T.C

DİCLE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Anoxybacillus caldiproteolyticus ve *Geobacillus stearothermophilus* ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Reçinesi Kullanılarak Cd(II) İyonunun Biyosorpsiyonu, Önderiştirilmesi ve FAAS ile Tayini

BARIŞ ENEZ

DOKTORA TEZİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR

HAZİRAN- 2015

T.C

DİCLE UNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

DİYARBAKIR

Barış ENEZ tarafından yapılan "***Anoxybacillus caldiproteolyticus* ve *Geobacillus stearothermophilus* ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Reçinesi Kullanılarak Cd(II) İyonunun Biyosorpsiyonu, Önderiştirilmesi ve FAAS ile Tayini**" konulu bu çalışma , jürimiz tarafından Biyoloji Anabilim Dalında DOKTORA tezi olarak kabul edilmiştir

Jüri Üyesinin

Ünvanı Adı Soyadı

Başkan: Prof Dr. Abdunnasır YILDIZ

Üye : Prof.Dr. Birol OTLUDİL

Üye : Doç.Dr. Sadin ÖZDEMİR

Üye : Yrd.Doç.Dr. Veysi OKUMUŞ

Üye : Yrd.Doç.Dr. Sema FİNCAN (Danışman)

Tez Savunma Sınavı Tarihi: 11/06/2015

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

.../...../201..

Doç.Dr. Mehmet YILDIRIM

ENSTİTÜ MÜDÜRÜ

(MÜHÜR)

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca çalışmanın her aşamasında yakın ilgi ve desteğini esirgemeyen anlayış ve sabırla beni yönlendiren değerli danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Sema AGÜLOĞLU FİNCAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin yapılabilmesi için her türlü imkânı sağlayan ve tezimin her aşamasında bilgi ve tecrübesinden faydalandığım Fen Edebiyat Fakültesi Dekanı değerli ikinci danışman hocam Sayın Prof. Dr. Berrin ZİYADANOĞULLARI'na, teşekkürü borç bilirim.

Çalışmamda yardımını esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Recep ZİYADANOĞULLARI'na teşekkür ederim.

Çalışmamın deneysel ve tez yazımı aşamasında, bilgi ve deneyimleriyle yol gösteren, her daim desteği ile yanımda olarak anlayış gösteren değerli hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Elif VARHAN ORAL'a teşekkür ederim.

Çalışmam sırasında fikirlerinden yararlandığım Doç. Dr. Sadin ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Benim bugünlere gelmemi sağlayan, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen ve haklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim aileme ve manevi desteğini gördüğüm değerli arkadaşım Kamil KAHRAMAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam da bana her türlü desteği veren Arş. Gör. Figen EREK'e , Gurbet CANPOLAT'a ve Veysi ORTAKAYA, İsmail YENER, Erdal ERTAŞ'a teşekkür ederim.

Dicle Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne (DÜBTAM) teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

TEŞEKKÜR …… .. I

İÇİNDEKİLER …… II

ÖZET ……... VII

ABSTRACT…… VIII

ÇİZELGE LİSTESİ…… IX

ŞEKİL LİSTESİ…….. X

KISALTMA VE SİMGELER…… XII

1. GİRİŞ …….. ……... 1

2. KAYNAK ÖZETLERİ…… 5

2.1. Ağır Metaller…….. 5

2.1.1.Ağır Metallerin Çevre ve Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi…….. 5

2.1.2. Kadmiyum…….. 7

2.1.3. Atık Sulardan Ağır Metallerin Giderim Yöntemleri…….. 10

2.2. Biyosorpsiyon……. 13

2.2.1. Biyosorbent Maddeler…….. 15

2.2.2. Biyosorpsiyon Mekanizmaları……. 17

2.2.3. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler…… 19

2.3. Eser Elementlerin Zenginleştirme Yöntemleri……... 19

2.3.1. Sıvı- Sıvı Özütleme Yöntemi…….. 20

2.3.2. Birlikte Çöktürme ile Zenginleştirme…….. 20

2.3.3. Elektrolitik Biriktirme Yöntemleri…….. 20

2.3.4. İyon Değiştirme Yöntemi…… 21

2.3.5. Uçuculaştırma Yöntemi……... 21

2.3.6. Katı Faz Özütleme Yöntemi…… 22

2.3.6.1. Kolon Tekniği……... 24

2.3.6.2. Süzme Tekniği…….. 25

2.3.6.3. Batch (Çalkalayıcı) Tekniği……. 25

2.4. Amberlit XAD Reçineleri……... 26
2.5. Termofilik Bakteriler…….. 28
2.5.1. *Anoxybacillus*……... 28
2.5.2. *Geobacillus stearothermophilus*…….. 29
2.6. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre……. 29
2.7. Katı Faz Ekstraksiyonu ile İlgili Literatür Özetleri…… 33
3. MATERYAL VE METOT…….. 49
3.1. Biyolojik Materyal……. 49
3.2. Kullanılan Besi Yerleri…….. 49
3.2.1. Katı besi yeri…… 49
3.2.2. Sıvı besi yeri…… 49
3.3. Kimyasal Maddeler……. 49
3.4. Kullanılan Aletler……... 49
3.5. Çözeltilerin Hazırlanması……... 50
3.5.1. Kadmiyum Stok Çözeltisi, 1000 mg/L…… 50
3.5.2. Kadmiyum Standart Çözeltileri…….. 50
3.5.3. Hidroklorik Asit Çözeltisi (4 M)……. 50
3.5.4. Hidroklorik Asit Çözeltisi (2 M)……. 50
3.5.5. Hidroklorik Asit Çözeltileri (0.25, 0.5, 1 M)…….. 51
3.5.6. Nitrik Asit Çözeltisi, 2M……. 51
3.5.7. Nitrik Asit Çözeltileri (0.25, 0.5, 1 M)..... 51
3.5.8. Sodyum Hidroksit Çözeltisi, 1M……. 51
3.5.9. Sodyum Hidroksit Çözeltisi (0.25, 0.5 M) …… 51
3.6. Kapların Temizliği …… 51
3.7. Bakteri örneklerinin alınması ve izolasyonu …… 51
3.8. İzole edilen suşun saklanması ……. 52
3.9. Bakterinin tanımlanması…….. 52

3.10. *G. stearothermophilus*'un Üretimi……. 52

3.11. *Anoxybacillus caldiproteolyticus*'un Üretim Ortamının Optimizasyonu…….. 52

3.11.1. İnkübasyon Süresinin Bakteri Gelişimi Üzerine Etkisi……. 52

3.11.2. Sıcaklığın Mikroorganizma Gelişimi Üzerine Etkisi……. 52

3.11.3. Mikroorganizma Gelişimi Üzerine pH'nın Etkisi …….. 53

3.11.4. Bakteri için Uygun Besi yerinin Belirlenmesi …… 53

3.12. Bakteri Hücrelerinin Kurutulması ve Biyosorpsiyon için Hazırlanması…… 53

3.13. Kurutulmuş Bakterilerin Amberlit XAD-16 Üzerine Tutuklanması

(İmmobilize Edilmesi) …….. 53

3.14. Biyosorpsiyon Çalışmaları için Kolonun Hazırlanması…… 54

3.15. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Zenginleştirme Yöntemi …….. 54

3.16. Optimizasyon Çalışmaları …… 55

3.16.1. pH'nın Bakterilerin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi …… 55

3.16.2. Örnek Akış Hızının Metal Biyosorpsiyonuna Etkisi…… 55

3.16.3. Elüent Derişimi, Türü ve Hacminin Etkisi ……. 55

3.16.4. Biyosorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi ……. 55

3.16.5. Örnek Çözelti Hacminin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi ……. 56

3.16.6. Yeniden Kullanılabilirliği …… 56

3.16.7. Yabancı İyon Etkisi …… 56

3.16.8. Yöntemin Kesinliği …… ……. 57

3.16.9 Standart Referans Madde Analizi ……... 57

3.17. Araştırılan Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması. …… 57

3.18. Gözlenebilme ve Tayin Sınırları …….. 58

4. ARAŞTIRMA BULGULARI ……. 59

4.1. Bakterileri örneklerinin alınması, izolasyonu ve tanımlanması ……. 59

4.2. *A. caldiproteolyticus*'un Morfolojik ve Biyokimyasal

Testlerin Belirlenmesi…….. 60

4.3. Bakteri Üretimi Üzerine Farklı Parametrelerin Etkisi ……. 61

4.3.1. İnkübasyon Süresinin Bakteri Gelişimi Üzerine Etkisi …… 61

4.3.2. Sıcaklığın Mikroorganizma Gelişimi Üzerine Etkisi …… 61

4.3.3. Mikroorganizma Gelişimi Üzerine pH'nın Etkisi …… 62

4.3.4. Bakteri için Uygun Besi yerinin Belirlenmesi ……. 63

4.4. *A. caldiproteolyticus*'un IR Spektrumları ……. 64

4.5. pH'nın *A. caldiproteolyticus'un* Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi ……. 68

4.6. Örnek Çözeltinin Akış Hızının Metal Biyosorpsiyonuna Etkisi …… 69

4.7. Elüsyon Çözeltisinin Akış Hızının Etkisi…… 69

4.8. Elüent Derişimi, Türü ve Hacminin Etkisi…….. 70

4.9. Biyosorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi ……. 72

4.10. Örnek Çözelti Hacminin ve Zenginleştirme Faktörünün Belirlenmesi …… 74

4.11. Yeniden Kullanılabilirliği …… 74

4.12. Yabancı İyon Etkisi ……. 75

4.13. Yöntemin Kesinliği …… 76

4.14. Standart Referans Madde (SRM) …….. …… 77

4.15. Araştırılan Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması ……... 77

4.16. Gözlenebilme ve Tayin Sınırları ……. 78

4.17. *G. stearothermophilus'un* Optimum Üreme Koşulları …….. 78

4.18. *G. stearothermophilus'un* IR Spektrumları …….. 79

4.19. *G. stearothermophilus*'un Metal Biyosorpsiyonu için Optimum Koşulları …….. 82

4.19.1. pH'nın Etkisi …….. 82

4.19.2. Örnek Çözeltinin Akış Hızının Metal Biyosorpsiyonuna Etkisi …….. 82

4.19.3. Elüsyon Çözeltisinin Akış Hızının Etkisi …….. 83

4.19.4. Elüent Derişimi, Türü ve Hacminin Etkisi ……. 84

4.19.5. Biyosorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi ……. 86

4.19.6. Örnek Çözelti Hacminin ve Zenginleştirme Faktörünün Belirlenmesi…… 87

4.19.7. Kolonun Yeniden Kullanılabilirliği…….. 88

4.19.8. Yabancı İyon Etkisi ……. 89

4.19.9. Yöntemin Kesinliği ……. 91

4.19.10. Standart Referans Madde (SRM) ……..……. 91

4.19.11 Araştırılan Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması. …… 91

4.19.12. Gözlenebilme ve Tayin Sınırları …… 92

4.20. Geliştirilen Metotların Karşılaştırılması …….. 93

5. SONUÇ VE TARTIŞMA …… 95

6. KAYNAKLAR ……. 103

ÖZGEÇMİŞ 114

ÖZET

Anoxybacillus caldiproteolyticus ve *Geobacillus stearothermophilus* ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Reçinesi Kullanılarak Cd(II) İyonunun Biyosorpsiyonu, Önderiştirilmesi ve FAAS ile Tayini

DOKTORA TEZİ

BARIŞ ENEZ

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

2015

Bu çalışmada Ergani Makam dağındaki toprak örneğinden temin edilen bakterinin izolasyonu, tanımlanması ve karakterizasyonu yapıldı. Bu araştırmalar sonucunda bakterinin termofilik *Anoxybacillus caldiproteolyticus* olduğu belirlendi. Karakterizasyonu yapılan bu bakteri ile hazır alınan *Geobacillus stearothermophilus*, Amberlit XAD-16'ya immobilize edilerek biyosorpsiyon çalışmalarında kullanılmak üzere iki farklı biyosorbent elde edildi. Elde edilen biyosorbentler ayrı ayrı mini kolonlara doldurudu. Çözelti ortamında bulunan Cd(II) iyonları biyosorbent içeren mini kolonlar kullanılarak zenginleştirildi ve alevli atomik absorpsiyon spektrofotometrisi ile tayin edildi. Ayırma ve önderiştirme verimine çözeltinin pH'sı, akış hızı, elüent tipi, derişimi ve hacmi, örnek hacmi gibi parametrelerin etkileri araştırıldı. *A. caldiproteolyticus* ve *G. stearothermophilus* ile ayrı ayrı immobilize edilen Amberlit XAD-16 için deneysel olarak belirlenen optimum çalışma koşullarında geri kazanım verimleri sırasıyla 98.23± 2.40 ve 98.93 ±1.3 olarak belirlendi (N=5) ve kolonda alıkonan Cd (II) iyonları sırasıyla 1 M 10 mL HCI ve 0.5 M 2 mL HNO_3 çözeltileri ile geri alındı. Her iki biyosorbent için zenginleştirme çalışmalarında optimum pH=6 , akış hızı 2 mL/dk olarak belirlendi. Geliştirilen zenginleştirme metotlarının uygulanabilirliğini araştırmak için Na^+, K^+, Cl^- ve Na^+ gibi matriks iyonlarının geri kazanım verimleri incelendi. Önerilen metotların doğrulukları standart referans madde (SCP SCIENCE EnviroMAT Waste Water, Low (EU-L-2)) analiz edilerek kontrol edildi ve elde edilen sonuçlar geliştirdiğimiz metotlar ile desteklendi. Metotlar Dicle Nehri, Hazar Gölü ve Diyarbakır içme suyu gibi gerçek örneklerde Cd(II) iyonunun tayini için uygulandı.

Anahtar Kelimeler: *Anoxybacillus caldiproteolyticus*, *Geobacillus stearothermophilus*, Biyosorpsiyon, Amberlit XAD-16, FAAS

ABSTRACT

Biosorption, Preconcentration, and Determination of Cd (II) Ion, Using Amberlite XAD-16 Resin Modified wıth *Anoxybacillus caldiproteolyticus* and *Geobacillus stearothermophilus* through FAAS

PhD Thesis

BARIŞ ENEZ

DICLE UNIVERSITY
SCIENCE INSTITUTE
DEPARTMENT OF BIOLOGY

2015

In this study isolation, identification and characterization of the bacteria obtained from soil sample of Ergani Makam Mountain was performed. Based on this study it was identified that was of thermophilic *Anoxybacillus caldiproteolyticus*. These bacteria whose characterization was performed and *Geobacillus stearothermophilus* obtained readily were immobilized on Amberlite XAD-16 and two different sorbents were acquired to be used for sorption studies. The resulting sorbents were loaded into separate mini columns. Cd (II) ions found in the solution were enriched using mini columns containing biosorbent and were determined by flame atomic absorption spectrometric method. The effects of parameters such as the pH of the solution on the separation and preconcentration efficiency, flow rate, eluent type, concentration and the sample volume were investigated. For Amberlite XAD-16 immobilized separately with *A. caldiproteolyticus* and *G. stearothermophilus* the recovery yields were determined as 98.23 ± 2.40 and 98.93 ± 1.3 (N = 5) under the experimentally optimum operating conditions and the Cd (II) ions retained in the column were recovered respectively through 1 M 10 ml of HCl and 0.5 M 2 ml of HNO3 solutions. For both biosorbents optimum pH= 6, and the flow rate was 2 ml / min in the enrichment studies. In order to investigate the applicability of the developed enrichment methods, the maximum recovery of matrix ions such as Na^+, K^+, Cl^- and Na^+ were examined. The accuracy of the proposed methods was analysed through standard reference material (SCP SCIENCE EnviroMAT Waste Water, Low (EU-L-2)) and the results obtained were supplemented by the methods we have developed. Methods were applied for the determination of Cd (II) ions in real samples such as Tigris River, the Hazar Lake and Diyarbakir city drinking water.

Keywords: *Anoxybacillus caldiproteolyticus*, *Geobacillus stearothermophilus*, Biosorption, Amberlit XAD-16, FAAS

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge No		Sayfa
Çizelge 2.1.	Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri	6
Çizelge 2.2.	Kadmiyumun Fiziksel Özellikleri	8
Çizelge 2.3.	Amberlit XAD reçinelerinin fiziksel özellikleri	27
Çizelge 4.1.	*Anoxybacillus caldiproteolyticus*'un Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Testler	60
Çizelge 4.2.	HCl asitinin geri kazanım verimine etkisi	71
Çizelge 4.3.	HNO_3 asitin geri kazanım verimine etkisi	72
Çizelge 4.4.	Bakterinin biyosorpsiyon kapasitesi tayini	73
Çizelge 4.5.	Yabancı iyonların geri kazanıma etkisi	76
Çizelge 4.6.	Optimum şartlarda Cd (II) iyonunu geri kazanma verimlerinin tekrarlanabilirliği	77
Çizelge 4.7.	Standart referans maddede Cd(II) iyonun tayini	77
Çizelge 4.8.	Çeşitli doğal su örneklerinde Cd(II) iyonlarının tayini	78
Çizelge 4.9.	Gözlenebilme ve Tayin Sınırları	78
Çizelge 4.10.	HCl asitinin geri kazanım verimine etkisi	85
Çizelge 4.11.	HNO_3 asitin geri kazanım verimine etkisi	86
Çizelge 4.12.	Bakterinin biyosorpsiyon kapasitesi tayini	87
Çizelge 4.13.	Yabancı iyonların geri kazanıma etkisi	90
Çizelge 4.14.	Optimum şartlarda Cd (II) iyonunu geri kazanma verimlerinin tekrarlanabilirliği	91
Çizelge 4.15.	Standart referans maddede Cd(II) iyonun tayini	91
Çizelge 4.16.	Çeşitli doğal su örneklerinde Cd(II) iyonlarının tayini	92
Çizelge 4.17.	Gözlenebilme ve Tayin Sınırları	92
Çizelge 4.18.	Geliştirilen Metotların Karşılaştırılması	93

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No **Sayfa**

Şekil 2.1. Metallerle indüklenen olası karsinogenez mekanizması 7

Şekil 2.2. Kadmiyum metali 9

Şekil 2.3. Biyosorpsiyon şeması 14

Şekil 2.4. Biyolojik materyaller 16

Şekil 2.5. Hücre metabolizmasına bağlı olarak biyosorpsiyon mekanizmasının sınıflandırılması 18

Şekil 2.6. Katı faz ekstraksiyonu ile maddelerin ayrımı 24

Şekil 2.7. FAAS'nin akış şeması 30

Şekil 2.8. Oyuk katot lambası 31

Şekil 2.9. AAS'de atomlaştırma süreçleri 32

Şekil 4.1. *A. caldiproteolyticus*'un 16S rRNA analizi 59

Şekil 4.2. Bakteri üremesi üzerine inkübasyon süresinin etkisi 61

Şekil 4.3. Bakteri üremesi üzerine sıcaklığın etkisi 62

Şekil 4.4. Bakteri üremesi üzerine pH'nın etkisi 63

Şekil 4.5. Besi yerinin bakteri üremesine etkisi 63

Şekil 4.6. Amberlit XAD-16 FT-IR Spektrumu 64

Şekil 4.7. *A. caldiproteolyticus*'un spektrumu 65

Şekil 4.8. *A. caldiproteolyticus* ile Modifiye Edilmis Amberlit XAD-16 FT-IR Spektrumu 66

Şekil 4.9. Modifikasyon ile oluşturulan klon maddesinden metal geçirildikten sonraki FT-IR spektrumlar 67

Şekil 4.10. Cd verimine pH'nın etkisi 68

Şekil 4.11. Örnek çözeltinin akış hızın etkisi 69

Şekil 4.12. Elüsyon Çözeltisinin Akış Hızının Etkisi 70

Şekil 4.13. Biyosorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi 73

Şekil 4.14. Örnek Çözelti hacminin metal biyosorpsiyonuna etkisi 74

Şekil 4.15. Biyosorbentin yeniden kullanılması 75

Şekil 4.16. *G. stearothermophilus'un spektrumu* 79

Şekil 4.17. *G. stearothermophilus* ile Modifiye Edilmis Amberlit XAD-16 FT-IR Spektrumu 80

Şekil 4.18. Modifikasyon ile oluşturulan klon maddesinden metal geçirildikten sonraki

FT-IR spektrumları 81
Şekil 4.19. pH'nın etkisi 82
Şekil 4.20. Örnek çözeltinin akış hızın etkisi 83
Şekil 4.21. Elüsyon Çözeltisinin Akış Hızının Etkisi 84
Şekil 4.22. Biyosorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi 87
Şekil 4.23. Örnek Çözelti hacminin metal biyosorpsiyonuna etkisi 88
Şekil 4.24. Biyosorbentin yeniden kullanılması 89

KISALTMA VE SİMGELER

FAAS : Alevli Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

BSS : Bağıl Standart Sapma

SRM : Standart Referans Madde

LOD : Limit of Detection

LOQ : Limit of Quantification

NB: Nutrient Broth

$NB_ç$: Nutrient Broth çeşme suyu

NA: Nutrient Agar

CASO: Casein-pepton Soymeal-peptone

$CASO_ç$: Casein-pepton Soymeal-peptone çeşme suyu

LB: Luria Bertani Broth

$LB_ç$: Luria Bertani Broth çeşme suyu

MRS: de Man, Rogosa ve Sharpe

$MRS_ç$: de Man, Rogosa ve Sharpe çeşme suyu

Cd: Kadmiyum

HCI: Hidroklorik asit

HNO_3: Nitrik asit

mL: Mililitre

nm: Nanometre

ppm: Milyonda bir birim

µg: Mikrogram

mg: Miligram

g: Gram

1. GİRİŞ

Yaşadığımız yüzyılda gerek nüfusun artması gerekse sanayi ve teknolojinin gelişmesine bağlı olarak çevreyi tehdit eden bazı sorunlar ortaya çıkmıştır. Özellikle sanayi tesisleri fazla olan bölgelerde su, toprak ve hava gibi çevre kirlilikleri meydana gelmektedir. Nüfusun yoğunluğunun da etkisi ile birlikte, kirlilik oranı artmakta ve kirlilik sorunlarının çözümü için maliyeti yüksek kompleks tesislere ihtiyaç duyulmaktadır (Karadağ 2008). Bundan dolayı çevrenin yaşanılabilir olması ve kirleticilerden arındırılması için yapılan çalışmalar önem taşımaktadır. Bu çalışmalar içerisinde su kirliliği ile yapılanlar daha fazla önem arz etmektedir. Bunun nedeni ise toprak ve havadaki kirleticilerin yıkanarak su kaynaklarına karışmasıdır. Ayrıca dünya kullanılabilir su kaynaklarının % 3 olması da bu alanla ilgili yapılan çalışmaların önemini arttırmış ve araştırmacılar bu yöne yönlenmiştir (Demirtaş 2001).

