-2MG resin for their atomic absorption spectrometric determinations, **Talanta** 70: 1129–1135.
- Tajes-Martínez, P., Beceiro-González, E., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D. 2006. Micro-columns packed with *Chlorella vulgaris* immobilised on silica gel for mercury speciation, **Talanta** 68: 1489–1496.

- Tan, T., Cheng, P. 2003. Biosorption of metal ions with *Penicillium chrysogenum*, **Appl Biochem Biotechnol**, 104: 119–128.
- Tezcan, R., Tezcan, H. 2007. *Metaller Kimyası*. Nobel Yayın Dağıtım, 288 s. , Ankara.
- Tunali, S., Çabuk, A., Akar, T. 2006. Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil, **Chem Eng J**, 115: 203–211.
- Tuzen, M., Parlar, K., Soylak, M. 2005. Enrichment/separation of cadmium(II) and lead(II) in environmental samples by solid phase extraction, **Journal of Hazardous Material**, B121: 79–87.
- Tuzen, M., Uluozlu, O.D., Usta, C., Soylak, M. 2007a. Biosorption of copper(II), lead(II), iron(III) and cobalt(II) on *Bacillus sphaericus*-loaded Diaion SP-850 resin, **Analytica Chimica Acta**, 581: 241–246.
- Tuzen, M., Saygi, K.O., Usta, C., Soylak, M. 2007b. *Pseudomonas aeruginosa* immobilized multiwalled carbon nanotubes as biosorbent for heavy metal ions, **Bioresource Technology**, 99: 1563–1570.
- Tuzen, M., Uluozlu, O. D., Soylak, M. 2007c. Cr(VI) and Cr(III) speciation on *Bacillus sphaericus* loaded diaion SP-850 resin, **Journal of Hazardous Materials**, 144: 549–555.
- Tuzen, M., Soylak, M. 2008. Biosorption of aluminum on *Pseudomonas aeruginosa* loaded on Chromosorb 106 prior to its graphite furnace atomic absorption spectrometric determination, **Journal of Hazardous Materials**, 154: 519–525.
- Tuzen, M., Melek, E., Soylak, M. 2008. Solid-phase extraction of copper, iron and zinc ions on *Bacillus thuringiensis israelensis* loaded on Dowex optipore V-493, **Journal of Hazardous Materials**, 159: 335-341.
- Uslu, G., Tanyol, M. 2006. Equilibrium and thermodynamic parameters of single and binary mixture biosorption of lead(II) and copper(II) ions onto *Pseudomonas putida*: effect of temperature, **J Hazard Mater**, 135: 87–93.
- Vannela, R., Verma, S.K. 2006. Cu<sup>2+</sup> removal and recovery by SpiSORB: batch stirred and up-flow packed bed columnar reactor systems, **Bioprocess Biosyst Eng**, 29: 7–17.
- Vecchio, A., Finoli, C., Simine, D.D., Andreoni, V. 1998. Heavy metal biosorption by bacterial cells, **Fresenius J Anal Chem**, 361: 338–342.

- Vijayaraghavan, K., Han, M.H., Choi, S.B., Yun, Y.S. 2007. Biosorption of Reactive black 5 by *Corynebacterium glutamicum* biomass immobilized in alginate and polysulfone matrices. **Chemosphere**, 68: 1838–1845.
- Vijayaraghavan, K., Yun, Y.S. 2008. Bacterial biosorbents and biosorption, **Biotechnology Advances**, 26: 266–291.
- Volesky, B., 2007. Biosorption and me, **Water Res**, 41: 4017–4029.
- Wang, J., Chen, C. 2009. Biosorbents for heavy metals removal and their future, **Biotechnology Advances**, 27: 195–226.
- Won, S.W., Choi, S.B., Yun, Y.S. 2005. Interaction between protonated waste biomass of *Corynebacterium glutamicum* and anionic dye Reactive Red 4, **Colloids Surf A Physicochem Eng Asp**, 262: 175–180.
- Yıldız, A., Genç, Ö. 1993. Enstrümantal Analiz. Hacettepe Üniversitesi Yayınları A-64, 480 s., Ankara.
- Zhu, G., Li, S. 2001. Separation and preconcentration of chromium species by selective absorption on *Lemna minor* and determination by slurry atomisation electrothermal atomic absorption spectrometry, **Analyst**, 126: 1453-1455.
- Ziagova, M., Dimitriadis, G., Aslanidou, D., Papaioannou, X., Tzannetaki, E. L., Liakopoulou-Kyriakides, M. 2007. Comparative study of Cd(II) and Cr(VI) biosorption on *Staphylococcus xylosus* and *Pseudomonas* sp. in single and binary mixtures, **Bioresource Technology**, 98: 2859–2865.
- Zouab, X., Cuic, Y., Changa, X., Zhua, X., Hua Z., Yanga, D. 2009. Silica gel surface modified with sulfanilamide for selective solid-phase extraction of Cu(II), Zn(II) and Ni(II), **Intern. J. Environ. Anal. Chem.**, 89: 1043–1055.