Ağır metaller, oldukça zararlı çevre kirleticileridir. Ağır metal kirlenmeleri genellikle endüstriyel aktivitelerden ve doğal kaynaklardan meydana gelir. Atık sularında ağır metal bulunduran kuruluşlar, ekolojik dengenin bozulmasına ve çevre kirliliğinin artmasına neden olurlar. İlgili endüstri kuruluşları, süreçleri gereği çeşitli ağır metalleri kullanmaktadır (Sağlam ve Cihangir 1995). İnsan sağlığı açısından da ağır metallerin tehlikeli olduğu görülmektedir. Sonuç olarak kirlilik kaynaklarından oluşan atık sular çevreye verilmeden önce arıtma işlemine tabii tutulup çeşitli su analiz verilerine göre izin verilen kirlilik oranlarının altına düşürülmelidir (Nies 1991).

Metallerin uzaklaştırılması için fiziksel ve kimyasal yöntemler bulunmaktadır; ancak bunlar uygulanması maliyetli ve ayırma işlemleri zor olan tekniklerdir. Bunlara örnek olarak; iyon değişimi, kimyasal çöktürme, ters osmoz ve buharlaştırmayla geri kazanma gibi geleneksel ve etkisiz yöntemler kullanılmaktadır. Sonuç olarak çok düşük yoğunluktaki ağır metallerin indirgenmesi ve seyreltik çözeltilerde metalleri iyileştirmek ya da azaltmak için yeni metotların geliştirilmesi önem arz etmektedir. (Chong ve Volesky 1995, Wilde ve Benamann 1993).

‘’Eser Derişimi’’ olarak kabul edilen derişim aralığı, eser analiz tekniklerindeki gelişmelere paralel olarak zaman içerisinde değişim göstermiştir. 1940’lardan önce, % 10^{-1}-10^{-2}, seyrek olarak da % 10^{-3} eser derişimi olarak kabul edilirken, 1950’lerde %

10^{-3}-10^{-5}, 1965'lerde ise % 10^{-6}-10^{-8} eser derişimi olarak belirtilmiştir. Bu planda ilk adlandırma ve sistematik yaklaşımı Kaiser önermiştir. Kaiser, ppm (mg/L) ve ppb (μg/L) tanımlarını vermiştir. Bugünkü yaygın kullanımda ise % 10^{-2}-10^{-6} derişim aralığı eser, % 10^{-6}'nın altındaki derişimler de ultra eser olarak bilinmektedir (Varhan Oral 2009).

Eser elementler canlı organizma açısından üç esas sınıfa ayrılabilirler. Gerekli eser elementler bakır, mangan, krom, kobalt, vanadyum, selenyum, demir ve çinkodur. Gerekli olmayan, tedavi amacıyla kullanılan eser elementler alüminyum, altın, bizmut, lityum, galyum ve platindir. Gerekli olmayan toksik elementler ise kursun, kadmiyum, gümüş, nikel, arsenik, civa, antimon, tellür ve titandır (İnce 2005)**.** Çalışmamızda kullandığımız bu toksik elementlerden Cd'un özelliklerine bakıldığında kadmiyumun suda ki çözünürlüğünün fazla olduğu görülmektedir. Bu özelliğinden dolayıdır ki doğada yayılma hızı yüksektir (Özge Kahvecioğlu ve ark 2003).

Eser elementlerin tayininde ne atomik absorpsiyon spektrometresi (AAS), indüktif eşlenmiş plazmalı–atomik emisyon spektrometresi (ICP-AES), indüktif eşlenmiş plazmalı-kütle spektrometresi (ICP-MS), x-ışınları floresans (XRF) spektrometresi, UV görünür spektrofotometresi, florimetre gibi spektral aletlerle ne de voltametri ve potansiyometri gibi elektroanalitik yöntemler ile direkt olarak analiz yapılamamaktadır. Analizin yapılabilmesi için bazı ön işlemlere tabii tutulması gerekmektedir. Ön işlemler sırasında eser elementin başka bir ortama alınarak daha küçük hacimde toplanması işlemlerine ‘‘Zenginleştirme’’ denir (Anılan 2009).

Eser element zenginleştirme yöntemleri arasında sıvı-sıvı özütlemesi (ekstraksiyon), iyon değiştirme kromatografisi, birlikte çöktürme, uçuculaştırma, katı faz özütleme (ekstraksiyon) ve elektro biriktirme yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu yöntemlerden katı faz özütleme yöntemi, katı fazın tekrar kullanılabilirliği, hızlı, ucuz, yüksek zenginleştirme faktörü elde edilebilmesi ve çevre kirliliği açısından daha az riskli olmasından dolayı daha çok tercih edilmektedir. Günümüzde eser metal iyonlarının katı faz ekstraksiyonu ile zenginleştirme çalışmalarında immobilizasyon tekniği yaygın olarak kullanılmaktadır. Eser metal iyonlarının immobilizasyon ile zenginleştirilmesi çalışmalarında, kolon dolgu maddesi olarak birçok doğal ve yapay maddeler kullanılmaktadır. Bunlar arasında

mikroorganizmalar (alg, mantar, maya, bakteri) silikajel, naftalin, sepiolit, çok yüzeyli karbon nanotüp, Amberlite XAD türü reçineler vb. sayılabilir (Sternberg ve Dorn 2002).

Biyosorpsiyonu en genel anlamda ifade etmek gerekirse, biyolojik materyallerle özellikle de ölü mikroorganizmalarla sulu çözeltilerden inorganik (metal iyonları, radyoaktif elementler vb) ve organik (boyar maddeler vb) kirleticilerin ve geri kazanılması olarak tanımlanabilir. Metal biyosorpsiyonunda etkin olarak kullanılacak biyolojik moleküler oldukça geniş bir spektruma sahiptir. Bunlar arasında çeşitli bakteri, maya, mantar ve algleri saymak mümkündür (Costa 1991, Blais 1993).

Kullanılan türlerde; mikroorganizmaların aktif ve inaktif biyokütleleri karşılaştırıldığında inaktif mikroorganizmaların bazı avantajları bulunmaktadır. İnaktif mikroorganizmalar oda sıcaklığında kısa süreli etkilenmez ve uzun süre saklanabilirler. Ayrıca metalin toksik etkisinden etkilenmez ve besin ihtiyacı duymazlar. Bunların dışında biyosorpsiyon kapasitesini artırmak için biyokütle kimyasal ve fiziksel ön işlemlerle öldürülmesi gibi ayrıca bazı işlemlerden geçirilmesiyle de sağlanabilir (Göksungur ve ark. 2003).

Ölü veya canlı mikroorganizmalar, endüstriyel kuruluşlar tarafından doğaya verilen atık sulardaki ağır metalleri toplamada ve ayırmada önemli role sahiptirler. Metabolizmaya bağlı olan metal tutması inaktif mikroorganizmalarda metallerin hücre içersine girmesi ile olmaktadır. Metabolizmaya bağlı olmayan metal tutunması olayı çoğu zaman ölü mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilir (Baytak 2003). Yalnız canlı mikroorganizmalarla çalışmanın bazı olumsuz yanları da bulunmaktadır. Bunların başında mikroorganizmanın ağır metali bağlama ve ürediği zaman koşullarının aynı olmaması, derişimi yüksek olan metal iyonları ya da mikroorganizmanın ağır metal iyonlarının büyük kısmını biyosorbe ettiği zaman üremesinde inhibisyona neden olması sayılabilir. Bu sebeplerden dolayı metal biyosorpsiyonunda ölü mikroorganizmaların kullanımı tercih edilmektedir **(**Özvardallı 2006**).**

Ağır metallerin biyolojik olarak iyileştirilmesinde kullanılan mikroorganizmalar (biyoremediasyon), sadece bilimsel yenilik yönünden değil, aynı zamanda endüstrideki potansiyel uygulanırlığı açısından da son yıllarda büyük ilgi çekmeye başlamıştır. İlk olarak radyoaktif elementlerin sulu ortamda mikroorganizmalar tarafından doğrudan

tutunabildiğine dikkat çekilerek mikroorganizmaların bu özelliklerinin yaşam fonksiyonlarından bağımsız olarak meydana geldiği görülmüştür (Tsezos 1981).

Araştırmamızda kullanılan *Anoxybacillus caldiproteolyticus* topraktan izolasyonu gerçekleştirilerek tanımlanması, karekterizasyonu ve üremesi için gerekli pH, zaman, sıcaklık gibi parametreler araştırılarak optimum şartları belirlendi. *Geobacillus stearothermophilus* (DSM 5934 ve ATCC 7953) ise ticari olarak alındı.

Çalışmamızın amacı; *A. caldiproteolyticus* ve *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 kullanılarak kadmiyum iyonun biyosorpsiyonu ve önderiştirilmesi üzerine çalışmalar yaparak daha ekonomik ve kullanılabilir metot geliştirildi. Bu amaçla kadmiyum iyonunun optimum zenginleştirme koşulları araştırıldı Ayırma ve önderiştirme verimine pH, çözelti akış hızı, yabancı iyon etkisi, elüent tipi, derişimi ve hacmi, biyosorpsiyon kapasitesi, örnek çözelti hacmi gibi parametrelerin etkileri incelendi. Bu metoda göre düşük metal konsantrasyonuna sahip sular, konsantre edilerek FAAS gibi aletlerle ölçülebilirliği ve biyoteknolojik olarak değerlendirilmesi amaçlandı.

2. KAYNAK ÖZETLERİ

2.1. Ağır Metaller

Yoğunluğu 5 g/cm^3'ten büyük olan veya atom ağırlığı 50'ye eşit elementlere ağır metaller denir. Ağır metallere örnek olarak; Kadmiyum (Cd), Demir (Fe), Bakır (Cu), Kurşun (Pb), Çinko (Zn), Civa (Hg), Kobalt (Co), Krom (Cr) ve Nikel (Ni) verilebilir (Karadağ 2008). Ağır metaller yer kabuğunda bozulmadan ve yok edilemeden bulunan doğal bileşiklerdir. İnsan vücuduna, tüketilen gıdalar ve içme suyunun yanında hava ile alınmaktadırlar. Bakır, selenyum ve çinko gibi bazı metaller insan metabolizması için gereklidir. Bu metaller yüksek derişimler de ise zehirlenmelere yol açabilirler. Ağır metaller biyobirikime yol açtığından oldukça tehlikeli maddelerdir. Endüstrideki gelişme canlı ekosistemlere ve çevreye ağır metal bırakımını arttırmış, canlılar üzerinde olumsuz etkiler bırakmıştır. Biyobirikim, zaman içerisinde organizmalardaki kimyasal konsantrasyonun o kimyasalın doğadaki konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında miktarındaki artış anlamına gelir (Anonymous. http://www.food-info.net/tr/metal/intro.htm).

Doğal çevrede ağır metal kirlenmesine sebep olan fazla sayıda uygulama alanı mevcuttur. Bu kirlenmeye etki eden faktörlerin başında endüstriyel uygulamaların, radyoaktif metallerin işlenmesi, çöp fırınları, metal ile kaplama işlemleri, madencilik ve egzoz gazı alanları gelmektedir (Ahalya ve ark. 2003). Sanayideki gelişim ile orantılı olarak çevrede oluşan metal birikimi de hızlı olarak artmaktadır (Ceribasi ve Yetis 2001).

2.1.1. Ağır Metallerin Çevre ve Mikroorganizmalar Üzerine Etkisi

Ağır metallerin hidrojeokimyasal döngüleri büyük oranda insanlar tarafından hızlandırılan elementlerdir. Bu nedenle son yıllarda çevreyi oluşturan zincirin her halkasına (canlı veya cansız) girmişlerdir. Söz konusu elementlerden bazıları canlı dokularında eser element veya mikro element olarak adlandırılmakta ve kültür bitkileri tarafından küçük çapta da olsa besin amacıyla absorbe edilmektedirler. İnsan ve hayvan dokularında da bu elementlerin bir kısmı iz düzeyde gereklidir. Ancak gerek biyolojik birikim süreci gerekse de canlıların bu elementlerin yoğunlukla bulundukları ortamda direkt olumsuz etkileri altında kalmaları, önemli bir çevre sorunu olarak karşımıza

çıkmaktadır. Üstelik bu etkinin doğal ortamda kalıcı olabileceği göz önünde tutulursa meselenin boyutları daha da netlik kazanacaktır (Şener 2002).

Endüstriyel alanlardan gelen atık sularda bulunan ağır metaller, su kirliliğine neden olmakta, buna bağlı olarak sucul ekosistemi tehdit eden en önemli sorunlardan birini oluşturmaktadır.

Çizelge 2.1. Temel Endüstrilerden Atılan Metal Türleri (www.metalurji.org.tr)

Endüstriler	**Cd**	**Cr**	**Cu**	**Hg**	**Pb**	**Ni**	**Sn**	**Zn**
Kağıt Endüstrisi	-	+	+	+	+	+	-	-
Petrokimya	+	+	-	+	+	-	+	+
Klor-alkali Üretimi	+	+	-	+	+	-	+	+
Gübre Sanayi	+	+	+	+	+	+	-	+
Demir-Çelik San	+	+	+	+	+	+	+	+
Enerji Üretimi (Termik)	+	+	+	+	+	+	+	+

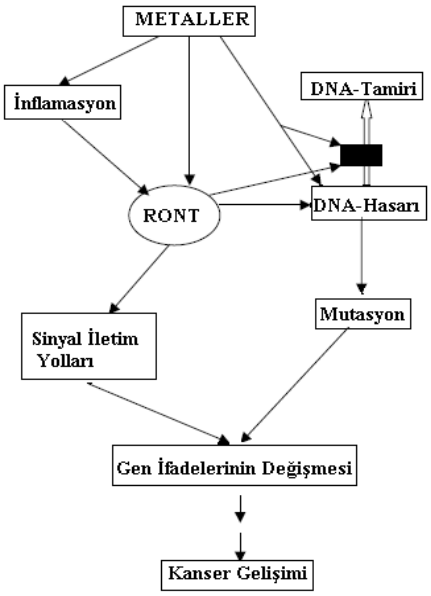
Bunun yanında metaller tüm aerobik ve çoğu anaerobik organizma için esansiyel minerallerdir. Fakat bakır, kurşun, kadmiyum, cıva gibi birçok ağır metalin yüksek miktarlarının insan sağlığını ciddi derecelerde etkilediği kanıtlanmıştır. İnsan vücudu ağır metalleri işleyemez ve dışarı atamaz. Sonuçta bu ağır metaller çeşitli iç organlarda birikir. Yüksek miktarlarda birikim de insan vücudunda ciddi zararlara neden olabilir (Forster ve Wase 1997).

Birçok kimyasal birleşik gibi ağır metaller de mikroorganizmalar üzerine toksik etkiye sahiptir. Toksik madde, küçük miktarlarda dahi alındığında hayatı ve ona yön veren temel metabolik ve fizyolojik süreçleri olumsuz olarak etkileyen birleşiklerdir. Etkisi hızlı veya yavaş bir şekilde ortaya çıkabilir. Yerkürede gerek doğal gerekse yapay yollarla sağlanan birleşiklerin ne kadarının tam anlamıyla toksik olduğu, ne kadarının toksik olmadığı konusundaki ayrım net değildir.

Ağır metallerin, mikroorganizmalara hücresel etkileri bulunmaktadır. Özellikle hücresel metabolizması ve yapısal işlevlerini olumsuz yönde etkilemenin yanı sıra hücre zarı ve sitoplazmasına da etki etmektedirler. Metabolizması üzerindeki etkileri ise DNA tahribi, transkripsiyonun inhibisyonu, translasyonun inhibisyonu, hücre membranının bozulması, hücre bölünmesinin inhibisyonu ve protein denatürasyonudur. Fakat mikroorganizmalar, bünyelerine çeşitli yollarla giren metallerin olumsuz etkisinden korunmak için bazı savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Bu savunma mekanizmaları

arasında; pozitif yüklü iyonların negatif yüklü hücre yüzeyine (dış zar ya da hücre membranına) bağlanması, volatilizasyon, bu metalleri hücrenin EPS (ekzopolisakkarit) olarak ta bilinen hücre dışı polimerik maddelere bağlaması, moleküler pompa, hücre içinde indirgeme, hücre içinde alıkoyma, sitoplazmada metallotiyonein gibi proteinlerin üretimi, sitoplazmada metal tuzları olarak presipite etme yer almaktadır (Bozantı ve Gökmen 2011).

Kadmiyum, demir, bakır, krom, nikel ve diğer metal iyonları reaktif oksijen türlerini üretme yeteneği gösterirler. Bu oksijen türleri, hücre içinde oluştuklarında lipid peroksidasyonu, DNA hasarları, sülfidril gruplarının azalması, değişen sinyal geçiş yolları ve kalsiyum homeostazisini indükleme yeteneğine sahiptir. Metal iyonlarının yol açtığı mutasyonlar ya baslangıç ya da tümör ilerlemesinin gözlendiği daha sonraki aşamalarda etkisini gösterir. Ancak karsinojenezis karmaşık bir süreç olduğu için metaller normal hücresel fonksiyonları etkileme ve kanserin gelişimine neden olma gibi pek çok farklı rol alabilirler (Özdemir 2008).



Şekil 2.1. Metallerle indüklenen Olası Karsinogenez Mekanizması (Galaris ve Evangelou 2002**)** (RONT: Reaktif oksijen ve nitrojen türleri)

2.1.2. Kadmiyum

Kadmiyum 1917 yılında çinko karbonat içerisindeki filizlerden tespit edilmiştir. Kadmiyum çinko cevherleri içerisinde 12 değişik yapıda bulunmaktadır. Tabiatta tek başına ekonomik olarak işletilebilir bir tenörde bulunmadığından çinko üretiminin yan

ürünü olarak elde edilmektedir. Gümüş beyazı şeklindeki kadmiyum metalinin pek çok özelliği çinkoya benzemektedir.

Kadmiyum gümüş gibi parlayan metaldir. Kadmiyum buharları tek atomludur. Havada normal sıcaklıkta dayanıklı fakat yüksek sıcaklıkta dayanıksızdırlar ve CdO vermek üzere yükseltgendir. Yükseltgen olmayan asitlerde geç, seyreltik nitrik asitte kolay çözünürler. Fiziksel özellikleriyle ilgili bilgi Çizelge 2.2 de gösterilmiştir.

Çizelge 2.2. Kadmiyumun Fiziksel Özellikleri

Renk	Gümüş beyazı
Atom numarası	48
Atom ağırlığı, g	112,40
Özgül ağırlığı, g/cm^3	8,64
Erime noktası, ^oC	320,9
Kaynama noktası, ^oC	767,3
Yükseltgenme basamağı	2+
Cd atom yarıçapı, ^oA	1,03

Bu özelliklere sahip kadmiyum metali dünyada başta Ni-Cd pilleri olmak üzere sert kaplama, plastik sanayisi stabilizatör ve pigment olarak geniş kullanım alanına sahiptir.

Kadmiyumun sularda müsaade edilen miktarı 10 ppb'dir. İçme suyunda kadmiyumun müsaade edilen miktarı ise sıfırdır. Maksimum değer ise 0,01 mg/L'dir (Karpuzcu 2005).

Kadmiyum zehirlenmesinin yol açtığı belli başlı hastalıklar şu şekilde sıralanabilir; karaciğer ve akciğer hastalıkları, böbrek yetmezliği, kalp reflekslerinin bozulması, halsizlik, sindirim sistemi bozuklukları gibi hastalıklar sıralanabilir. Kadmiyum fazlalığının neden olduğu hastalıkların daha ziyade dolaşım sistemi ile ilgili

olduğu ve hipertansiyon adı verilen yüksek kan basıncına neden olduğu bilinmektedir. Ağız yoluyla kadmiyum alımı ise daha çok kadmiyumlu metal kaplarda saklanan besinlerin yenilmesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Endüstride görülen zehirlenmeler daha çok kadmiyum ve kadmiyum oksit dumanlarının ve tozlarının solunması ile meydana gelmektedir (Derrell 1991).

Birçok bitki türü kadmiyumu kolayca almaktadır. Bu nedenle kadmiyumun sağlığa zararlı olarak ortaya çıkışı, sebzeler ve diğer tarımsal gıdalar tarafından alınan kadmiyumun yoğun olarak zenginleşmesiyle ilgilidir. Bitkiler tarafından alınan yüksek dozda kadmiyumun böbreklerde birikerek vücutta fosfor kalsiyum dengesini bozduğu hayvan ve insanlarda kemik rahatsızlığına yol açtığı görülmektedir.

Kadmiyum içeren atık sular; maden endüstrisi ve metalurjik alaşımlar, kimyasal endüstriler, elektro kaplama prosesleri, seramik üretimi, inorganik boyar maddeler ve tekstil endüstrisinden kaynaklanmaktadır (Tünay 1999).

Metal kaplama ve işleme endüstrilerinden gelen ve yüksek derişimler de ağır metal içeren atık suların arıtımında da kadmiyum kullanılmaktadır. Yani kadmiyum atık sulardaki aşırı metal kirliliği kabul edilebilir seviyede azaltmak için kullanılır. Ancak endüstriyel atık suların içerdikleri metallerin ekonomik olarak geri kazanılması, kullanımda bu metaller için ikincil bir kaynak oluşturabilir.



Şekil 2.2. Kadmiyum metali

Endüstride kullanılan kadmiyumun büyük bir kısmı bu elementin çinko cevheri içinde bulunan karbonat ve sülfür tuzlarından elde edilir. Endüstride ayrıca kadmiyum cevherinden kadmiyum elde edilmesi, metalleri paslanmadan koruyan kaplamaların

yapımında etkilidir. Boya, kadmiyum buharlı lamba, kadmiyum tuzları değişik kadmiyum alaşımlarının elde edilmesi esnasında ortaya çıkar.

Kadmiyum aşırı uzun bir biyolojik yarılanma ömrüne (10-30 yıl) sahiptir ve bu durumdan dolayı çevrede bulunan en toksik maddelerden biri olarak kabul edilmektedir (Yıldırım 2004, Chatterjee 2006).

Kadmiyum, çeşitli mekanizmalara karışarak indüklenmiş toksisiteye yol açar. Kadmiyum, hücre içi iletişim ağına ve gen regülasyonuna karışır. Kadmiyum, süperoksit dizmutaz ve katalaz gibi antioksidant enzimlerin aktivitelerinde değişikliklere neden olur. Lipit peroksidasyonu da aynı zamanda kadmiyum toksisitesiyle ilişkilidir. Ayrıca, kadmiyum toksisitesi reaktif oksijen türlerinin üretimiyle ilgilidir (Müller 1991, Stohs ve Bagchi 1995, Galaris ve Evangelou 2002). Kadmiyumun, kültüre edilmiş insan hücrelerinde oksidatif stresi indüklediği bulunmuştur. Kadmiyumla indüklenen oksidatif stres negatif olarak DNA, RNA, ribozom sentezinde enzim sistemlerini etkileyebildikleri bildirilmiştir (Yu ve ark. 2004).

2.1.3. Atık Sulardan Ağır Metallerin Giderim Yöntemleri

Endüstriyel atıklardaki boya ve metal iyileştirilmesi için geliştirilen teknikleri abiyotik ve biyotik metotlar olmak üzere iki ana sınıfta incelemek mümkündür. Abiyotik metotlar; presipitasyon, adsorbsiyon, iyon değişim, şelatlama, membran ve elektrokimyasal teknolojilerdir. Bu metotların bir çoğu pahallı, çevre dostu olmayan ve genellikle atığın konsantrasyonuna bağlı teknolojiler olduğundan uygulamada fazla rağbet görmemektedir. Günümüzde daha etkili, ekolojik anlamda dost ve ucuz yöntemler araştırılmaktadır (Vijayaraghavan ve Yun 2008).

Kimyasal çöktürme: Ağır metallerin güç çözünen tuzlarının oluşturulması esasına dayanır. Ağır metallerin, sülfür hidroksit bileşiklerinin çözünürlükleri çok düşük olduğundan ağır metal içeren atık sulara bu iyonlar ilave edilerek çökeltme sağlanabilir. Çok basit bir yöntem olmasına karşın çökeleğin çözünürlüğü, oluşan çökelek miktarının çok az olması bu sistemin önemli bir dezavantajıdır. Sülfür çöktürmesi ekonomik nedenler ve çamur uzaklaştırma güçlüğü nedeniyle daha sınırlı bir kullanıma sahiptir.

Atık sulardan; bakır, çinko, demir, nikel ve kobaltın uzaklaştırılmasında hidroksitler (NaOH, $Ca(OH)_2$) kullanılır. Kadmiyum ve civanın çöktürülmesinde sülfürler, kurşun için ise soda külü kullanılır (Topbaş ve ark 1998).

Membran: Membranları basınç altında çalışan bir çeşit filtre olarak düşünmek mümkündür. Membranlar delik çapları çok küçük ince zarlardır. Membranın fonksiyonu yerine getirmesini sağlayan etkenler, konsantrasyon, basınç, sıcaklık ve gerilim farklarıdır. Bu faktörlerden hangisinin ağırlık kazanmasına bağlı olarak proses değişir. Çözücünün membrandan geçmesini gerektiren işlemler osmoz, çözünen maddenin membrandan geçmesini gerektiren işlemler ise diyaliz olarak isimlendirilir. İçme suyu arıtımında ters osmoz, ultrafiltrasyon ve elektrodiyaliz, atık su arıtımında ise bu işlemlerin tamamı sınırlı olsa da kullanılmaktadır. Membranlar genel olarak arıtma sisteminin özel bir parçasını teşkil etmekte ve son yıllarda kullanımı giderek artmaktadır. (Kınacı ve Öztürk 1989)

Şelatlama: Birçok ağır metal ve eser element özel bazı organik moleküllerle şelat adı verilen kalıcı kompleksler meydana getirir. Şelatların su ile karışmayan organik çözeltileri kullanılarak uygun pH koşulları altında ekstraksiyonu sonucunda iz elementler konsantre edilebilir. Seçilecek şelatlaştırma yönteminin başarısı, eklenen şelatlaştırıcı ile giderilmesi istenen iyon arasında dengeli ve kalıcı bir kompleks oluşturması ve ortamın pH ayarı nötral bir kompleksin oluşumuna meydan vermek üzere şelatlaştırıcının uygun sayıda asidik ve bazik parçalanmalarına olanak sağlayacak şekilde olmalıdır.

Kullanılan şelatlaştırıcıların doğal olarak suda çok miktarda bulunan alkali ve toprak alkalilerle kompleks teşkil etmemeleri yöntemin en önemli avantajıdır. Şelatlaştırma yöntemi daha çok ağır metal analizlerinde ağır metallerin çözücüden ayrılmasında kullanılmakla birlikte atık su arıtılmasında da kullanım potansiyeli mevcuttur (Şengül ve Müezzinoğlu 1993).

İyon değişimi: İyon-değişimi, endüstrilerdeki atık sulardan ağır metallerin uzaklaştırılmasında başarılı bir şekilde kullanılan diğer bir metottur. Diğer metotlar ile kıyaslandığında nispeten pahallı olmasına rağmen, geniş hacimlerle çalışılabilmekte ve ppm seviyesindeki ağır metallerin uzaklaştırılmasında kullanılmaktadır. Bir iyon değiştirici, ya katyonları ya da anyonları çevrelerindeki metallerle değiştirme yeteneği

olan bir maddedir. İyon-değişimi için genelde kullanılan matriksler sentetik organik iyon değiştirici reçinelerdir. Bu yöntemin dezavantajı, atık sulardaki organik ve diğer katılar tarafından matriksin kolayca kirlenmesinden dolayı konsantre metal çözeltilerinin kullanılamamasıdır. Buna ilaveten iyon değişimi seçici değildir ve pH'ya oldukça fazla duyarlıdır.

Elektrokoagülasyon: Atık sularda, koagüle edilen partiküller atık su içerisinde bulunan mikro kolloidal partikülleri ve iyonları da kendilerine doğru çekerek adsorbe etmektedir. Oluşan yumaklar çökelmekte ve elektroflotasyonda oluşan gazlar yardımıyla su yüzeyine kaldırılabilmektedir. Bu yöntem renk, agır metal, KOI, TOC ve AKM'nin tekstil atık sularından giderilmesinde kullanılmaktadır (Can 2002).

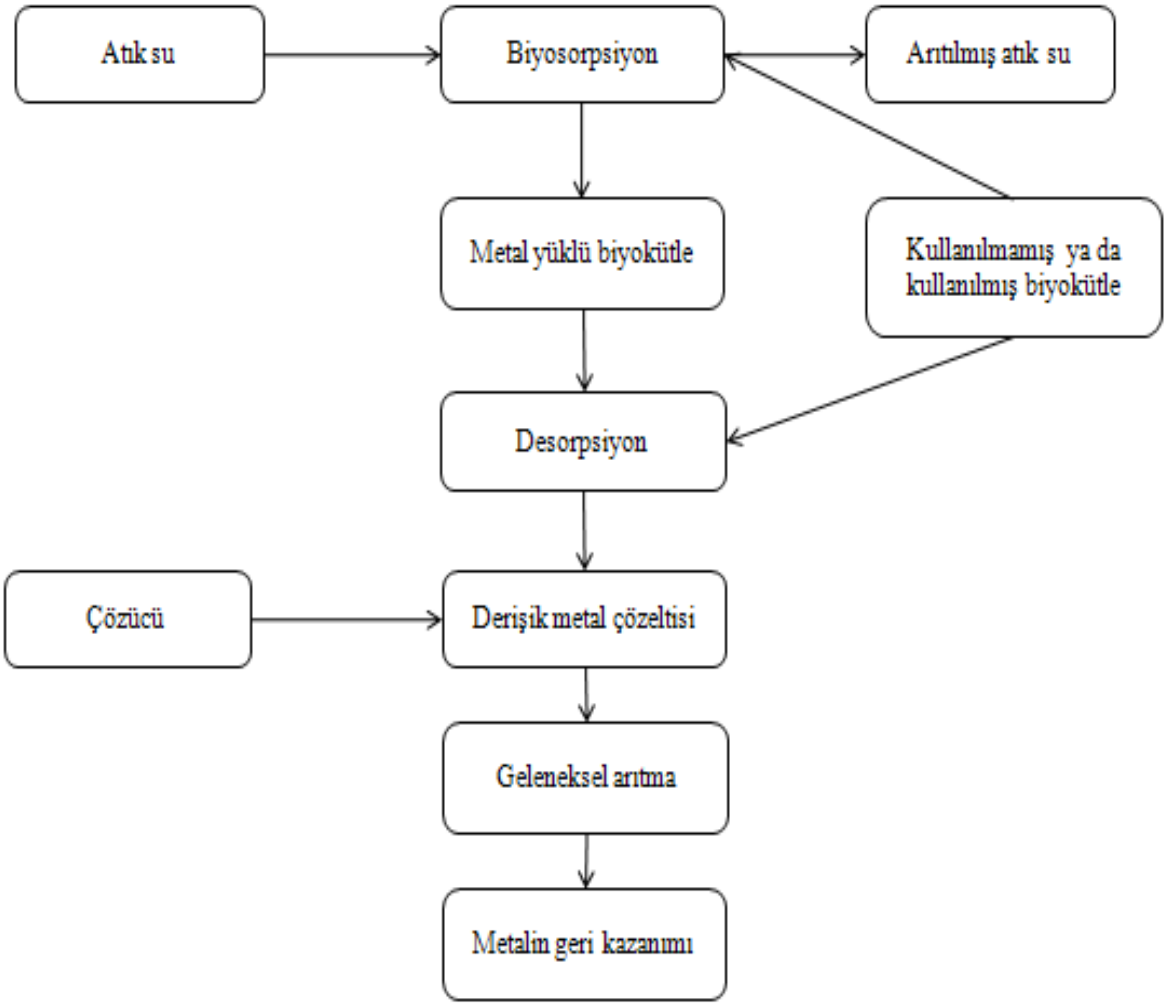
Adsorpsiyon Atık sudaki ağır metal iyonları, seçici olarak bir katı adsorbent yüzeyindeki aktif gruplara çeşitli fiziksel ve kimyasal bağlarla tutunarak atık sudan ayrılırlar. Aktif karbon içerdiği büyük yüzey alanı ve poroz yapısından dolayı ağır metal iyonlarının adsorpsiyonunda etkin olarak kullanılan bir adsorbenttir. Ancak aktif karbonun yüksek maliyeti ve rejenerasyonunun zor olmasından dolayı, son yıllarda araştırmacılar, araştırmalarını daha ucuz ve etken adsorbentlerin araştırılması üzerine yoğunlaştırmışlardır. Ağır metal kirliliğinin giderilmesinde kurutulmuş veya çeşitli şekillerde inaktive edilmiş alg, maya, küf mantarı gibi mikroorganizmaların biyosorbent olarak kullanılması (biyosorpsiyon) son yılların en çok araştırılan konularından birisidir. Ayrıca uçucu kül, çeşitli silikatlar, zeolit, bentonit, anaerobik çamur, atık aktif çamur, çesitli tarımsal atıklar (odun talaşı, pirinç kabuğu, pancar küspesi, vb.) da ağır metal kirliliğinin giderimin de araştırılan biyosorbentlerdendir (Calace ve ark 2003, Ho 2004).

Abiyotik sistemler, yüksek enerji gereksinimi ve yüksek maliyet nedeni ile özellikle sucul ekosistemlerdeki metallerin uzaklaştırılması için uygun görülmemektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar atıkların iyileştirilmesi için ticari ölçekte biyolojik metotlar üzerine yoğunlaşmıştır. Biyosorpsiyon bu dezavantajları taşımadığından daha çok tercih edilmektedir. Biyolojik materyaller kullanılarak atık sulardan ya da topraktan ağır metallerin metabolizmalar aracılığı ile biriktirilmesi ya da fizikokimyasal yollarla alımı olarak tanımlanan, biyosorpsiyon için yaygın olarak kullanılan biyosorbentler ise algler, bakteriler ve mayalardır (Deniz 2010).

2.2. Biyosorpsiyon

1980'li yılların başında metalik elementlerin bazı mikroorganizmalar tarafından toplandığına tanık olunmuştur. Çok sayıda araştırmacı toksikolojik noktada görüşlerini açıklamış fakat mikrobiyal hücrenin metabolik aktivitelerinde metalleri etkilediği ve canlı hücrelerin aktif metabolizmasından dolayı bu birikmeyle ilgilenmişlerdir (Volesky 1987). Halbuki daha sonra ki çalışmalarda çeşitli fizikokimyasal mekanizmalar yolu ile metal iyonlarını pasif olarak bağlayabilen ölü mikrobiyal biyokütlelerin olduğu açığa çıkmıştır. Bu yeni buluş birlikte metallerin uzaklaştırılması için sayısız farklı orijinli biyosorbent ile biyosorpsiyon araştırmaları aktifleşmiştir. Araştırmacılar biyosorpsiyonun sadece biyokütlenin türü ve kimyasal bileşeni değil aynı zamanda dış fiziko kimyasal faktörler ve çözeltinin kimyasına da bağlı olduğunu ifade etmişlerdir. Çoğu araştırmacı biyosorpsiyondan sorumlu mekanizmayı; bir ya da kombinasyon iyon değiştirme, adsorpsiyon, kompleksleşme, elektrostatik etkileşim, şelasyon ve mikro çöktürme ile açıklayabilmektedir (Vegliò ve Beolchini 1997, Volesky ve Schiewer 1999).

Biyosorbsiyon çeşitli biyolojik materyallerin metal bağlama kapasitelerinin belirlenmesini içermektedir. Biyosorbsiyon atıksulardan metabolik olarak veya fizikokimyasal yollarla biyolojik materyallerin ağır metalleri biriktirebilme yeteneği şeklinde tanımlanabilir. Alg, bakteri mantar ve mayalar potansiyel metal biyosorbentleridir (Volesky 1986).



Şekil 2.3. Biyosorpsiyon şeması (Chojnacka 2010)

Biyosorbsiyonun konvansiyonel yöntemlere göre avantajları;

- Düşük maliyet,
- Yüksek verim,
- Kimyasal ve biyolojik çamur minimizasyonu,
- Ek besin ihtiyacının olmayışı,
- Biyosorbent rejenerasyonu ve
- Metalin geri kazanılabilirliği,

şeklinde sıralanabilmektedir.

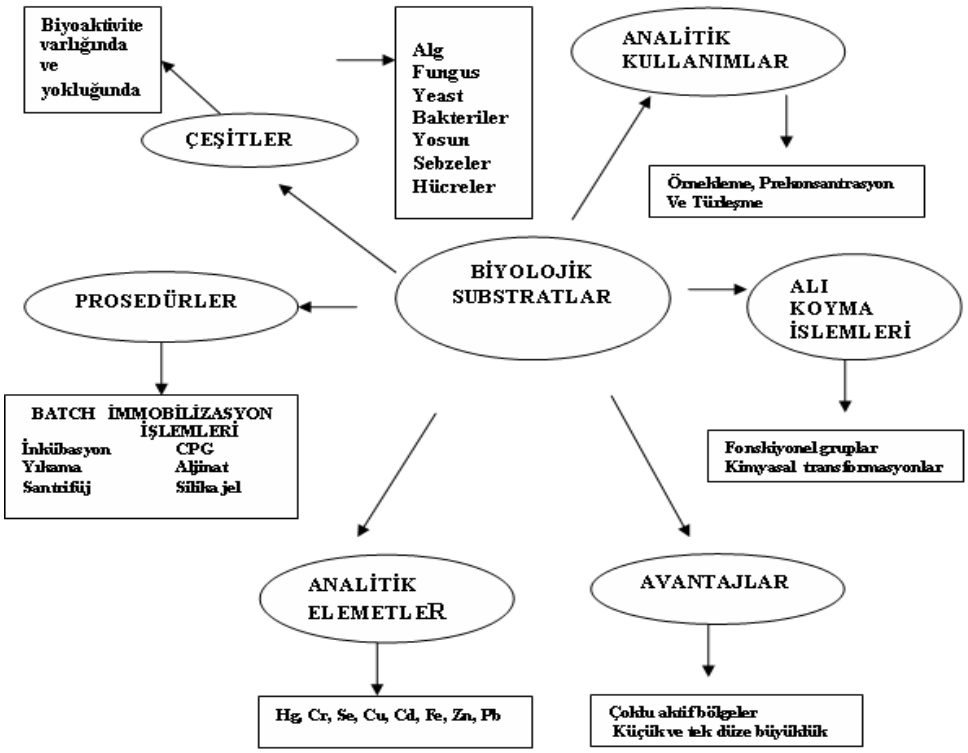
Biyosorbsiyon bir katı faz (sorbent veya biyosorbent; biyolojik materyal) ve birçok çözünmüş tür içeren sulu bir faz (çözücü, genellikle su) içermektedir. Sorbat türleri, sorbentin yüksek çekiciliğine bağlı olarak farklı mekanizmalar yoluyla sorbent yüzeyine çekilir ve yüzeye bağlanırlar (Orhan 1996). İşlem sorbat türlerinin katıya bağlanmış miktarı ile çözeltide kalan kısmı arasında denge oluşuncaya kadar devam eder. Sorbat için sorbentin çekicilik derecesi katı ve sıvı fazlar arasındaki dağılımını belirler.

2.2.1. Biyosorbent Maddeler

Metal bağlama kapasitesine sahip biyokütle türleri üzerindeki çalışmalar 1985 ten beri hız kazanmıştır. Bazı biyokütle türleri gerçekten ağır metal konusunda çok etkilidirler. Arıtma amacıyla kullanılan biyokütlelerin seçiminde kolay elde edilebilirlik önemli bir faktördür. Biyokütlenin doğada kolay bulunabilen hatta atık maddelerde bulunan türleri tercih edilmelidir.

Bazı mikroorganizmaların metal iyonları için kuvvetli biyosorbent davranışı, mikrobiyal hücrelerin kimyasal yapısının da bir fonksiyonudur. Bu tip biyosorbentler ölü ve metabolik olarak inaktif hücrelerden oluşmaktadır. Bazı tip biyosorbentler spesifik aktivitesi olmayan çok sayıda ağır metali bağlayarak toplarken, bazıları ise belirli metaller için spesifiktir (Orhan 1993). Bazı çalışmalarda biyokütle kolaylıkla sağlanırken bazılarında ise birtakım spesifik mikroorganizmalar izole edilerek biyosorblama özelliklerini arttırmak için ham biyokütleye tutturulmuştur.

Metal biyosorpsiyonunda kullanılacak biyokütleler seçilirken göz önünde bulundurulması gereken en önemli faktör biyokütlenin kökenidir. Endüstriyel atıklardan veya doğadan elde edilebilen ve hızlı üreyen mikroorganizmalar seçilmelidir. Alg, fungi, ya da bakteri gibi doğada çok bulunan biyokütlelerin asit ve/veya baz çözeltisi ile yıkanarak öldürülmesi, daha sonra kurutulup elenmesiyle biyosorbentler elde edilir (Volesky 2000).



Şekil 2.4. Biyolojik materyaller **(**Madrid ve Camara, 1997)

Genel olarak biyosorpsiyonun avantaj ve dezavantajlarını aşağıdaki gibi sıralayabiliriz.

AVANTAJLARI

- Biyosorpsiyon büyümeden bağımsızdır ve ölü biyokütle hücreleri toksik sınırlanmaya maruz kalmaz. Besi yeri ortamında hücrelerin çoğaltılması için pahallı besinlere gerek yoktur. Böylece, besin eklenmesi ya da oluşan metabolik ürün problemi mevcut değildir.
- Fermantasyon endüstrilerinden fermantasyondan sonra ortaya çıkan atıklar biyokütle olarak kullanılabilir.
- Yöntem canlı mikrobiyal hücrelerin fizyolojik kısıtlanmaları tarafından yönetilmez.
- Ölü biyokütlenin bir iyon değiştirici gibi davranmasından dolayı, işlem oldukça hızlıdır ve birkaç saat ile birkaç dakika arasında gerçekleşir. Biyokütle üzerine metalin yüklenmesi sıklıkla çok yüksektir ve bu durum çok etkin metal alınımıyla sonuçlanır.

- Hücreler ölü olduğu için, pH, sıcaklık ve metal konsantrasyonunun geniş aralığında çalışmak mümkündür. Bu işlemler için aseptik koşullara gereksinim duyulmaz.
- Eğer metalin miktarı ve değeri kazanım için önemli ise ve eğer biyokütle çok ise metal yüklü biyokütle yakılabilir ve daha ileriki aşamalara gerek kalmaz, böylelikle metalin geri bırakması ve geri kazanımı mümkün olabilir.
- Atık sulardaki ağır metal konsantrasyonlarını çok düşük seviyelere indirgeme etkinliğine sahiptirler, bol miktarda kolayca üretilebilirler ve ekonomik biyosorbent materyalleri kullanılabilir. Bu biyosorbentler, metal iyonlarının giderilmesinde yüksek seçiciliğe sahiptir. Ayrıca bu yöntem ile çok seyreltik sulardan bile kirleticiler etkili bir şekilde giderilebilmektedir.
- Biyosorpsiyon yönteminin diğer avantajları ise bu yöntemin yerinde uygulanabilen bir yöntem olması, çok özel dizaynlar ve endüstriyel işlemler gerektirmemesi ve birçok sistemle ekonomik bir şekilde birleştirilebilmesidir (Özdemir 2008).

DEZAVANTAJLARI

- Metalin bağlandığı bölgeler işgal edildiğinde erken doygunluk problemi gerçekleşebilir ve bu durumda daha ileriki uygulamalar öncesi desorpsiyon gerçekleştirilmesi gerekir.
- Hücrelerde metabolizma olmadığı için, biyolojik yöntemin geliştirilme potansiyeli sınırlıdır. Ön büyütme esnasında meydana gelen adsorbe edici ajan üretimi için biyosorbentin karakteristiği üzerinde herhangi bir biyolojik kontrol mevcut değildir. Bu durum, eğer fermantasyon ünitesinden elde edilen atık biyokütle kullanılacak ise ortaya çıkacaktır.
- Metal denge durumunu, ölü biyokütle kullanıldığı için biyolojik olarak değiştirmek mümkün değildir. Örneğin az çözünen veya organometalik bileşiklerin yıkımı için herhangi bir metal denge durumunda biyolojik değiştirici potansiyeli yoktur (Özdemir 2008).