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Gülşen GÜVEN  
Doğum Yeri ve Tarihi : Aydın, 22.09.1977

### EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : Hacettepe Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Kimya Öğretmenliği  
Yüksek Lisans Öğrenimi : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı  
Bildiği Yabancı Diller : İngilizce, Almanca

### BİLİMSEL FAALİYETLERİ

- a) Yayınlar
  - SCI
  - Diğer
- b) Bildiriler
  - Uluslararası
    - 1) **Güven, G.**, Demir, M., “Analysis of some pollutant parameters of Büyük Menderes River in Aydın Region”, 4th Aegean Analytical Chemistry Days, 179-181, Kuşadası-Aydın, 2004.
    - 2) **Güven, G.**, Soysal, S.E., Demir, M., Başbülül, G., “Preconcentration and separation of cadmium ion on a thermophilic bacterium loaded on silica gel” 5th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, 170, Fatsa-Ordu, 2009.
    - 3) Soysal, S.E., **Güven, G.**, Demir, M., Bıyık, H.H., “Preconcentration and separation copper (II) ions using solid phase extraction by *Anoxybacillus favithermus* HBB 134 immobilized on silica gel”, 5th Black Sea Basin Conference on Analytical Chemistry, Fatsa-Ordu, 171, 2009.

## —Ulusal

- 1) Karadağ, E., **Demirli, G.**, Kundakçı, S., Çaldıran, Y., Saraydın, D., “Akrilamid / maleik asit hidrojenlerinin şişmesine trimetilolpropan triakrilat ve 1,4-butandiol dimetakrilatın etkisi”, PK-P30, XV. Ulusal Kimya Kongresi, 2001.
- 2) **Güven, G.**, Soysal, S.E., Demir, M., Başbülbul, G., “Silika jel üzerine immobilize edilmiş *Geobacillus toebii* HBB 214 ile Cu(II) iyonlarının zenginleştirilmesi”, Kromatografi 2009, 55, Trabzon, 2009.
- 3) **Güven, G.**, Demir, M., “Silika jel üzerine immobilize edilmiş *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22 ile Cu(II), Pb(II) ve Zn(II) iyonlarının zenginleştirilmesi”, I.Eser Analiz Çalıştay, 76, Pamukkale-Denizli, 2010.
- 4) **Güven, G.**, Demir, M., *Geobacillus Thermoglucosidasius* HBB 269 yüklenmiş silika jel ile katı faz ekstraksiyonu sonrası bazı eser metallerin ICP-OES ile tayini”, I.Eser Analiz Çalıştay, 19, Pamukkale-Denizli, 2010.

## Katıldığı Projeler

- 1) Büyük Menderes Nehri, Aydın Yöresi yüzey sularında bazı kirleticilerin düzeylerinin araştırılması, ADÜ Bilimsel Araştırma Fonu, FEF 02001, **Araştırmacı**, 2004.
- 2) Bazı termofilik bakteriler yardımıyla bazı metal iyonlarının ayırma ve zenginleştirme olanaklarının araştırılması, ADÜ Bilimsel Araştırma Fonu, FEF 08-036, **Araştırmacı**, 2010.

**İŞ DENEYİMİ**

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl : Adnan Menderes Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, 1999-

**İLETİŞİM**

E-posta Adresi : gguven@adu.edu.tr  
Tarih : 29/07/2010