2.2.2. Biyosorbsiyon Mekanizmaları

Mikroorganizmaların kompleks yapısı mikrobiyal hücreler tarafından ağır metallerin giderilmesi için bir çok mekanizmanın olduğu anlamını taşımaktadır.

Biyosorbsiyon mekanizmaları çok çeşitlidir ve tam olarak anlaşılamamıştır. Bunlar çeşitli kriterlere göre sınıflandırılabilir.

Hücrenin metabolizmasına bağlı olarak biyosorbsiyon mekanizması

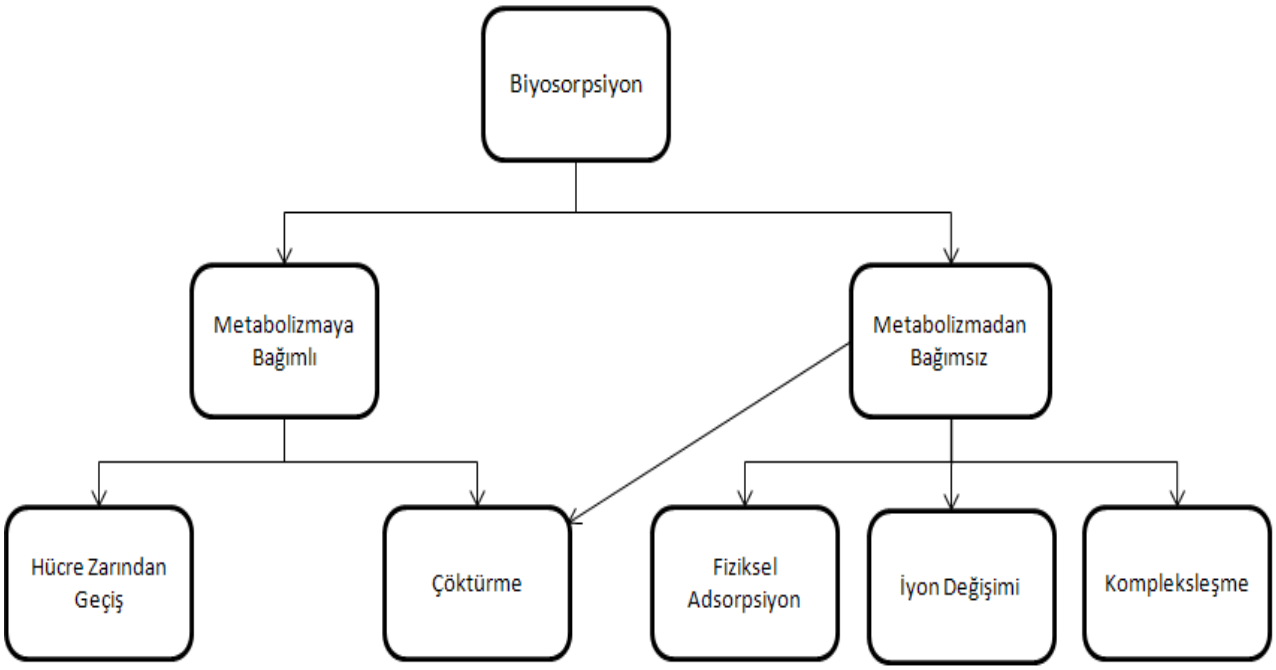
- Metabolizmaya dayalı ve
- Metabolizmadan bağımsız

olmak üzere ikiye ayrılabilir.

Çözeltiden alınan metalin yerleştiği bölgeye göre, biyosorbsiyon;

- Hücreler dışı birikim / çöktürme,
- Hücre yüzeyine sorbsiyon /çöktürme ve
- Hücreler arası birikim olarak ayrılmaktadır (Soysal 2009)

Hücresel metabolizmaya bağlı olarak gerçekleşen hücre zarı boyunca metalin transferi hücreler arası birikim şeklinde gerçekleşir. Bunun anlamı bu çeşit biyosorbsiyonun canlı hücreler ile gerçekleştiğidir. Bu sıklıkla toksik metal varlığında ortaya çıkan bir aktif savunma sistemi ile ilişkilidir (Veglio ve Beolchini 1997).



Şekil 2.5. Hücre metabolizmasına bağlı olarak biyosorpsiyon mekanizmasının sınıflandırılması

Metaller hücre zarından geçerek hücre içinde tutulurlar. Bu, hücre metabolizmasına bağlıdır. Bu yüzden bu tür biyosorpsiyon sadece canlı hücreler ile gerçekleştirilebilir. Canlı hücreler toksik metaller ile reaksiyona giren aktif bir koruma sistemine sahiptir. Bu nedenle biyosorpsiyon hızlı gerçekleşmez, reaksiyonun gerçekleşmesi için zaman gereklidir.

Metabolik olmayan biyosorbsiyon ile mikrobiyal hücre yüzeyinde var olan fonksiyonel gruplar ve metal arasındaki fiziko-kimyasal ilişkiyle metal giderimi gerçekleşir. Bu da hücresel metabolizmadan bağımsız olarak fiziksel adsorbsiyon, iyon değiştirme ve kimyasal sorbsiyona dayanmaktadır. Polisakkaritlerden, protein ve lipitlerden oluşan mikrobiyal biyokütlenin hücre duvarları karboksil, sülfat, fosfat ve amino grupları gibi metal bağlayıcı gruplara sahiptir. Bu tip metabolitik olmayan biyosorbsiyon daha hızlıdır ve geri dönüşümlüdür (Koyucak 1988).

2.2.3. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler

Mikroorganizmalara ağır metal iyonlarının tek türlerinin biyosorpsiyonunu etkileyen faktörler arasında organizmanın özgül yüzey özellikleri, pH, sıcaklık, metal iyonu başlangıç derişimi, biyokütle derişimi, biyokütle tipi, biyokütle hazırlanışı, kirleticilerin kimyasal yapısı (tür, boyut, iyon yükü) sayılabilir. Birden daha çok metal iyonunun mikroorganizmalara bağlanmasını ise metal kombinasyonu, metal derişim düzeyleri, metal eklenme sırası gibi birçok faktör etkiler (Ting 1989).

2.3. Eser Elementlerin Zenginleştirme Yöntemleri

Eser elementin içinde bulunduğu ortamın tayin tekniğine uygun olmaması, yani ortamın bozucu etki göstermesi ve bu ortamda eser element derişiminin aletin tayin sınırının altında olması halinde zenginleştirme işlemi kaçınılmazdır. Zenginleştirme işlemleri ile analit hem tayin tekniğine uygun olan ortama alınır hem de daha küçük hacim içerisinde toplanarak deriştirilir.

Eser element zenginleştirme yöntemleri arasında sıvı-sıvı özütlemesi, iyon değiştirme, birlikte çöktürme, uçuculaştırma, katı faz ekstraksiyonu ve elektrobiriktirme yöntemleri yaygın olarak kullanılmaktadır.

2.3.1. Sıvı- Sıvı Özütleme Yöntemi

Sıvı-sıvı özütleme yöntemi basitliği, yaygın ve hızlı uygulanabilirliği sebebiyle eser analizde kullanılan zenginleştirme yöntemleri arasında önemli bir yer tutar.

Sıvı-sıvı özütleme yönteminde iki tür uygulama vardır. Birinci tür uygulamalarda ana bileşen ortamdan uzaklaştırılırken, eser elementler sulu faza bırakılır. İkinci tür uygulamada ise sulu fazdaki eser elementler şelatları veya değişik iyonik kompleksleri halinde organik faza geçirilir. İkinci tür uygulama daha çok tercih edilir. Özellikle eser element çalışmalarında, analit geri özütleme ile organik fazdan sulu faza çekilir. Çünkü tayin basamağında organik faz her zaman uygun bir ortam oluşturmaz. Özütleme işlemi için analit yüksüz veya çözücüye uygun bir yapı içine alınmalıdır.

2.3.2. Birlikte Çöktürme ile Zenginleştirme

Birlikte çöktürmenin mekanizması deneysel şartlara, eser element ve çöktürücünün fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır. Genellikle taşıyıcı bileşen miktarının miligram düzeyinde olması istenir. Taşıyıcı element çoğu zaman analiz edilecek örnekte miktarca fazla olan element veya tayin yönteminde bozucu etki göstermeyen dışarıdan ilave edilecek bir element olabilmektedir.

Birlikte çöktürme tekniğinin basit ve hızlı olması birkaç analit iyonlarının zenginleştirilebilmesi ve aynı zamanda matriks ortamından ayrılabilmesi gibi avantajları vardır (Tokalıoğlu ve ark. 1994, Tokalıoğlu ve ark. 2000). Çökelme pH'sı denetlenerek seçimlilik sağlamak mümkündür. Çöktürme işleminden sonra süzme işlemi ile çökelek çözeltiden ayrılır. Daha sonra analitler uygun bir analiz tekniği ile tayin edilir. Zaman yönünden kolon yöntemiyle karşılaştırıldığında yöntem daha kısa sürede tamamlanabilmektedir. Yöntemin en önemli riski bağıl olarak fazla miktarda kullanılan çöktürücü reaktiflerden gelebilecek kontaminasyonlardır. Bu da ön saflaştırma veya ultra saf reaktif kullanımı ile giderilebilir.

2.3.3. Elektrolitik Biriktirme Yöntemleri

Bu yöntem, çeşitli elektrolit çözeltilerden eser derişimlerdeki ağır metallerin ayrılması için uygun bir yöntemdir. Uygun şartlar sağlanarak katı bir çalışma elektrodu üzerinde elektrolizle eser derişimdeki ağır metaller toplanabilir. Elektrotta toplanmış

olan ağır metaller pozitif kutup şeklinde sıyırma veya çözme, kimyasal ve fiziksel işlemlerle çözme veya ayırma yöntemleri ile geri alınır. Bir elementin elektrolitik biriktirilmesine elektrot türü ve şekli, elektroliz hücresi ve şekli, elektrolit ve örneğin bileşimi etki eder. Genellikle çalışma elektrodu olarak Pt, Pt alaşımları, karbon çubuk kullanılabilir. Elektroliz 1-2 A' lik akım ve 5-20 V' luk gerilimle yapılır (Aydın 2008).

2.3.4. İyon Değiştirme Yöntemi

İyon değiştirme, bir katı maddenin yapısında bulunan iyonların, temasta bulunduğu çözelti içerisinde pozitif iyonların pozitif iyonlarla negatif iyonların negatif iyonlarla karşılıklı olarak yani aynı cinsten yüklü başka iyonlarla bir dengeye göre yer değiştirmesi esasına dayanır (Aksoy 2011).

İyon değiştiriciler yapı açısından organik ve inorganik esaslı olarak iki gruba ayrılırlar. İnorganik iyon değiştiriciler de doğal ve sentetik olarak ikiye ayrılır. Doğal olanlara zeolitler, sentetik olanlara oksit ve hidroksit içeren çeşitli metal gruplar (silikajel hidratlanmış titanyum dioksit) örnek olarak verilebilir (Duran 2000). Organik iyon değiştiriciler ise yapılarında sayılamayacak kadar çok iyonlarına ayrılabilen fonksiyonel gruplar içeren, çapraz bağlı, büyük moleküllü polimer maddelerdir. Organik esaslı polimerik maddeler reçine olarak bilinir.

İyon değiştiriciler genel olarak toz halinde, gözenekli, çözünür olmayan polimerik bileşiklerdir. Sağlam bağlı organik fonksiyonel gruplar içerirler. İçerdikleri fonksiyonel gruplara göre iyon değiştiriciler anyon ve katyon olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Bu fonksiyonel gruplara bağlı iyonlar (katyon veya anyonlar) çözeltideki iyonlarla yer değiştirir. Katyon değiştiren reçinelere katyonik (veya asidik) reçine, anyon değiştirenlere anyonik (veya bazik) reçine denir (Dalman 2003).

2.3.5. Uçuculaştırma Yöntemi

Bu yöntemin uygulanabilmesi için matriksle eser element arasında uçuculuk farkının büyük olması gerekir. Yöntem ya matriksin uçuculaştırılması ya da eser elementin uçuculaştırılmasıyla gerçekleştirilir. Prensip olarak hangisinin uçuculuğu fazla ise o uçuculaştırılır. Genellikle metalik özellik göstermeyen elementlere ve yüksek buhar basıncı gösteren element veya halojen, hidrojen ve oksijenle yapmış oldukları komplekslere uygulanır. Ana bileşenin uçuculaştırılması yönteminde eser elementlerin

deriştirilmesi için fazla reaktife ihtiyaç duyulmaz. Bu durumda ana bileşen su gibi bir sıvı, organik bir çözücü, uçucu bir asit ya da amonyak çözeltisidir (Onat 2011)

2.3.6. Katı Faz Özütleme Yöntemi

Katı- faz ekstraksiyonunun ilk uygulamaları 50 yıl öncesine dayanmaktadır. İlk olarak organik mikrokirleticilerin zenginleştirilmesi için sıvı-sıvı ekstraksiyonuna alternatif bir yöntem olarak ortaya çıkmıştır (Liska 2000).

Katı faz özütleme tekniğinde eser metaller, zenginleştirme işleminin seçiciliğini, hassasiyetini ve yeterliliğini artırmak için yüklü ligantlarla ya da selat reçinelerle kompleks oluştururlar ve poliuretan, aktif karbon, polimerik materyaller ve silika jel gibi adsorbanlar üzerine alınırlar (Aydın 2008).

Sıvı faz içerisinde bulunan analitin katı bir faz üzerinde toplanmasını esas alan katı faz özütleme yöntemi, matriks basitleştirme veya eser zenginleştirme tekniği olarak hızla gelişmektedir. Çeşitli zenginleştirme yöntemleri arasında katı faz özütleme yöntemi, basit, hızlı, ucuz olması ve yüksek zenginleştirme faktörü elde edilebilmesinden dolayı, en etkili çok element zenginleştirme yöntemlerinden biridir. Bu yöntem ile tayin edilecek element hem kendi ortamından uzaklaştırılabilir hem de zenginleştirilebilir. Bu yöntem birçok önemli avantaja sahiptir. (Varhan Oral 2009)

Bunlar;

- Katı faz özütleme yöntemi kolonda yapıldığında, analizi yapılacak örnek çözeltisi katı faz özütleme kolonu boyunca hızlıca geçebilir. Kolonda alıkonan analitler bir organik çözücü veya bir başka uygun eluentin küçük bir hacmi ile hızla kolondan alınır.
- Katı faz özütleme yönteminde eluent olarak inorganik ve sıvı organik çözücülerin çok küçük hacimleri kullanılır. Analitik ayırmalarda organik çözücülerin büyük miktarlarının kullanılması, önemli çevresel sorunlar doğurur. Organik çözücüler büyük hacimlerde kullanıldığı zaman tayin edilecek türün kirlenme riski artar.
- Katı faz özütleme yönteminin en önemli üstünlüğü katı fazın tekrar kullanılabilmesidir.

- Katı faz özütleme yönteminin zenginleştirme faktörü yüksektir. Zenginleştirme faktörü, tayin edilecek türün orijinal örneğe göre kaç kez daha derişik hale getirildiğinin ölçüsüdür.
- Ayrıca katı faz özütleme işlemleri akışa enjeksiyon tekniği ile kolaylıkla kombine edilebilmektedir. Bu nedenle on-line zenginleştirme tekniklerinde önemli kolaylıklar ve üstünlükler sağlamaktadır.

Adsorban üzerinde tutunan madde miktarı, katı maddenin yüzey büyüklüğüne ve gözenek çapına bağlı olarak değişir. Adsorbsiyon olaylarında adsorban maddenin özelliği önemli olduğu kadar adsorblanan maddenin elektriksel yükü, polaritesi, iyon ve molekül çapları, kullanılan çözücünün özelliği, çözücü ve adsorban arasındaki etkileşimler de önemli diğer faktörler arasındadır Varhan Oral 2009).

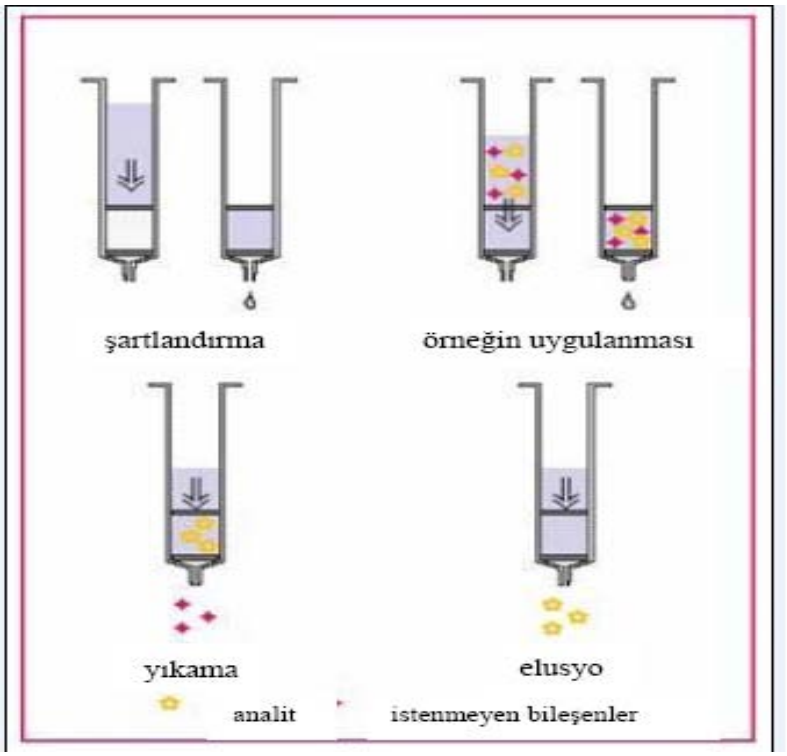
Katı-faz ekstraksiyonu yöntemi dört basamaktan oluşur. Bunlar;

İlk basamakta katı sorbent uygun bir çözücü ile şartlandırılmalıdır. Bu basamak önemlidir. Çünkü fonksiyonel grupların şartlandırılması ve materyallerin ıslanması gerekmektedir. Şartlandırma için organik çözücüler kullanılabileceği gibi çeşitli pH' larda tamponlar da kullanılmaktadır. Kolonun şartlandırılmasında ve örneğin geçirilmesinde sorbentin kuru olmamasına dikkat edilmelidir. Aksi takdirde analitler tam olarak tutunmaz ve düşük geri kazanım değerleri elde edilebilir. Böyle durumlarda kolon tekrar şartlandırılmalıdır (Camel 2003).

İkinci basamak, örnek çözeltisinin katı adsorbent bulunan kolondan geçirilmesidir. Örnek çözeltisinin hacmi 1 mL ile 1 L aralığında olabilir. Örnek kolona yerçekimi, pompalama, vakum ve otomatik sistemle uygulanabilir. Örnek akış hızı analitlerin tutunmalarını sağlayacak kadar düşük hızda ve tıkanmayı önleyecek kadar yüksek hızda olmalıdır. Bu süreçte analitler sorbent üzerinde birikmektedir. Matriks bileşenleri de katı sorbent üzerinde tutunabilir veya bazıları da kolondan geçip gidebilirler (Camel 2003).

Üçüncü basamak tercihe bağlı olarak adsorbent tarafından tutunan matriks bileşenlerini elimine etmek için düşük elüasyon kuvvetine sahip analiti etkilemeyen uygun bir çözücü ile katı sorbentin yıkanması işlemidir (Camel 2003).

Son basamak ise sorbentte tutunan ve matriks bileşenleri içermeyen sadece analitle etkileşime giren uygun bir elüent türü ile elüasyonu içerir. Bu basamakta organik veya inorganik birçok bileşik elüent olarak kullanılabilir. Elüent hacmi analitlerin kantitatif geri kazanım değerine göre ayarlanmalıdır. Ayrıca elüent akış hızının maksimum geri kazanım değerleri sağlayacak şekilde ayarlanmasına dikkat edilmelidir (Camel 2003).



Şekil 2.6. Katı faz ekstraksiyonu ile maddelerin ayrımı

Katı-faz ekstraksiyon yöntemi üç şekilde meydana gelir.

1. Kolon Tekniği
2. Süzme Tekniği
3. Batch (Çalkalayıcı) Tekniği

2.3.6.1. Kolon Tekniği

Katı faz özütleme yönteminde en çok kolon tekniği kullanılır. Bu teknikte katı faz maddesi olarak adsorpsiyon ile tutma kuvvetlerine sahip çeşitli polimerik maddeler, inorganik ve organik katılar kullanılır. Adsorbanların çoğu polimerik maddelerdir. Adsorbanlar eser elementleri şelat veya inorganik kompleksleri seklinde

tutabilmektedir. Sulu çözeltideki metal iyonları kolonda bulunan katı adsorbanlarla bir araya getirilir. Diske doğru pompalanır ya da çekilerek kolonda bir arada tutulur. Örnekler adsorbent maddede ki fonksiyonel gruplarla etkileşime girer ve örnekten etkili bir şekilde eksrakte edilir (Saygı 2010).

Sıvı örneğin kolondan geçirilmesi, yerçekimi ile gerçekleştirilebildiği gibi, zaman kaybının önüne geçmek amacıyla vakum yardımıyla da yapılabilir. Katı faz ekstraksiyonu metodunda kolondan geçirilme sırasında örnek tanecikleri ile tutucu madde arasında kimyasal ya da fiziksel bir etkileşim meydana gelir. Bu etkileşimden faydalanarak maddelerin ayrılma işleminin ilk aşamasında, analiz edilecek bileşik tutucu maddeye bağlanarak kolon içinde tutulurken, çözelti ve istenmeyen bileşenler bu madde ile herhangi bir etkileşime girmezler ve kolondan akıp giderek uzaklaşırlar. Daha sonra analiz edilecek bilesen tutucu maddeden eluent adı verilen uygun bir çözelti yardımıyla geri alınır (Baytak, 2003).

Yaygın kullanılan eluentlere

- Aseton
- Etil Alkol
- Asetonda 1 M HNO_3
- Asetonda 1 M HCl
- 0.1-2 M HNO_3 ve
- 0,1-2 M HCl örnek verilebilir.

2.3.6.2. Süzme Tekniği

Büyük dağılma katsayısına ve büyük tutunma hızına sahip elementlerde uygulanabilen bu metotta analit çözeltisi tutucu ozelliği olan bir diskten süzülür ve daha sonra diskte tutunmuş olan elementler uygun bir eluent ile alınarak tayin yapılır (Soylak ve ark.2010).

2.3.6.3. Batch (Çalkalayıcı) Tekniği

Analitin içinde bulunduğu çözeltiye, adsorbent ilave edilerek belirli süre birlikte çalkalanırlar. Çalkalama mekanik veya ultrasonik yapılabilir. Tutunma dengesi kurulduktan sonra katı faz, süzme veya dekentasyon ile çözeltiden ayrılır. Katı fazdaki elementler uygun çözücü ile geri kazanıldıktan sonra çözelti analizine uygun teknikler

kullanılarak tayin edilir. Katı fazdaki eser elementler, geri kazanılmadan doğrudan katı faz teknikleriyle de tayin edilebilir. Bu tür tayinlerde adsorban uygun bir çözücü kullanılarak çözelti haline getirilmelidir. Dağılma katsayısı büyük elementlerin zenginleştirilmesinde bu uygulama faydalıdır (Varhan Oral 2009).

2.4. Amberlit XAD Reçineleri

Amberlit XAD kopolimerleri büyük yüzey alanına sahip olması, sert olması ve gözenekli yapıya sahip olması nedeniyle tercih edilen kopolimerlerdir. Çok sayıdaki organik bileşik için iyi bir adsorplayıcıdır. Bu nedenle tercih edilen kopolimerlerdir (Kantipuly ve ark. 1990).

Amberlit XAD reçineleri; C18, silikajel ve benzer sorbentlere göre asidik ya da bazik çözeltilerde ve tüm organik çözücülerde daha kararlıdırlar (www. Pharmaceutical-map.com, 2004).

Amberlit XAD–1, XAD–2, XAD–3, XAD–4, XAD–16 ve XAD–1180 kopolimerleri Polistiren-divinil benzen (PS-DVB) temelli reçinelerdir. Hidrofobik nonpolar bir yüzeye sahiptirler. Bu kopolimerler kolayca ısınmazlar ve az miktarda su adsorplayabilirler. XAD reçinelerinden en düşük yüzey alanına sahip olan gruptur. Artan yüzey alanıyla beraber reçine kapasitesi de artar (Soylak ve ark. 2001)

Çoğunlukla organik bir peroksit olan katalizör varlığında stirenin (vinil benzen) polimerizasyonu sonucu lineer polistiren elde edilir. Oluşan plastik yapı stiren veya toluen gibi belirli çözücülerde çözünürler. Eğer belirli bir oranda divinil benzen stirenle karıştırılırsa oluşan polimer çapraz bağlıdır ve çözünmez. Reçine üretiminde polimerizasyon genellikle bir süspansiyon içinde gerçekleşir. Monomer damlacıkları su içinde biçimlenir ve polimerizasyon prosesinin tamamlanmasıyla sert küresel tanecikler oluşur (Yalçın 2010)

Amberlit XAD–6, Amberlit XAD–7, Amberlit XAD–8, Amberlit XAD–9 ve Amberlit XAD–11 poliakrilik asit ester (PAA-E) polimerleridir, hidrofilik yüzeye ve orta seviyede polariteye sahiptirler. Bunlar kolayca ıslanırlar ve daha çok su absorplarlar. Bu reçineler aromatik değildir ve çok az iyon derişim kapasitesine sahiptirler. Absorplanabilir bileşimler için Amberlit XAD reçinelerinin eğilimi, onların spesifik yüzey alanlarına, polaritesine ve spesifik gözenek hacimlerine bağlıdır.

Amberlit XAD reçinelerinde elüsyon, aktif karbona göre daha kolay ve bu reçinelerinin kirlilik riskinden uzak olmaları nedeniyle, ön deriştirme, ayırma ve kromatografik ayırmada aktif karbona göre daha verimli sonuç elde edilmiştir. XAD reçineleri yüksek adsorpsiyon kapasitesine sahiptirler ve elüsyon alumina, silika jel, vb.den daha kolaydır. Mekanik dayanıklılıklarının yüksek olması ve modifiye aşaması sırasında çözücü buharlaşmasının düşük oluşu bunların tercih nedenidir (Caner 2006).

Çizelge 2.3. Amberlit XAD reçinelerinin fiziksel özellikleri

Reçine çeşidi	**Spesifik yüzey alan (m^2/g)**	**Gözenek çap (A^o)**	**Gözenek hacmi (mL/g %)**	**Dipol moment**
Polistiren-divinil benzen				
Amberlit XAD-1	100	200	35,2	0,3
Amberlit XAD-2	330	90	42	
Amberlit XAD-3	526	44	38,7	0,3
Amberlit XAD-4	750	50	51	
Amberlit XAD-5	415	68	43,4	
Amberlit XAD-16	825	100	60	
Amberlit XAD-1180	650	140	65	
Poliakrilikasit ester				
Amberlit XAD-6	663	498	49,3	
Amberlit XAD-7	450	80	55	1,8
Amberlit XAD-8	140	250	52	1,8
Amberlit XAD-9	70	370		
Amberlit XAD-1	170	350		

Amberlit XAD-16 beyaz tanecikli polimerik adsorbandır. XAD-16 çapraz bağlı bir polimerdir. XAD-16 diğer amberlit reçinelerine göre daha geniş bir yüzey alanına sahip olmasından dolayı katı faz ekstraksiyonu çalışmaları için daha uygundur. Amberlit XAD-16 reçinesi mükemmel fiziksel, kimyasal ve termal kararlılığa sahiptir.

Polar çözücülerden ve sulu çözeltilerden küçük organik moleküllerin pek çoğunun ayrılması için Amberlit XAD- 16 reçinesi kullanılabilir (Aksoy 2011).

Amberlit XAD-16 reçinesi yenilenebilir ve polar çözücülerden hidrofobik moleküllerin adsorplanmasında tekrar tekrar kullanılabilir.

2.5. Termofilik Bakteriler

Termofilik basillerin 45°C ile 70°C sıcaklıkları arasında en iyi üreme sıcaklıkları olduğu belirlenmiştir. Bu sonuca göre derin deniz hidrotermal alanlar, sıcak su kaynakları, petrol rezervleri, okyanus derinlikleri gibi farklı çevresel bölgelerden izole edilirler (Rahman ve ark 2004).

Termofilik mikroorganizmaların biyokatalitik potansiyelleri ve enzimleri üzerinde birçok araştırmalar yapılmıştır (Agüloğlu 2000). Termofilik mikroorganizmaların mezofilik mikroorganizmalara göre yüksek üreme hızları, son ürünün kolay kazanılması, yüksek işlem stabilitesi ve verimi, nişasta selüloz gibi doğal polimerleri doğrudan fermente edebilmeleri gibi birçok avantajları vardır.

Geniş sıcaklık aralıklarında üreyebilen termofilik mikroorganizmalar, yüksek sıcaklıkta optimum fonksiyon göstermek için biyolojik membranlarında çesitli adaptasyonlara ihtiyaç duyarlar. Genelde bakterilerin fosfolipit kompozisyonu gelişim sıcaklığı ile değişir (Kim ve Rajagopal 2000).

2.5. 1. *Anoxybacillus*

Anoxybacillus cinsi endospor oluşturmasına rağmen *Bacillus* cinsine yakın termofilik çubuk şeklinde olan bir bakteridir. Gelişim sıcaklık aralığı 30-72 ^{o}C'dir ve optimum 60-72 ^{0}C arasında gelişirler.(Agüloğlu Fincan ve ark. 2014) pH gelişim aralığı 5.0, 7.0-11.0'dir ve optimum pH 7.5-8.5 aralıklarında gelişim gösterirler. *Anoxybacillus* bakterilerinin tanımlanması son yıllarda hızlı bir şekilde artmıştır. 19 geçerli tür ve 3 tane de alttür tespit edilmiştir. Bunlar; *A. pushchinoensis, A. favithermus, A. gonensis, A. contaminans, A. voinovskiensis, A. kestanbolensis, A. ayderensis, A. kamchatkensis, A. amylolyticus, A. rupiensis, A. bogrovensis, A. kamchatkensis subsp. Asaccharedens, A. thermarum, A. eryuanensis, A. tengchongensis, A. salavatliensis, A. mongoliensis, A. flavithermus subsp.flavithermus, A. flavithermus subsp. Yunnanensis, A. caldiproteolyticus, A. tepidamans* ve *A. kaynarcensis*'tur. (Cihan 2013)

2.5.2. *Geobacillus stearothermophilus*

Gram pozitif olan *Geobacillus stearothermophilus* kalın bir hücre duvarı ve iç hücre zarına sahiptir. Termofilik olan bakteri genellikle sıcak su kaynaklarında, okyanus diplerinde ve toprak gibi alanlarda yaygın olarak bulunmaktadır. Ortalama büyüme sıcaklıkları 30–75^{o}C arasında değişmektedir. Son süreçte bu bakteriden DNA polimeraz elde edilmektedir. *Bst* polimeraz, özellikle moleküler biyoloji uygulamalarında büyük önem arz eder.

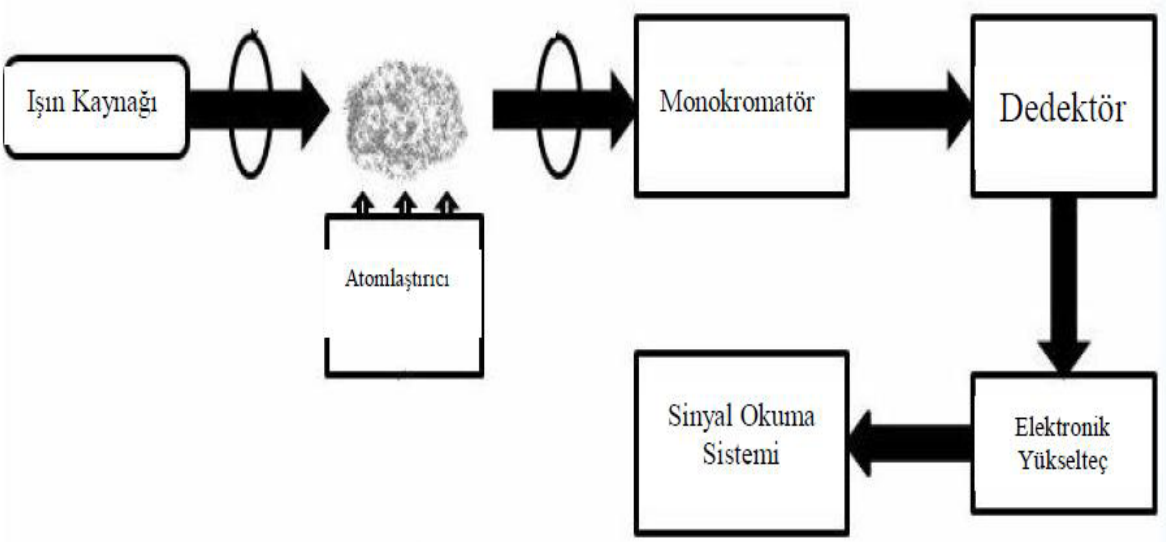
G. stearothermophilus sterilizasyon döngüsü başarı testi için bir ekipman olarak sürekli biyoteknoloji endüstrisinde kullanılır. Bakterinin yüksek ısıya dayanıklı olmasından dolayı sterilizasyon döngüsünden sonra bakteri yaşamının biyolojik indikatörü için uygundur. *G. stearothermophilus* türü şimdiye kadar patojen bir durum göstermemiştir (Enez 2011).

2.6. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometre

Genel anlamda atomik spektrometrik yöntemler elektro manyetik ışının atomlar veya iyonlarla etkile imine dayanır. Atomlarla ilgili bilgiler elektromanyetik spektrumun iki bölgesinde elde edilir: UV-görünür bölge (200-850 nm dalga boyu aralığında) ve x-ışınları bölgesi (0.1-200 AO dalga boyu aralığında). Bu bölgelerdeki ışının atomlar tarafından absorpsiyonuna, emisyonuna ve floresansına dayanan yöntemler, buna bağlı olarak atomik absorpsiyon spektroskopisi, AAS, atomik emisyon spektroskopisi, AES, ve atomik fluoresans spektroskopisi olarak adlandırılırlar (Aygün 1988)

Atomik absorpsiyon spektrofotometrik yöntemle tutarlı, güvenilir sonuçlar elde edilmesi aletin mekanik, optik ve elektronik kısımlarına bağlıdır.

- İncelenen elementin spektrumunu yayan bir **ışın kaynağı**,
- Örneğin atomlarına ayrıldığı **atomlaştırıcı**,
- Çalışılan dalga boyunun diğer dalga boylarından ayıran bir **monokromatör** (dalga boyu seçici),
- Işın şiddetinin ölçüldüğü **dedektör** kısımlarından oluşur.



Şekil 2.7 FAAS'nin akış şeması

- Işın kaynağı

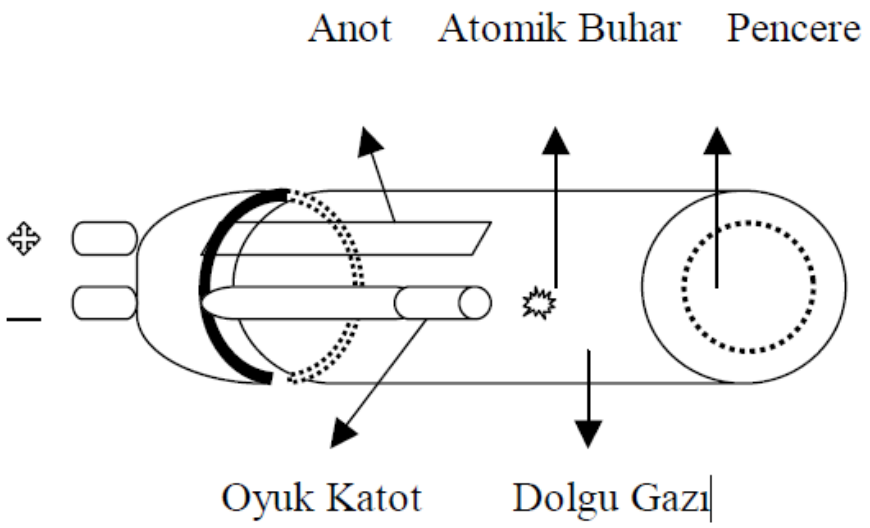
Atomik absorpsiyon spektroskopisinde, incelenen element çok dar dalga boyu aralığında absorpsiyon yapmaktadır. Bu nedenle, sürekli bir ışın kaynağı kullanarak absorpsiyon hattını ayırmaya çalışmak yerine, absorpsiyon hattından daha dar emisyon hattı veren bir spektral kaynak kullanmak alet tasarımı açısından çok büyük bir kolaylık sağlamıştır. Atomik absorpsiyon spektroskopisinde kullanılan ışın kaynakları aşağıda anlatılmaktadır. Bu ışın kaynakları ise oyuk katot lambalar ve elektrotsuz boşalım lambalarıdır.

- Oyuk katot lambaları

Atomik absorbsiyon ölçümlerinde en yaygın olarak kullanılan ışın kaynaklarıdır. Düşük basınçta neon veya argon gibi bir asal gazla doldurulmuş silindir biçiminde lambalardır. Katot, oyuk bir silindir şeklindedir ve analiz elementinden yapılmıştır. Anot ise tungsten veya nikelden yapılmış bir teldir.

Oyuk katot lambalardan 10-100 kat daha fazla ışın şiddetine sahiptirler İlgilenilen metalin ya da tuzun küçük bir miktarı ve birkaç torr basınçta argon gibi inert bir gaz içeren kapalı kuvarz bir tüpten yapılan bu lambalarda elektrot bulunmaz.

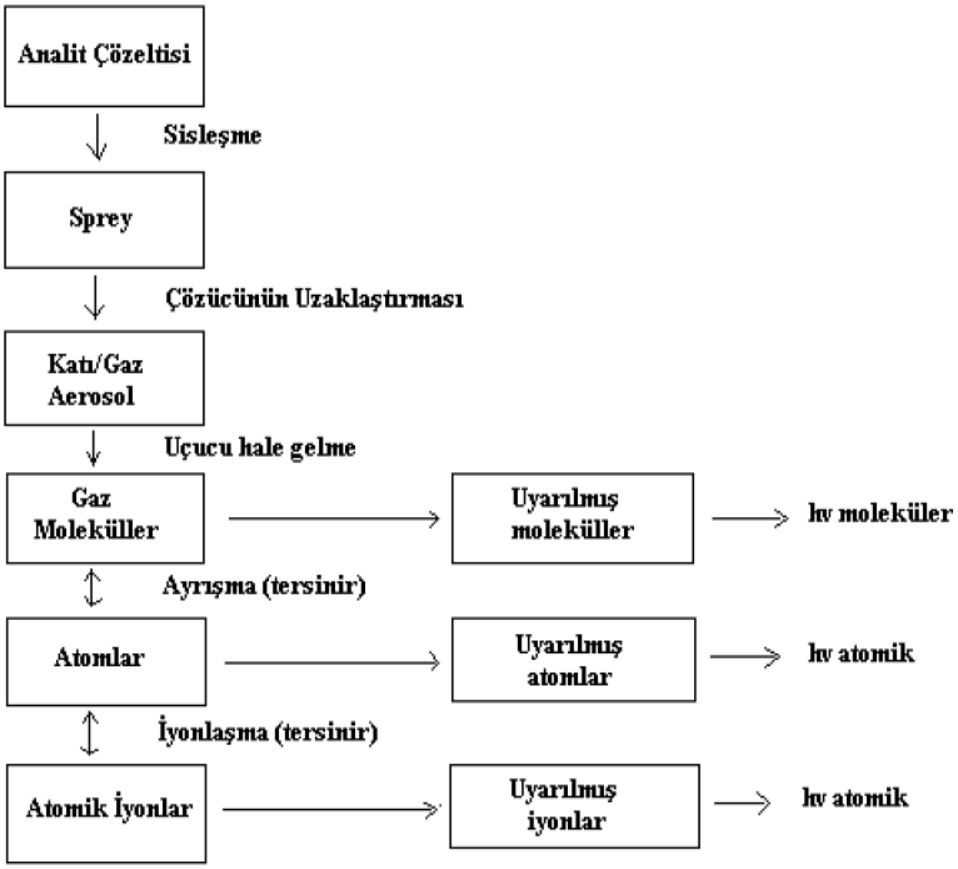
Elektrot yerine şiddetli bir radyo frekansı veya mikrodalga ışınların sağladığı alan yardımıyla atomlar uyarılır. Önce argon atomları iyonlaşır ve oluşan iyonlar uygulanan alanın yüksek frekans bileşeni ile hızlandırılır. Hızlanan bu iyonlar, spektrumu istenen atomlara çarpar ve bu atomları uyarırlar. Elektrotsuz boşalım lambalarının performansı oyuk katot lambalar kadar iyi değildir.



Şekil 2.8. Oyuk katot lambası

- Atomlaştırıcı

Absorpsiyon hücresi olarak da adlandırılan atomlaştırıcı, örnekteki iyonlardan ve moleküllerden, analizi yapılacak elementin temel düzeydeki atom buharının oluşturulduğu bölümdür. Analizi istenen elementin atom buharlarını oluşturmak işine "atomizasyon" denir ve bu da örnek çözeltinin aleve püskürtülmesiyle elde edilir. Atomlaştırıcının en önemli işlevi, örnekteki molekül veya iyonlardan temel haldeki element atomlarını oluşturmaktır. Atomlaştırma görevi yapan alevin içerisine numune çözeltisi bir yanıcı-yükseltgen gaz karışımı yardımıyla taşınır ve püskürtülür. Püskürtme sonucunda numunedeki çözücü buharlaşarak uzaklaşır ve moleküler bir aerosol oluşur. Bu aerosol moleküllerinin çoğu ayrışarak atomik bir gaz meydana gelir. Bu şekilde oluşan atomların çoğu iyonlaşarak katyon ve anyonları oluştururlar.



Şekil 2.9. AAS'de atomlaştırma süreçleri

- Monokromatörler (Dalgaboyu Seçicileri)

Çalışılan dalgaboyunu diğer dalgaboylarından ayırarak onun dedektöre ulaşmasını sağlar. Absorbansın ölçülmesi sırasında, ışık kaynağından gelen polikromatik ışıktan tek bir dalgaboyunda ışık seçilerek örneğe gönderilir. Polikromatik ışıktan monokromatik ışık elde edilmesini gerçekleştiren düzeneğe monokromatör adı verilir. Spektroskopik yöntemlerin çoğunda kullanılan aletin üstünlüğü, doğrudan monokromatörün ayırma gücüne bağlı olduğu halde, atomik absorpsiyon spektroskopisinde bu o kadar önemli değildir. Monokromatörün görevi, oyuk katot lambasının yaydığı, incelenen elementin rezonans hattını diğer hatlardan ayırmaktır. Çok basit bir monokromatör bu ayırmayı sağlayabilir (Göllü Özcan 2010).

- Dedektörler (Alıcılar)

Dedektörler ışın kaynağından gelen ışının şiddetinin ölçülmesi amacıyla kullanılan bileşenlerdir. Işığı elektrik sinyaline dönüştürürler. Bir dedektörün, ışığa karşı duyarlı olması, ışın şiddeti ile doğru orantılı bir sinyal üretmesi, üzerine düşen ışığa cevap verme yani sinyal üretme süresinin kısa olması, kararlı olması ve üretilen

elektriksel sinyalin yardımcı devrelerle çoğaltılabilmesi gibi özelliklere sahip olması istenir (Çalışır 2008).

2.7. Katı Faz Ekstraksiyonu ile İlgili Literatür Özetleri

Bağ ve ark. (1999), çalışmalarında sepiolit ile *Aspergillus niger*i immobolize ettikten sonra Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd örneklerinin analizini alevli atomik absorpsiyon spektrometrisi ile yapmışlardır. Kolon adsorpsiyon metodunu önderiştirme çalışmaları için kullanmışlardır. Analitlerin geri kazanımında pH'nın etkisi, adsorbent miktarı, elüsyon çözeltisi, akış hızı gibi parametreler araştırmışlardır. Sepiolit ile immobilize edilen *Aspergillus niger*ine da Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd iyonların geri kazanımlarını % 95 güvenle sırasıyla %98.01±0.06, %98.8±0.5, %98.0±0.4, %96.4±0.8 ve %94.8±0.6 olarak tespit etmişlerdir. Adsorbentin kapasitesini Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd için sırasıyla 0.093, 0.078, 0.067, 0.085 and 0.102 mmol/g olarak gözlemlemişlerdir. Yaptıkları metodu yaklaşık olarak % 5 bağıl hata olarak belirlemişlerdir.

Bağ ve ark. (2000), *Escherichia coli* ile Sepioliti immobilize ederek kolon hazırlamışlardır. Hazırladıkları bu kolon ile Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd iyonlarının zenginleştirilmesi için bir metod geliştirmişler ve analizleri alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile yapmışlardır. Analitlerin geri kazanıma pH değerleri, adsorbent miktarı, elüsyon çözeltisi ve akış hızı gibi parametrelerin etkisi incelenmişlerdir. Geri kazanma verimine girişim oluşturabilecek bazı iyonların etkisi bu elementlerin yanında incelemişlerdir. % 95 güven aralığında Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd iyonlarının geri kazanma verimleri sırasıyla % 99.1±0.6, 98.1±0.5, 97.2±0.8 ve 98.2±0.4 olarak bulmuşlardır. Kolonun adsorpsiyon kapasitesi Cu, Zn, Fe, Ni ve Cd için sırasıyla 0.148, 0.064, 0.098, 0.134 and 0.088 mmol/g olarak tespit etmişlerdir. Eser metallerin hata oranını %10 dan daha az bulmuşlardır.

Yan ve Viraranghavan (2001), yaptıkları çalışmada polisülfon matriksi ile *Mucor rouxii* biyokütlesini immobolize etmişlerdir. İmmobolize edilmiş biyokütleyi kolona doldurmuşlardır. Biyosorpsiyon kolonu, Pb, Cd, Ni ve Zn gibi metal iyonlarını hem multi bileşenli metal çözeltiler hem de tek bileşenli metal çözeltiler şeklinde ayırmada kullanılabilmekte olduğunu göstermişlerdir. Metalleri ayırmak için kolon kinetiğin Thomas modeline göre tanımlamışlardır. Tek bileşenli metal çözeltilerinin kolondan ayırma kapasitelerini Pb, Cd, Ni ve Zn için sırasıyla 4.06, 3.76, 0.36 ve 1.36

mg/g olarak tespit etmişlerdir. Multi bileşenli metal çözeltilerinin kolondan ayırma kapasitelerini Cd, Ni ve Zn için 0.36, 0.31 ve 0.40 mg/g şeklinde belirlemişlerdir. Adsorblanan metal iyonları 0.05 N HNO_3 ile kolayca geri almışlardır.

Saraçoğlu ve Elçi (2002), araştırmalarında katı faz ekstraksiyonu için kolon hazırlamışlardır. Atomik absorpsiyon spektrometrisiyle sediment örnekleri, deniz suyu ve içme suyundan Bi, Cd, Co, Cu, Fe, Ni ve Pb iyonlarının tayini için önderiştirme metodu geliştirmişlerdir. İşlemi Chromosorb-102 ile pirolidin ditiyokarbamat kompleksinden hazırlanan küçük kolondan analitlerin ayrılması temeline dayandırmışlardır. Analitleri aseton ile elüe etmişlerdir. Örnek çözeltinin pH'sı, Chromosorb-102'nin miktarı, ligandın miktarı, elüentin hacmi ve türü, örnek çözelti hacmi ve akış hızları gibi parametreleri incelemişlerdir. Önderiştirmede çeşitli iyonların etkilerini araştırmışlar, geri kazanımın %95'ten fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Geliştirdikleri metotta sediment örnekleri, deniz suyu ve içme suyu örneklerinden iz metallerin tayininde memnun edici sonuçlar almışlardır. Standart referans madde olarak GBW 07309 kullanmışlardır.

Baytak ve Türker (2004), çalışmalarında Amberlit XAD-4 ile immobilize edilmiş *Saccharomyces carlsbergensis* bakterisini biyosorbent olarak kullanmışlardır. Geliştirilen yöntemin hassas ve basit olması avantajdır. Bunun için eser element olan manganı tercih etmiş ve alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle tayinini yapmışlardır. . pH, adsorban miktarı, mikroorganizma miktarı, örnek çözeltinin elüent tipi ve hacmi için optimum değerleri belirlemişler, kantitatif geri kazanımlarını (>% 95) elde etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçları mikroorganizmalar kullanılmadan elde edilenlerle karşılaştırmışlardır. Optimum koşullar altında, % 95 güven seviyesinde geri kazanımlar mikroorganizmalı 98±% 3 ve mikroorganizma olmadan 68±%2 olarak bulmuşlardır. Mangan için dedeksiyon limitini sırasıyla mikroorganizmalı ve mikroorganizmasız olarak 60 ng/mL ve 197 ng/mL elde etmişlerdir. Önerilen yöntem mangan belirlenmesinde standart madde olan Ferosilicon alaşımı (NBS SRM 59a), alüminyum alaşımlı (NBS SRM 85b) ve alüminyum folyo da uygulamışlardır. Manganı bütün örneklerde % 5'den daha az bir bağıl hata ile belirlemişlerdir.

Guo ve ark. (2004), araştırmalarında 2-aminoasetiltiyofenol ile Amberlit XAD-2 polimerine eklenerek kullanılan adsorbent Cd, Hg, Ag, Ni, Co, Cu ve Zn iyonlarının

zenginleşmesi çalışmalarında kullanmışlardır. Çözeltinin akış hızı, adsorbent miktarı, çözelti pH'sı gibi parametreleri araştırmışlardır. Oluşturdukları metodu nehir suyu, çeşme suyu ve sediment örneklerine uygulamışlardır. Metal iyonların analizlerini ICP-AES ile gerçekleştirmişlerdir. İncelenen metallerden Cd, Hg, Ag, Ni, Co, Cu ve Zn iyonlarının tayin sınırlarını sırasıyla 0.10; 0.23; 0.41; 0.13; 0,25; 0.39; 0.58 μg/L olarak tespit etmişlerdir. Çalışmalarında bağıl hata oranını % 10 olarak gözlemlemişlerdir.

Liang ve ark. (2004), çalışmalarında kadmiyum, mangan ve nikel iyonlarının zenginleştirilmesi için katı faz ekstraksiyon sorbenti olarak çok duvarlı karbon nanotüpün potansiyeli üzerine bir çalışma yapmışlardır. pH, örnek hacim ve akış oranı gibi parametreleri çalışmışlardır. ICP-AES ile tayin öncesinde sorbent olarak çok duvarlı karbon nanotüp dolgulu mikro kolonda yapılan çalışmada metallerin pH 8.0'de kantitatif olarak adsorplandığını belirlemişlerdir. 0.5 mol/L HNO_3 kullandıkları geri almaları tamamen gerçekleştirdiğini tespit etmişlerdir. Adsorpsiyon kapasitelerini Cd, Mn ve Ni için sırasıyla 7.42, 4.86 ve 6.89 mg g^{-1} bulmuşlardır.

Tüzen ve ark. (2005), çalışmalarında atomik absorpsiyon spektrometrisi ile kadmiyum ve kurşun tayininden önce Chromosorp-106 reçinesi üzerine 1-(2-pridilazo) 2-naftol (PAN)'ı tutuklamış katı faz ekstraksiyonu için bir önderiştirme/ayırma yöntemi geliştirmişlerdir. Önderiştirme işlemi kadmiyum ve kurşun iyonlarını içeren örnek çözeltiler kullanarak optimize etmişlerdir. PAN miktarı, örnek çözeltiler de pH'nın etkileri, elüentin türü ve hacmi gibi parametreleri araştırmışlardır. Ayrıca örneklerin matriks bileşenlerinin etkilerini de araştırmışlardır. Gerçek örneklerden kadmiyum ve kurşunun ayrılmasını kantitatif şekilde başarmışlardır. Geliştirdikleri yöntem mikrodalga ile çözünürleştirilen standart referans maddenin (IAEA-336 Lichen ve SRM 1515 Elma yaprakları) analizi ile kontrol etmişlerdir. Önderiştirme yöntemini doğal su numunelerinin Pb ve Cd içeriklerine uygulamışlar ve bazı tuzlarda iyi sonuçlar elde etmişlerdir (geri kazanım % 95'den büyük, bağıl standart sapma % 8'den küçük).

Venkatesh ve Singh (2005), yaptıkları çalışmada 2-{[1-(3,dihidroksifenil)metildien]amino} benzoik asit: (DMABA) -N=N- bağları üzerinden Amberlit XAD-16' ya bağlamışlardır. AXAD-16- DMABA ile Zn(II), Mn(II), Ni(II), Pb(II), Cd(II), Cu(II), Fe(II) ve Co(II) iyonlarının zenginleştirme yöntemlerini araştırmışlardır. Optimum pH aralıklarını Zn(II), Mn(II), Ni(II), Pb(II), Cd(II), Cu(II),

Fe(II) ve Co(II) iyonları için sırasıyla; 6.5-7.0, 5.0-6.0, 5.5-7.5, 5.0-6.5, 6.5-8.0, 5.5-7.0, 4.0-5.0 ve 6.0-7.0, adsorplama kapasitesilerini sırasıyla; 198, 178, 269, 128, 97, 468, 515, 221 μmol g^{-1} ve zenginleştirme faktörlerini sırasıyla; 300, 250, 100, 250, 100, 250, 300, 450, 167 olarak bulmuşlardır. AXAD-16-DMABA'yı katı faz olarak 50 defa kullandıklarında dahi adsorpsiyon kapasitesinde önemli bir değişikliğin olmadığını bulmuşlardır. Zn(II), Mn(II), Ni(II), Pb(II), Cd(II), Cu(II), Fe(II) ve Co(II) için gözlenebilme sınır değerleri sırasıyla 1.12 1.38, 1.76, 0.67, 0.77, 2.52, 5.92 ve 1.08 μg/ L olarak bulmuşlar, analizleri alevli atomik absorpsiyon spektrometresi kullanarak yapmışlardır. Geliştirilen zenginleştirme yöntemini, 8 metal iyonu için nehir ve sentetik su örneklerine, Co için vitamin tabletlerine ve Zn için süt örneklerine uygulamışlardır.

Liu ve ark. (2006), araştırmalarında kadmiyum ve kurşun eser metallerini bir sorbent olarak Pang Da Hai bitkisini kullanarak biyosorpsiyon çalışmışlardır. Kadmiyum ve kurşun için Pang Da Hai bitkisinin iyi biyosorpsiyon ve desorpsiyon özellik gösterdiğini bulmuşlardır. Pang Da Hai biyosorbentinin 0.1 mol L^{-1} HNO_3 ile kolayca elüe edildiğini tespit etmişlerdir. pH etkisi, metal konsantrasyonu, subsrat konsantrasyonunu çalışmışlardır. Cd ve Pb için biyosorpsiyon kapasitesi sırasıyla; 17.5 ve 27.1 mg g^{-1} olarak bulmuşlardır. Çalışmalarında % 10'dan daha az hata olduğunu görmüşlerdir. Cd ve Pb iyonlarının önderişimi için düşük maliyetli alevli atomik absorpsiyon spektrometrisiyle tayinleri gerçekleştirmişlerdir. Uyguladıkları metotta referans maddesi olarak GBW 08301 kullanmışlardır. Cd ve Pb iyonlarının önderişim katsayılarını 90 olarak tespit etmişlerdir. Su ve nehir suyu örneklerini FAAS' de tayin etmişlerdir.

Yılmaz (2006), çalışmasında 1-(2-tiyazolilazo)-2-naftol (TAN)'u Amberlit XAD-1180'e (AXAD-1180) immobilize ederek Amberlit XAD- 1180/TAN reçinesini sentezlemişlerdir. Öncelikle Amberlit XAD-1180 reçinesini nitrolamış, daha sonra amine indirgeyerek sodyum nitrit ile diazonyum tuzu oluşturmuş ve TAN ile reaksiyona sokarak AXAD-1180-TAN şelat yapıcı reçineyi oluşturmuştur. Sentezledikleri reçinenin karekterizasyonunu IR (infrared) spektrometresi ile yapmıştır. Bu şelat yapıcı reçine ile eser düzeydeki Co(II), Cd(II), Cu(II), Mn(II), Ni(II) ve Pb(II) iyonlarının zenginleştirilmesi için araştırma yapmıştır. Model çözelti ortamında geliştirilen yöntem için pH, örnek hacmi, örnek ve elüent akış hızı, reçine miktarı, elüe edicinin cinsi ve

hacmi gibi bazı analitik parametrelerin eser elementlerin geri kazanma verimine (%R) etkisini incelemiştir. Reçinede TAN kompleksi olarak tutunan metalleri 25 mL 2 M HNO_3 ile elüe etmiştir. Ortam bileşenlerinin etkisini incelemek amacıyla sentetik deniz suyundan eser elementlerin geri kazanma çalışması yapmıştır. Co(II), Cd(II), Cu(II), Mn(II), Ni(II) ve Pb(II) için reçinenin adsorpsiyon kapasitesini belirlemiştir. Deneysel olarak belirlenen optimum şartlarda yöntemin kesinliğini incelemiştir. Tüm elementler için geri kazanma değeri≥%95 ve bağıl standart sapma değerini ≤ %4.3, gözlenebilme sınırlarını 0.08- 3.65 µg/L arasında bulmuştur. Gözlenebilme sınırlarını 0.08- 3.65 µg/L arasında bulmuştur. Yöntemin doğruluğu için standart referans madde (TMDA-62) analizi yapmıştır. Geliştirdiği yöntemi sahil deniz suyu, baraj göl suyu ve laboratuar musluk suyunda bulunan Co(II), Cd(II), Cu(II), Mn(II), Ni(II) ve Pb(II) iyonlarının zenginleştirilmesi için uygulamış ve analizleri FAAS ile tayinlerini yapmıştır.

Doğru ve ark. (2007), yaptıkları araştırmada eser metallerin belirlenmesinde yeni biyosorbent olarak Amberlit XAD-4 ile immobilize edilen *Bacillus subtilis* kullanmışlardır. Yaptıkları işlem, ölü bakteri birleşenleri ile Amberlit XAD-4 hazırlanan kolondan Cd ve Cu iyonlarını geçirerek FAAS ile tayini temeline dayanır. Araştırmada pH, elüentin hacmi ve türü, adsorbent miktarı ve çözeltinin akış hızı gibi parametreleri çalışmışlardır. Optimum pH değerlerini Cd ve Cu için sırasıyla 7 ve 7,5 olarak tespit etmişlerdir. Bu metallerin geri almalarını 1 M HCI (% 96-100) olarak belirlemişlerdir. Reçinenin biyosorpsiyon kapasitesini Cu^{+2} için 0.0297 ve Cd^{+2} için ise 0.035 mmol g^{-1} bulmuşlardır. Çalışmalarında standart referans maddesi olarak NRCC-SLRS-4 nehir suyu ve LGC7162 çilek yaprakları kullanmışlardır.

Tuzen ve ark. (2007), çalışmalarında immobilize edilen *Bacillus sphaericus* ile Diaion SP-850 kolon dolgu maddesini kullanarak, Cu (II), Pb (II), Fe (III) ve Co (II) iyonlarının önderiştirilmesi üzerine araştırma yapmışlardır. Bütün iyonları 1 M HCI ile elüe ederek FAAS ile analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Gerçek örneklerden Cu, Pb, Fe ve Co iyonların ayırma ve önderiştirme başarı ile gerçekleştirmişleridir. Metotların geçerliliğini sertifikalı referans maddeleri (NRCC-SLRS 4, SRM 2711 ve GBW 07605) ile doğrulamışlardır.

Bayrak ve ark. (2008), araştırmalarında sünger taşına immobilize edilen *Penicillium digitatum* da Cu(II), Zn(II) ve Pb(II) iyonlarını kolonda biyosorpsiyonu için

katı faz ekstraksiyonu üzerine çalışma yapmışlardır. Analizlerini alevli atomik absorpsiyon spektrometresinde yapmışlardır. pH, örnek çözelti ve elüentin akış hızı, katı fazın miktarı gibi optmimum koşulları belirlemişleridir. Optimum koşullar altında Cu(II), Zn(II) ve Pb(II) iyonlarının geri kazanım verimlerini sırasıyla % 97±2, % 98± 2 ve % 98 ± 2 şeklinde bulmuşlardır. Zenginleştirme faktörünü 50 olarak tespit etmişleridir. Gözlenebilme sınırlarını Cu(II), Zn(II) ve Pb(II) iyonları için sırası ile 1.8, 1.3 ve 5.8 ng mL^{-1} bulmuşlardır. Çalışmanın doğruluğunu belirlemek için standart referans olarak çay örneklerini (GBW-07605) kullandılar.

Mendil ve ark. (2008), tarafından yapılan çalışmada çevresel örneklerdeki Cd(II), Pb(II), Mn(II), Cr(III), Ni(II) ve Co(II) iyonlarının ayrılması ve zenginleştirilmesi için yeni bir katı faz dan Chromosorb 101 reçinesine immobilize edilmiş *Bacillus thuringiensis var. israelensis*'u kullanmışlardır. pH, örnek hacmi, elüent türleri gibi analitik parametrelerin analitlerin kantitatif olarak geri kazanılmasına etkisini incelemişlerdir. Doğal ortamda beraberinde olabilecek bazı metal iyonlarının etkilerini araştırmışlardır. Optimize edilmiş koşullar altında, analit iyonları için dedeksiyon limitleri 0.37-2.85 mg/L aralığında bulmuşlardır. Geliştirilen yöntemin doğruluğunu IAEA 336 Liken ve NIST SRM 1573a domates yaprakları sertifikalı referans madde ile belirlemişlerdir. Geliştirdikleri yöntemikırmızı şarap, pirinç ve konserve balık numuneleri ile deniz suyu, kaynak suyu ve idrar örneklerinde analitlerin belirlenmesinde başarıyla uygulamışlardır.

Mendil ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada, alevli atomik absorpsiyon spektroskopisine bağlı katı faz eksraksiyon önderiştirme sistemini, Sepabeads SP 70 tutturulmuş *Penicillium italicum* ile kobalt, nikel, demir, mangan, kurşun, bakır ve kadmiyum iyonlarının belirlenmesi için geliştirmişlerdir. Analitlerin, pH 8.5-9.5 arasında bisorbentte adsorblandığını belirlemişlerdir. Adsorblanan metaller 1 mol L^{-1} HCl ile elüe edilmektedirler. Sıvı çözeltinin pH'sı, örnek hacmi ve akış hızları gibi analitik parametreleri araştırmışlardır. Geri kazanım verimlerini % 95-102 arasında olduğunu bulmuşlardır. Optimum koşullar altında analitler için tayin sınırını kadmiyum için 0.41 μgL^{-1}, demir için ise 1.60 μgL^{-1} olarak gözlemlemişlerdir. Standart referans maddesi olarak IAEA 336 Lichen, NIST SRM 1573a domates yapraklarını

kullanmışlardır. Bu metodu doğal su, kültür mantarı, liken (*Bryum capilare Hedw*), yosun (*Homalothecium sericeum*) ve rafine tuzlarına başarılı olarak uygulamışlardır.

Tüzen ve ark. (2008), tarafından yapılan çalışmada, çok duvarlı karbon nanotüplere immobilize edilmiş *Pseudomonas aeruginosa*, çevre örneklerindeki bazı ağır metal iyonları katı faz ekstraksiyonu metodu için biosorbent olarak kullanılmıştır. Mevcut çalışma Mn (II), Co(II), Cd(II), Pb(II), Cr(III) ve Ni(II) iyonlarını insan yaşamına önemli negatif ve pozitif rolleri nedeniyle, analit iyonları olarak seçmişlerdir. Analitlerin kantitatif biyosorpsiyon koşulları için, sulu çözeltinin pH'sı, numune hacmi, elüent türü ve hacminin etkilerini incelemişlerdir. Aynı zamanda analit iyonlarının biyosorpsiyonuna alkali, toprak alkali ve bazı geçiş metal iyonlarının etkilerini de araştırmışlardır. Mevcut biyosorpsiyon prosedürünü domates yaprağı, sığır karaciğeri, haşlanmış buğday, konserve balık, siyah çay, liken ve doğal su örneklerindeki analitlerin belirlenmesine uygulamışlardır.

Tuzen ve ark. (2008), yaptıkları çalışmada Dowex optipore V-493 ile *Bacillus thuringiensis israelensis* tutturularak, ağır metallerin önderiştirilmesi üzerine araştırma yapmışlardır. Cu (II),Fe (III) ve Zn(II) iyonlarının geri kazanım verimine pH, biyosorbent miktarı ve örnek çözelti hacmi gibi parametrelerin etkisini incelemişlerdir. Zenginleştirme faktörünü 37 olarak bulmuşlardır. Gözlenebilme sınırları bakır için 1.14 μg L^{-1}, demir için 2.01 μg L^{-1}, çinko için 0.14 μg L^{-1} tespit etmişlerdir. Metodu iki sertifikalı referans maddeler olan NRCC-SLRS-4 nehir suyu ve NIST SRM 1515 elma yaprakları ile doğruluğunu belirlemişlerdir.

Xie ve ark. (2008), çalışmalarında modifiye edilen silika jel ile gallik asit kullanarak hazırladıkları fazdan kurşun (II), bakır (II), kadmiyum (II) ve nikel (II) iyonlarının atomik absorpsiyon spektrometrisiyle tayinlerini gerçekleştirmişlerdir. Analitlerin kantitatif sorpsyonu için pH aralıkları ve Pb(II), Cd(II), Cu(II) ve Ni(II) iyonların elüesi için HCI konsantrasyonları optimize etmişlerdir. Matriksin sorpsiyon kapasitelerini Pb(II), Cd(II), Cu(II) ve Ni(II) için sırasıyla; 12.63, 6.09, 15.38, 4.62 mg/g olarak tespit etmişlerdir. Akış oranların etkileri, elüentler, şelatlanmış matriksin stabilitesi ve yeniden kullanılabilirliğini araştırmışlardır. Önderiştirme ve tayin metodunu Nehir suyu örneklerine ve sentetik metal karışım çözeltilerinin analizlerine başarılı bir şekilde uygulamışlardır.

Anılan (2009), araştırmasında DMGMS ile doldurulmuş mini kolon hazırlayarak Cu(II) ve Cd(II) iyonlarının önderistirilmesi için yeni bir katı faz özütleme yöntemi oluşturmuştur. En iyi geri alma çözeltisini 0.1 M HCl olarak belirlenmiş ve önderiştirme çalışmalarında bu metalleri, alevli atomik absorpsiyon spektrofotometrisi ile tayin etmiştir. Geri kazanım verimine, çözelti pH'sının, adsorbent miktarının, çözelti akış hızının, geri alma çözeltisinin turunun ve derişiminin, geri alma çözeltisi hacminin, örnek çözeltisi hacminin ve yabancı iyonların etkisini araştırmış ve optimum değerleri elde etmiştir. Maksimum adsorpsiyon kapasitesitelerini Cu(II) ve Cd(II) iyonları icin sırasıyla 71,37 ve 68,49 mg g^{-1} olarak bulmuştur. Optimum çalışma koşulları altında Cu(II) ve Cd(II) iyonları için geri kazanma verimini %95 güven seviyesinde sırasıyla; %98±3 ve 99±1 olarak bulmuştur. Cu(II) iyonu için gözlenebilme sınırını 6 ng mL^{-1} ve Cd(II) iyonu için 16,8 ng mL^{-1} olarak tespit etmiştir. Geliştirdikleri yöntemi çeşitli gerçek su örneklerine uygulamıştır. Önerdikleri yöntemin doğruluğunu sertifikalı standart referans maddeler kullanarak tespit etmişlerdir.

Duran ve ark. (2009) araştırmalarında *Anoxybacillus gonensis* ile Diaion HP-2MG immobilize ederek içerisinde bakteri bulunan kolon ile Zn^{+2}, Fe^{+3}, Cu^{+2}, Cd^{+2}, Ni^{+2}, Co^{+2}, ve Pb^{+2} eser elementlerinin önderiştirme ve ayırmalarını sağlamışlardır. Analizlerini atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin etmişlerdir. Optimum pH değerlerini Zn^{+2}, Fe^{+3}, Cu^{+2} ve Pb^{+2} için 6.0, Cd^{+2}, Ni^{+2} ve Co^{+2}'ın 8.0 olarak bulmuşlardır. Geri kazanımlarını Zn^{+2}, Fe^{+3}, Cu^{+2}, Cd^{+2}, Ni^{+2}, Co^{+2}, ve Pb^{+2} için sırasıyla; 95 ±3, 98±6, 96±2, 98±2, 97±2, 95±4 ve 95±3 olarak belirlemişlerdir. Analit iyonlarının önderişim faktörleri Zn^{+2}, Cd^{+2} ve Pb^{+2} için 50, Fe^{+3}, Cu^{+2}, Ni^{+2} ve Co^{+2} 75 olarak tespit etmişlerdir. Analit iyonlarının sınır değerlerini 0.2–1.3 mg L^{-1} aralığında bulmuşlardır.

Ghaedi ve ark. (2009), araştırmalarında Co^{+2}, Ni^{+2}, Cu^{+2} ve Cd^{+2} eser elementlerinin önderiştirilmesi konusunda yeni bir metot geliştirmişlerdir. Metot, 2, 4, 6, 8-tetra(2-hidroksifenil)-1, 3, 5, 7 (1,3) tetrabenzensiklooktapan-14, 16, 34, 36, 54, 56, 74, 76-octol (salisilaldehit calix4 resorcinarenes)(yeni resorcinarenes türevi) ile Amberlit XAD-16'yı modifiye ederek Co^{+2}, Ni^{+2}, Cu^{+2} ve Cd^{+2} iyonlarının adsorpsiyonu temeline dayanır. Adsorblanan analit iyonlarını 6 mL 3M HCI aseton çözeltisi ile elüe ederek atomik absorpsiyon spektroskopisinde analizlerini yapmışlardır. Çalışmalarında analitik olarak; pH, ligand miktarı, elüent çözeltsinin koşulları, örnek

çözelti hacmi gibi parametreleri araştırmışlardır. Sorbentin optimum koşullar altında mükemmel stabilite gösterdiğini tespit etmişlerdir. Metodun kesinliğini kullandıkları gerçek numunelerle göstermişlerdir.

Soysal (2009), çalışmasında adsorbent olarak *Anoxybacillus flavithermus HBB 134* ile immobilize edilmiş silika jel kullanmıştır. Bu biyosorbent kullanılarak katı faz ekstraksiyonu yöntemi ile Cu ve Cd metal iyonlarının zenginleştirme şartlarını araştırmıştır. Bu metal iyonlarının tayinini ise indüklenmiş eşleşmiş plazma (ICP) ile yapmıştır. Araştırmasında elementlerin geri kazanım verimlerine, silikajeldeki bakteri kütlesi, çözelti pH'sı, eluentin türü ve hacmi, çözelti hacmi ve derişiminin etkisini incelemiş ve en uygun (optimum) şartları bulmuştur. *A. flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajelde Cu ve Cd için geri kazanımlar sırasıyla %97.58 ve %95.57 olarak gözlemlemiştir. Ayrıca *A. flavithermus HBB 134* immobilize edilmiş silikajelin adsorpsiyon kapasitesini Cu ve Cd için sırasıyla 3.09 mg/g, 7.73 mg/g olarak tespit etmiştir. Geliştirilen yöntem ile çeşme suyunda Cu ve Cd elementlerinin tayinini gerçekleştirmiştir. Çeşme suyu örneği için bağıl standart sapma ve bağıl hata değerleri Cu ve Cd elementleri için sırasıyla yaklaşık olarak % 6, % 7.5 olarak bulmuştur.

Tuzen ve Soylak (2009), çalışmalarında *Bacillus sphaericus* ile Chromosorb 106 (BSLC106) kolon dolgu maddesini kullanarak Ni (II) ve Ag (I) iyonların ayrılması ve önderiştirilmesini gerçekleştirmişlerdir. Optimum pH aralığını 6.0-7.0 olarak ve elüentin ise 1 M 10 mL HCI ile geri aldığını tespit etmişlerdir. Gözlenebilme sınırları Ni (II) ve Ag (I) iyonları için sırası ile 1.42 ve 1.05 μg L^{-1} bulmuşlardır. Yöntemin doğruluğu için NIST SRM 2711 ve GBW 07310 sertifikalı referans maddelerini kullanmışlardır. Doğal su örnekleri, tütün, toprak ve siyah çay gibi örneklere ayrıma ve zenginleştirme metotlarını başarı ile uygulamışlardır.

Varhan Oral (2009), yaptığı araştırmada modifiye Amberlit XAD-16 ile 1,6-bis(2-karboksi aldehit fenoksi)bütan ligandını kullanarak kolon hazırlamıştır. Hazırlanan kolondan Pb(II), Cd(II), Zn(II), Cu(II) ve Ni(II) iyonlarını geçirdikten sonra zenginleştirme çalışması yaparak alevli atomik absorpsiyon spektrometrik yöntem ile tayini etmiştir. Parametre olarak pH, geri alma çözeltisinin türü, derişimi, hacmi ve akış hızı, örnek çözeltisinin hacmi ve akış hızı, sorpsiyon kapasitesini çalışmıştır. Geri kazanım verimlerini Pb(II), Cd(II), Zn(II), Cu(II) ve Ni(II) iyonları için sırasıyla; % 99

± 1.15, 100 ± 1.40, 98 ± 1.82, 100 ± 2.15 ve 100 ± 2.70 (N=5) şeklinde tespit etmiştir. Çalışmasında, metodun gerçek numunelere uygulanabilirliğini araştırmak için Na^{+}, K^{+}, Ca^{+2}, Mg^{+2}, Cl^{-} ve SO_4^{-2} gibi bazı matriks elementlerin geri kazanma verimine etkisi araştırmıştır. Yöntemini Dicle nehir suyu, Elazığ Maden çayı suyu, trafiğin yoğun olduğu yerlerden alınan otomobil egzoz partikülleri, Diyarbakır ilinde yetişen marul ve maydanoz gibi gerçek örneklerde Pb(II), Cd(II), Zn(II), Cu(II) ve Ni(II) iyonlarının tayini için uygulamıştır. Geliştirdiği yöntemin doğruluğunu, standart referans madde analizi yaparak araştırmıştır.

Efendioğlu (2010), yaptığı araştırmada Amberlit XAD-4 reçinesine N,N -bis(o-Vaniliniden) etilendiamin (o-VEDH2) fonksiyonel grubu ekleyerek yeni bir şelatlaştırıcı reçine sentezlemiştir. Sentezlediği reçine ile Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının ayrılması ve önderistirilmesi için yeni bir katı faz ekstraksiyon metodu geliştirmiştir. Geri alınan çözeltilerin analizlerini FAAS ile yapmıştır. pH, geri alma çözeltisinin türü ve derişimi, geri alma çözeltisi ve numune hacmi, girişim etkileri gibi metal iyonlarının tutunmasını ve geri alınmasını etkileyen çeşitli parametreleri çalışmıştır. Geri alma çözeltisindeki Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) derişimleri sırasıyla; 0.1-6.0 mg/L (r2= 0.9986), 0.2-12.0 mg/L (r^2=0.9996) ve 0.2-12.0 mg/L (r^2=0,9991) olduğunda doğrusallık tespit etmiştir. Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) için gözlenebilme sınırlarını sırasıyla; 0.48 µg/L, 1. 30 µg/L ve 1.63 µg/L ve tayin sınırlarını ise sırasıyla; 1.12 µg/L, 2.88 µg/L ve 3.43 µg/L olarak hesaplamıştır. Optimum çalışma şartlarında Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) için geri kazanımların %95' ten yüksek olduğunu belirlemiştir. Önerilen yöntemin doğruluğu, standart madde analizleri (MBH-C31XB20, GBW-02703 ve CRM BCR-32) ve numune matriksine analit ekleme/geri kazanma çalışmalarıyla test etmiştir. Geliştirdikleri yöntemi deniz suyu, ırmak suyu ve çeşme suyu örneklerine uygulamıştır.

Özdemir ve ark. (2010), araştırmalarında *Geobacillus thermoleovorans* subsp. *Stromboliensis*'i ile Amberlit XAD-4 üzerine immobilize ederek kadmiyum ve nikel iyonlarının önderiştirilmesini çalışmışlardır. Analizlerini alevli atomik absorpsiyon spektroskopisi (FAAS) ile yapmışlardır. Ekstraksiyon koşullarını optimize etmek amacıyla pH, elüentin hacmi ve türü, adsorbent miktarı, çözelti akış hızı gibi matrixin tutmasını engelleyen parametreleri çalışmışlardır. Mini kolonlardan Cd ve Ni elüsyonunu 1 M HCI ve HNO_3 ile sağlamışlardır. Cd ve Ni'in geri kazanım verimlerini

sırasıyla; %97 ve % 100 olarak tespit etmişlerdir. Sorpsiyon kapasitesini Cd ve Ni için sırasıyla; 0.0373 and 0.0557 mmol g^{-1} şeklinde bulmuşlardır. Kadmiyum için tayin sınırını 0.24 μg L^{-1}, Nikel için ise 0.3 μg L^{-1} olarak gözlemlemişlerdir. Referans maddesi olarak her iki metal içinde doğal su ve gıda maddeleri uygulamışlardır.

Ozdemir ve ark. (2010), çalışmalarında Amberlit XAD-4'e immobilize ettikleri *Geobacillus thermoleovorans* subsp. *stromboliensis* kullanmışlardır. Katı faz ekstraksiyonu ile Th iyonlarının önderiştirilmesini yaparak UV-VIS spektrofotometrisiyle tayinini gerçekleştirmişlerdir. Çözeltinin pH'sı, Th'un konsantrasyonu, elüentin türü ve hacmi ve akış oranı gibi parametreleri araştırmışlardır. Th'un biyosorpsiyonu için pH'yı 5.0 olarak ve elüenti ise 1 M HCI kullanmışlardır. Biyosorpsiyon kapasitesini 17.2 mg g^{-1} olarak tespit etmişlerdir. Sertifikalı referans madde olarak NCS DC-73350 kullanmışlardır.

Uluozlu ve ark. (2010), çalışmasında immobilize edilen *Streptococcus pyogenes* ile Sepabeads SP 70 kullanılarak hazırlanan kolon dolgusunda As(III) ve As(V) iyonlarını katı faz ekstraksiyonu ile önderiştirilmesini gerçekleştirmişlerdir. pH, mikroorganizmanın miktarı, örnek çözelti hacmi gibi çeşitli parametreleri araştırmışlardır. As(III) için biyosorbent kapasitesini 7.3 mg/g, zenginleştirme faktörünü ise 36 olarak tespit etmişlerdir. Gözlenebilme sınırını 13 ng/L olarak bulmuşlardır. Çalışmalarını sertifikalı referans maddeler (NIST SRM 1568a ve GBW 07605) ile doğruluğunu tespit etmişlerdir.

Aksoy (2011), çalışmasında Amberlit XAD-16 reçinesine immobilize edilen *Anoxybacillus* sp. SO-B1 hazırlanan kolon dolgu maddesinden Cu (II) iyonun katı faz ekstraksiyonu ile zenginleştirilmesini gerçekleştirmiştir. pH, akış hızı, elüentin türü ve hacmi, biyosorbent miktarı ve örnek çözeltinin hacmi gibi çeşitli parametreleri araştırmıştır. Çalışmasında pH'yı 7.0, geri alma çözeltini ise 1 M 5 mL HCI de gerçekleştirmiştir. Cu (II) iyonun gözlenebilme sınırını 0.16 μg L^{-1} olarak tespit etmiştir. Geliştirdiği metodu sertifikalı referans maddeler ile doğrulamıştır.

Güven ve ark. (2011), çalışmalarında *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22 silika jele immobilize ederek kolon hazırlamışlardır. Cu (II), Zn (II) ve Pb (II) iyonların önderiştirilmesi üzerine çalışma yapmışlardır. Bütün iyonları 1 M HCI ile elüe ederek ICP-OES ile analizlerini gerçekleştirmişlerdir. pH, örnek hacim, elüenttin hacmi,

bakteri biyokütlesinin miktarı gibi geri kazanım verimine etki eden parametreleri araştırmışlardır. Gözlenebilme sınırı Cu (II), Zn (II) ve Pb (II) iyonları için sırası ile 1.51, 3.11 ve 4.48 μg L^{-1} olarak tespit etmişlerdir. Çalışmalarının doğruluğunu sertifikalı referans madde ile doğrulamışlardır.

Eşer (2012), çalışmasında *Salinivibrio sharmensis* tutturulmuş Amberlit XAD-4 kullanılarak kolon dolgu maddesini hazırlamıştır. Çalışmasında Cd (II) ve Ni (II) iyonlarının ayrılması ve önderiştirmesini gerçekleştirmiş analizlerini alevli atomik absorbsiyon spektroskopisinde gerçekleştirmiştir. Cd (II) ve Ni (II) iyonları için optimum pH değerleri sırası ile 5.0-5.5, 6.0-6.5 olarak tespit etmiştir. Elüent olarak 1 M HCI kullanmıştır. Biyosorpsiyon kapasitesi Cd (II) ve Ni (II) için sırası ile 1360 mg g^{-1}, 2175 mg g^{-1}; gözlenebilme sınırları ise sırası ile 0.42, 0.54 μg L^{-1} olarak tespit etmiştir. Geliştirdiği metodu NRCC-SLRS 4 Riverine Water (μg L-1, GBWO7604 Poplar Leaves (μg/g), DOLT-3 (mg/kg) sertifikalı referanslara uygulayarak doğruluğunu tespit etmiştir.

Kırış (2012), çalışmasında katı faz ekstraksiyon yöntemini kullanmıştır. Gıda ve su örneklerinde bakır, kurşun, kadmiyum ve nikel miktarını atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin etmiştir. Katı faz olarak Sepabid SP-207 reçinesi, ligant olarak da sodyumdietilditiyokarbamat kullanmıştır. Analit iyonların geri kazanımlarına pH, örnek hacmi, elüent cinsi gibi parametrelerin etkisini araştırmıştır. Bazı alkali, toprak alkali ve geçiş metallerin etkisini de bakmıştır. Analit iyonlarının geri kazanım değerlerinin % 95'in üzerinde ve standart sapmanın da % 10'un altında olduğunu belirlemiştir. Zenginleştirme faktörünü 33 olarak bulmuştur. Tayin edilen iyonların gözlenebilme sınırlarını (k=3, N=21) 0,81 μg/L (Cu), 0,55 μg/L (Pb), 0,17 μg/L (Cd) ve 1,67 μg/L (Ni) olarak belirtmiştir. Yöntemin doğruluğunu sertifikalı referans maddelerle tespit etmiştir.

Ozdemir ve ark. (2012), yaptıkları çalışmada katı faz biyosorbenti olarak Amberlit XAD-16 ya immobolize ettikleri *Pleurotus eryngii*'i kullanarak Cd^{+2} ve Co^{+2} iyonlarının tayini ve önderiştirilmesi için metot geliştirmişlerdir. Metallerin konsantrasyonunu ICP-OES ile ölçmüşlerdir. Katı faz ekstraksiyon işlemini optimize etmek için; örnek çözelti hacmi, elüentin hacmi, biyosorbentin miktarı, akış oranı ve çözeltinin pH'sı gibi önemli parametreleri araştırmışlardır. Geliştirdikleri ekstraksiyon

metodunda Cd^{+2} iyonun optimum pH'sını 6.0, Co^{+2} için optimum pH ise 5.0 olarak belirlemişlerdir. Her iki metal içinde akış hızını 2 mL/dk, biyosorbent miktarını 200 mg ve geri kazanım için elüent miktarı ve türünü ise 5 mL 1 M HCI olarak tespit etmişlerdir. Cd^{+2} ve Co^{+2} metallerinin LOQ'larını sırasıyla 0.67 ve 0.82 ng mL^{-1} olarak bulmuşlardır. Geliştirdikleri metotta referans maddesi olarak NCS ZC-73014 kullanmışlardır.

Ozdemir ve Kilinc (2012), çalışmalarında Amberlit XAD-4'e immobilize ettikleri *Geobacillus thermoleovorans* subsp. *stromboliensis* kullanmışlardır. Katı faz ekstraksiyonu ile U(VI) iyonlarının önderiştirilmesini yaparak UV-VIS spektrofotometrisiyle tayinini gerçekleştirmişlerdir. Önderiştirmeye etki eden parametreleri (ph, örnek çözelti hacmi, elüentin türü hacmi ve derişimi, akış hızı, U(VI) iyonun konsantrasyonu) çalışmışlardır. U(VI)'un sorpsiyonu için optimum pH'yı 5.0 olarak bulmuşlardır. U(VI)'u kolondan geri almak için 1 M 5 mL HCI kullanmışlardır. Gözlenebilme ve tayin sınırlarını sırası ile 2.7 ve 9.0 μg L^{-1} olarak tespit etmişlerdir.

Zhang ve ark. (2012), çalışmalarında rhodamin 6G'u aktifleştirilmiş karbon ile modifiye ederek katı faz şeklinde kullanmışlardır. Cr(III), Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonların zenginleşmesiyle ilgili araştırma yapmışlardır. Bakılan Cr(III), Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyolarının pH'sını 4.0 olarak bulmuşlardır. Geri kazanım verimlerini 1 M HCI ile elüe ederek hesaplamışlardır. Eser elementlerin adsorpsiyon kapasiteleri Cr(III), Cu(II), Cd(II) ve Pb(II) iyonları için sırasıyla 37.8, 47.8, 56.5 ve 41.7 mg g^{-1} şeklinde tespit etmişlerdir. Analitlerin en düşük tayin sınırını (3σ) 0,35 ng mL^{-1} nin altında ve bağıl standart sapma ise (n=11) % 3.5 gözlemlemişlerdir. Metodu biyolojik ve su örneklerine uygulamışlardır. Çalıştıkları metallerin analizlerini ICP-AES ile yapmışlardır.

Karadaş ve Kara (2013), araştırmalarında Amberlit XAD-4 ile hidroksi-2-kinolin karboksi aldehiti immobolize ederek Cd, Co, Cu, Pb, Mn ve Ni iyonları konusunda çalışma yapmışlardır. Tutunan iyonları 1 M HNO_3 ile elüe ederek verimin % 90'dan fazla olduğunu tespit etmişlerdir. Tayin sınırlarını 0,14 μg/L ile 2,92 μg/L arasında değişen değerler olarak bulmuşlardır. Tutunan iyonları 10 mL ile geri alındığından dolayı zenginleştirme faktörleri 22,3-27,6 arasında değiştiğini gözlemlemişlerdir. Bağıl hata oranını % 10'un altında deniz suyu ve nehir suyu kullanarak tespit etmişlerdir.

Kılınç ve ark. (2013), yaptıkları çalışmada katı faz ekstraksiyon metodu kullanarak Al ve Pb iyonlarının önderiştirilmesini sağladılar. Amberlit XAD-4'e immobilize ettikleri *Agaricus arvensis'*i biyosorbent olarak mantar kullandılar. Al ve Pb iyonların önderiştirilmesini etkileyen pH, akış hızı, biyosorbent miktarı ve örnek çözelti hacmi gibi parametreleri araştırmışlardır. Çalışmalarında kolonun yaklaşık 30 defa kullanılabileceğini belirttiler. Gözlenebilme sınırları Pb ve Al iyonları için sırası ile 0.10 ng mL^{-1} ve 0.03 ng mL^{-1} olarak tespit etmişleridir.

Özdemir ve ark. (2013), araştırmalarında immobilize edilen *Coriolus versicolor* ile Amberlit XAD-16 kullanılarak La (III) iyonun katı faz ekstraksiyon yöntemi ile önderiştirilmesini sağlamışlardır. Çalışmaların da La (III) iyonunu pH 6.0, geri almayı ise 1 M 5 mL HCI ile gerçekleştirmişlerdir. La (III) iyonun gözlenebilme sınırını 0.27 ng mL^{-1} olarak tespit etmişlerdir. Geliştirdikleri metodun geçerliliğini sertifikalı referans maddeler olan çay (NCS ZC-73014) ve ıspanak (NCS ZC-73013) örnekleri ile tespit etmişlerdir.

Yildiz ve ark. (2013), çalışmalarında sepiolit'e immobolize ettikleri *Streptomyces albus* CIP 104432^{T} içeren kolondan önderiştirme yaptıktan sonra Cd, Zn ve Ni iyonlarını FAAS ile ölçümlerini yapmışlardır. Optimum pH, biyosorbent miktarı ve akış hızını elementler için belirlemişlerdir. Cd, Zn ve Ni iyonlarının geri kazanım verimlerini sırasıyla % 77.83±0.30 , % 93.80±0.47 ve % 98.73±0.54 olarak tespit etmişlerdir. Biyosorpsiyon kapasitesini Cd, Zn ve Ni iyonları için sırası ile 5.48 mg/g, 4.97 mg/g ve 2.49 mg/g şeklide bulmuşlardır.

Çamuroğlu (2014), yaptığı araştırmada *Mucor pusillus* ile Amberlit XAD-4'ün immobilize ederek üzerinden Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının katı faz eksraksiyon yöntemi ile zenginleştirilme koşullarını incelemiştir. Metallerin analizlerini atomik absorpsiyon spektroskopisi ile yapmıştır. Araştırdığı metal iyonlarının geri kazanma verimine etkisi için örnek çözelti hacmi, elüentin derişimi ve türü, pH ve çözelti akış hızı gibi parametreleri inceleyerek bunlar için optimum koşulları belirlemiştir. Gözlemlenen optimum şartlarda Cd(II), Cu(II) ve Pb(II) iyonlarının geri kazanma verimi %95 güven seviyesinde sırasıyla; %99 ± 3, %97 ± 2 ve %96 ± 2 olarak belirlemiştir. Standart referans madde uygulayarak yöntemin doğruluğunu tespit

etmiştir. Gerçek numune olarak domates yaprağı örneği, Kızılırmak suyu ve çeşme suyu kullanmıştır.

Soylak ve Topalak (2014), çalışmalarında katı faz ekstraksiyon işlemini kadmiyum (Cd) ve kurşun (Pb) iyonları için tartazin ile emdirilmiş karbon nanotüpler kullanarak yapmışlardır. pH, akış hızı, elüent ve örnek hacmin etkisini araştırmışlardır. Bazı geçiş metalleri ve alkali ortamdan dolayı tutunmada engelleme etkisi gözlemlenmemiştir. Cd(II) ve Pb(II) iyonlarının tayin sınırları sırasıyla 0.8 ve 6.6 mg L^{-1} olarak tespit etmişlerdir. Önderiştirme faktörünü 40 olarak bulmuşlardır. Çeşitli varyasyon işlemlerini sertifikalı referans maddeleriyle kontrol etmişlerdir. Araştırmalarını, doğal su ve gıda örneklerinde kadmiyum ve kurşunu belirlemek için uygulamışlardır.

Okumuş ve ark. (2015), yaptıkları çalışmada Cu^{+2} ve Ni^{+2} iyonların önderiştirilmesi için katı faz ekstraksiyon metodu geliştirmişlerdir. Biyosorbent olarak immobilize edilen *Bacillus subtilis* ile Amberlit XAD-16 kullanılmıştır. pH, örneğin akış hızı, elüentin türü, hacmi ve konsantrasyonu, örnek hacmi gibi önemli parametreleri araştırmışlardır. Cu^{+2} ve Ni^{+2} iyonları için tayin sınırları sırası ile 0.7 ve 1.1 ng/ml olarak tespit etmişlerdir. Geliştirdikleri metodun doğruluğunu sertifikalı referans madde olan NCS ZC73014 ile belirlemişlerdir.

Varhan Oral ve ark. (2015), çalışmalarında immobilize edilen *Anoxybacillus* sp. SO B1 ile Amberlit XAD-16'yı kolon dolgu maddesi olarak kullanmışlardır. Cu (II) ve Pb (II) iyonların önderiştirilmesini yaparak analizlerini FAAS de yapmışlardır. Örnek çözeltinin hacmi, akış hızı, elüentin türü ve hacmi, biyosorbent miktarı ve pH gibi çeşitli parametreleri incelemişlerdir. Cu (II) ve Pb (II) iyonlarının pH'larını sırası ile 7.0 ve 5.0 olarak tespit etmişlerdir. Geri alma çözeltileri ise Cu (II) için 1 M 5 mL HCI, Pb (II) için 0.25 M 10 mL HNO_3 ile kantitatif geri kazanım elde etmişlerdir. Gözlenebilme sınırlarını Cu (II) ve Pb (II) iyonları için sırası ile 0.8 ve 1.6 μg L^{-1} olarak bulmuşlardır. Çalışmalarının doğruluğunu sertifikalı referans madde olan NCS-DC 73350 kavak yaprakları ile yapmışlardır.

3. MATERYAL V E METOT

3.1. Biyolojik Materyal

Bu çalışmada Ergani Makam Dağından alınan toprak örneklerinden izole edilen *Anoxybacillus caldiproteolyticus* bakterisi ile DSMZ (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH)'den alınan *Geobacillus stearothermophilus* suşu kullanıldı.

3.2. Kullanılan Besi Yerleri

Nutrient Broth(NB) ve Nutrient Agar (NA) Merck'ten temin edildi.

3.2.1. Katı besi yeri

20 gr Nutrient agar distile su ile 1 litreye tamamlanıp otoklavlandı.

3.2.2. Sıvı besi yeri

8 g NB (Nutrient broth) distile ve çeşme suları ile ayrı ayrı 1 litreye tamamlanıp otoklavlandı.

30 g CASO (Casein-pepton Soymeal-peptone) distile ve çeşme suları ile ayrı ayrı 1 litreye tamamlanıp otoklavlandı.

25 g LB (Luria Bertani Broth) distile ve çeşme suları ile ayrı ayrı 1 litreye tamamlanıp otoklavlandı.

52.2 g MRS (de Man, Rogosa ve Sharpe) distile ve çeşme suları ile ayrı ayrı 1 litreye tamamlanıp otoklavlandı.

3.3. Kimyasal Maddeler

$CdCI_2$ Sigma'dan, HCI ve HNO_3 Merck'ten, Amberlit XAD-16 Sigma Aldrich'ten, Tris-HCl Sigma'dan temin edildi.

3.4. Kullanılan Aletler

Steril Kabin	(Telstar AV-100)
Spektrofotometre	(UV mini 1240 SHIMADZU)
Çalkalayıcı	(P SELECTA UNITRONIC OR)

Soğutmalı Santrifüj	(Sigma 2K-15)
Vorteks	(VWR INTERNATIONAL)
Magnetik Karıştırıcı	(Stuart)
Etüv	(Thermo)
Dijital Göstergeli Hassas Terazi	(GEC, AVERY)
Otoklav	(HICLAVE HV)
Su Banyosu	(Grant 6G)
pH metre	(METLER TOLEDO MP220)
Sterilizatör	(Heraus)
Deep-Freeze	(Haris)
Mikropipet	(Eppendorf)
Peristatik Pompa	(Watson Marlow Sci 323)
FTIR Spektrometersi	(Mattson 1000)

Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi (200 series AA)

3.5. Çözeltilerin Hazırlanması

3.5.1. Kadmiyum Stok Çözeltisi, 1000 mg/L

Çalışma da kullanılan kadmiyum çözeltisi, hazır alınan 1000 mg/L stok çözeltisinden gerekli seyretmeler yapılarak hazırlandı.

3.5.2. Kadmiyum Standart Çözeltileri

Stok çözeltiden gerekli seyreltmeler yapılarak ara stoklar hazırlandı. Ara stok çözeltisinden de uygun konsantrasyonlarda standart çözeltileri hazırlandı.

3.5.3. Hidroklorik Asit Çözeltisi (4 M)

Yoğunluğu 1.19 g/mL olan % 37'lik hidroklorik asit çözeltisinden 82.815 mL alınarak saf su ile toplam hacim 250 mL'ye tamamlandı.

3.5.4. Hidroklorik Asit Çözeltisi (2M)

Yoğunluğu 1.19 g/mL olan % 37'lik hidroklorik asit çözeltisinden 41.5 mL alınarak saf su ile toplam hacim 250 mL'ye tamamlandı.

3.5.5. Hidroklorik Asit Çözeltileri (0.25, 0.5, 1 M)

Daha önce hazırlanmış olan hidroklorik asit çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 0.25, 0.5 ve 1 M hidroklorik asit çözeltileri hazırlandı.

3.5.6. Nitrik Asit Çözeltisi, 2M

Yoğunluğu 1.40 g/mL olan % 65'lik nitrik asit çözeltisinden 34.8 mL alınarak saf su ile toplam hacim 250 mL'ye tamamlandı.

3.5.7. Nitrik Asit Çözeltileri (0.25, 0.5, 1 M)

Hazırlanmış olan nitrik asit çözeltilerinden gerekli seyreltmeler yapılarak 0.25, 0.5 ve 1 M nitrik asit çözeltileri hazırlandı**.**

3.5.8. Sodyum Hidroksit Çözeltisi, 1M

10 g sodyum hidroksit ile yeterli miktarda saf suda çözülerek hacmi 250 mL'ye tamamlandı.

3.5.9. Sodyum Hidroksit Çözeltisi (0.25, 0.5 M)

Daha önceden hazırlanmış olan 1M sodyum hidroksit çözeltisinden gerekli seyreltmeler yapılarak 0.25 ve 0.5 M sodyum hidroksit çözeltileri hazırlandı.

3.6. Kapların Temizliği

Eser metallerin tayininde kimyasal kirlenme ve analit kayıpları analit derişimini değiştiren önemli faktörlerdendir. Laboratuvar çevresindeki tozlar, reaktiflerin saflığı ve örneklerin temasta olduğu laboratuvar malzemeleri potansiyel kirletici kaynaklardır. Sıvı örnekler hazırlanırken, katıların çözülmesi için kullanılan reaktiflerden ve kap çeperlerinden kirlilik gelebilir ve dolayısıyla eser metal ölçümlerinde pozitif hatalar olabilir. Bu yüzden kullanılan laboratuar malzemeleri kullanılmadan önce temizlendi ve kurutuldu. Çalışmalarda kullanılan cam malzemeler sırasıyla deterjan, çeşme suyu, 1:1 HNO_3, çeşme suyu, 1:1 HCl, çeşme suyu ve son olarak de iyonize su ile iyice yıkandı.

3.7. Bakteri örneklerinin alınması ve izolasyonu

Araştırmada steril olarak alınan toprak örneklerinden bakteri izolasyonu gerçekleştirildi. Kullanılan toprak örnekleri steril şartlar altında 1 gr olmak üzere 9 ml steril suya ilave edilerek iyice karıştırıldı. 10^{-1}-10^{-7} şeklinde seri dilüsyonlar

gerçekleştirilip tek koloni elde etmek amacıyla seri sulandırma yapılan örneklerden Nutrient agar besi yerine yayma ekim yapıldı. 37°C'de 1 gece inkübasyona bırakıldıktan sonra besi yerinde tek tek düşmüş farklı morfolojik görünüme sahip koloniler seçilerek bu koloniler Nutrient agar besi yerine çizgi şeklinde ekim yapılarak saf koloniler elde edildi.

3.8. İzole edilen suşun saklanması

İzole edilen suş, 121°C'de 15 dakika steril edilmiş Nutrient Agar içeren petrilerde +4°C'de muhafaza edildi.

3.9. Bakterinin tanımlanması

Bu amaca uygun olarak bakterinin öncelikle biyokimyasal testleri daha sonra ise detaylı tanımlama için REFGEN'e gönderilerek tanımlanması yapıldı.

3.10. *Geobacillus stearothermophilus*'un Üretimi

NB sıvı besi yerine, katı besi yerinden steril plastik öze yardımıyla ekim yapıldı. Çalkalamalı su banyosunda 55ºC'de 120 rpm, 24 saat inkübe edildi.

3.11. *Anoxybacillus caldiproteolyticus*'un Üretim Ortamının Optimizasyonu

3.11.1. İnkübasyon Süresinin Bakteri Gelişimi Üzerine Etkisi

İnkübasyon süresinin mikroorganizma gelişimi üzerine etkisi için, NB besi yeri çeşme suyu ile hazırlanıp pH 7.0'a ayarlandı ve daha sonra 55ºC de 120 rpm'de inkübasyona bırakılarak 4–72 saatleri arasında her 4 saatte bir örnek alınıp bakteri üretimi bakılarak 460 nm UV spektrofotometresinde absorbans ölçümleri yapıldı.

3.11.2. Sıcaklığın Mikroorganizma Gelişimi Üzerine Etkisi

100 ml'lik erlenlerde 25 ml NB sıvı besi yerlerine (pH 7.0) 1 ml ayrı ayrı bakteri ekimi yapıldı 25-30-35-40-45-50-55-60-65-70-75-ºC de bakteri için optimum üreme zamanında, 120 rpm'de çalkalamalı su banyosunda bekletildi ve UVspektrofotometresinde 460 nm de absorbans ölçümleri yapıldı.

3.11.3. Mikroorganizma Gelişimi Üzerine pH'nın Etkisi

100 ml'lik erlenlerde 25 ml NB sıvı besi yerleri pH 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0 ve 11.0 olacak şekilde ayarlanarak otoklavlandı ve 1'er ml şeklinde bakteri ekimi yapıldı. Daha önce belirlenen optimum üreme zamanı ve sıcaklıkta 120 rpm de çalkalamalı su banyosunda bakteri inkübasyona bırakıldı ve 460 nm de spektrofotometrede absorbans ölçümleri yapıldı.

3.11.4. Bakteri için Uygun Besiyerinin Belirlenmesi

Besi yerlerinin bakteri üretimine etkisini belirlemek amacıyla katı besi yerinde üretilen bakteri suşu, farklı sıvı besi yerlerine (MRS, MRSç, NB, NBç, LB, LBç, CASO ve CASOç) aktarıldı ve inkübasyona bırakıldı. Bakterinin absorbansı 460 nm de spektrofotometrede ölçülerek maksimum bakteri üreme miktarı belirlendi.

3.12. Bakteri Hücrelerinin Kurutulması ve Biyosorpsiyon için Hazırlanması

Uygun besi yerinde ve belli bir inkübasyon süresinde üretilen bakteri hücreleri daha sonra 7,000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. Üst sıvı uzaklaştırıldıktan sonra pelet % 0,9 luk NaCl çözeltisi (121 °C'de 15 dakika otoklavlanmış) ile yıkanıp tekrar santrifüj yapıldı. Bu işlem iki kez tekrar edildi. Pelet 70 °C'de bir gece bekletilip kuruması sağlandıktan sonra havanda toz haline getirildi. Toz haline getirilmiş bakteri hücreleri 121 °C'de 20 dakika otoklava atıldı. Bu işlemden sonra toz haline getirilmiş bakteri hücreleri (bakteri hücrelerinin çoğalıp çoğalmadığını tayin etmek amacıyla) sıvı besi yerlerine ekim yapılıp üremenin olmadığı (bakterilerin tamamen öldüğü) durum pozitif sonuç olarak kabul edildi. Bu işlem her iki bakteri için ayrı ayrı uygulandı.

3.13. Kurutulmuş Bakterilerin Amberlit XAD-16 Üzerine Tutuklanması (İmmobilize Edilmesi)

Ticari olarak kullanılabilir Amberlit XAD-16 reçinesi belirli miktarda alınarak havanda iyice dövülüp toz haline getirildi. Toz haline gelen reçine üzerine 4M HCl ilave edilip 24 saat karıştırmaya bırakıldı. Daha sonra reçine süzülüp kurutuldu ve 1:1 etanol-su karışımı ile yıkandı. Bu yıkama işleminin amacı ortamdan istenmeyen organik ve inorganik bileşenlerin uzaklaştırılmasıdır.

Bu işlemlerden sonra *Anoxybacillus caldiproteolyticus* ve *Geobacillus stearothermophilus* bakterilerinden ayrı ayrı 250 mg kurutulup toz haline getirilen bakteriler ile 1 g Amberlit XAD-16 karıştırıldı. Karışıma 5 ml saf su eklendi ve magnetik karıştırıcıda karışım homojen bir pasta haline gelinceye kadar karıştırma işlemi yapıldı. Daha sonra karışım 105 °C'de 1 saat etüvde kuruması için bekletildi. Bu karışım ve ısıtma işlemi, termofilik bakteriler ve Amberlit XAD-16 arasındaki etkileşimin maksimum olması için üç kez tekrar edildi.

3.14. Biyosorpsiyon Çalışmaları için Kolonun Hazırlanması

Araştırmamızda her bakteri örneği için ayrı kolonlar hazırlandı. 0.25 mg kurutulmuş bakteri hücrelerine immobilize edilmiş Amberlit XAD-16 üzerine 3 ml saf su eklenerek bir karıştırıcıda homojen bir hale gelinceye kadar karıştırıldı. Kolonlar, kullanılmadan önce sırasıyla 1 M HCI ve saf su ile iyice yıkama işlemine tabi tutuldu. Daha sonra karışım 1,0 cm X 10.0 cm boyutundaki polietilen kolonlara yavaş yavaş ilave edilerek kolonumuz çalışılmaya hazır hale getirildi. Hazırlanan kolonlar, her bir optimizasyon çalışmasından sonra bol miktarda saf su ile yıkandı.

3.15. Katı Faz Ekstraksiyonu ile Zenginleştirme Yöntemi

Bu araştırmada Cd (II) iyonunun tayini ve katı faz ekstraksiyonunu esas alan bir ayırma ve zenginleştirme yöntemi geliştirildi. Kolon dolgu maddesi (biyosorbent) olarak *Anoxybacillus caldiproteolyticus* ve *Geobacillus stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi kullanıldı. Bu kolonda tutunan Cd iyonları *Anoxybacillus caldiproteolyticus* 1 M 10 mL HCl ile *Geobacillus stearothermophilus* için ise 0.5 M 2 mL ile elüe edilerek daha küçük bir hacimde zenginleştirildi. Elüasyon çözeltisindeki Cd iyonları alevli atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile tayin edildi. Geri Kazanım aşağıdaki formülle tespit edildi.

$$\%\ \text{Geri Kazanma verimi (\%R)} = \frac{\text{AAS ile bulunan element derişimi (mg/L)}}{\text{Teorik olarak bulunması gereken derişim (mg/L)}} \times 100$$

3.16. Optimizasyon Çalışmaları

3.16.1. pH'nın Bakterilerin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Bu çalışmada Cd (II) iyonunun kolona tutunma verimine pH'nın etkisi araştırıldı. Bunun için 0.25 M ve 0.5 M'lık HCl ve 0.25 ve 0.5 M'lık NaOH çözeltileri yardımıyla, içerisinde 0.5 mg/L Cd iyonlarını bulunduran 50 mL'lik örnek çözeltiler pH 2.0-7.0 aralığında ayarlanarak kolondan 2 mL/dk akış hızıyla geçirildi. Kolonda tutunan Cd iyonları *Anoxybacillus caldiproteolyticus* için 1 M 10 mL HCl ile *Geobacillus stearothermophilus* için 0.5 M 2 mL HNO_3 ile elüe edilip FAAS ile tayin edildi ve geri kazanım değerleri hesaplandı.

3.16.2. Örnek Akış Hızının Metal Biyosorpsiyonuna Etkisi

Metal çözeltilerinin biyosorbent üzerinde tutulmaları örnek çözeltinin akış hızına bağlı olarak değişir. Çözelti içerisindeki Cd (II) iyonları *Anoxybacillus caldiproteolyticus* ve *Geobacillus stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 üzerinden geçerken biyosorbent üzerinde ve biyosorbent tanecikleri arasındaki boşluklarda tutunur.

Bu amaçla içerisinde 25 µg Cd (II) iyonu bulunan 50 mL'lik örnek çözeltiler pH'ya ayarlandı ve akış hızı 0.5-5.0 mL/dk aralığında olacak şekilde peristatik pompa yardımıyla kolondan geçirildi. Tutunan Cd (II) iyonları 1 M 10 mL HCl ve 0.5 M 2 mL HNO_3 ile elüe edilip FAAS ile tayin edildi ve geri kazanım değerleri hesaplandı.

3.16.3. Elüent Derişimi, Türü ve Hacminin Etkisi

Cd (II) iyonunun geri kazanma verimine; elüent derişimi, cinsi ve hacminin etkisinin araştırılması için içerisinde 25 µg Cd (II) bulunduran 50 mL'lik örnek çözeltiler pH 6.0'de 2 mL/dk akış hızı ile kolondan geçirildi. Tutunan metal iyonları, ayrı ayrı 0.25, 0.5, 1 ve 2 M HCl ve HNO_3 çözeltilerinin farklı hacimlerde kullanılarak elüe edildi ve bunların, geri kazanma verimine etkileri araştırıldı.

3.16.4. Biyosorpsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Anoxybacillus caldiproteolyticus ve *Geobacillus stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 ile hazırlanan kolonun kapasitesini belirlemek amacıyla içerisinde farklı miktarlarda (25, 125, 250, 500 µg) Cd (II) iyonu bulunan 50

mL'lik çözeltiler kolondan geçirildi. Ölçümler FAAS ile tayin edildi. Her bir biyosorbent için geri almalar *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 için 1 M 10 mL HCl, *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 için 0.5 M 2 mL HNO_3 ile elüe edildi.

3.16.5. Örnek Çözelti Hacminin Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Nehir suyu, Göl suyu ve İçme suyu gibi gerçek numuneler eser düzeyde metal iyonları içerirler. Bu eser düzeyde bulunan metal iyonların tayin edilebileceği örnek çözeltinin hacminin bilinmesi önemlidir. Yüksek zenginleştirme faktörüne ulaşabilmek için içerisinde 25 µg Cd (II) iyonu bulunan 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mL hacmindeki çözeltiler daha önce belirlenen optimum koşullarda kolonlardan geçirildi. Geri almak için *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilen Amberlit XAD-16 için 1 M 10 mL HCl, *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 için 0.5 M 2 mL HNO_3 ile elüe edildi.

3.16.6. Yeniden Kullanılabilirliği

Yapılan araştırmamızda biyosorbentin tekrar kullanılabilirliği oldukça önemli bir faktördür. Bu amaçla 25 µg içeren Cd (II) 50 mL'lik model çözeltiler hazırlanarak optimum şartlara göre ayarlanıp kolonlardan geçirildi. Elüasyonları yapılan çözeltilerin FAAS ile tayinleri gerçekleştirildi.

3.16.7. Yabancı İyon Etkisi

Gerçek örneklerle çalışıldığında araştırdığımız eser elementlerin dışında başka iyonlar da bulunabilir. İncelenen bu iyonlar eser element için önerilen zenginleştirme işleminde bozucu etkilerinden dolayı geri kazanma verimini değiştirebilir. Bu nedenle geliştirdiğimiz yönteminin bu iyonların varlığında da uygulanıp uygulanmaması araştırıldı.

Bu amaçla doğal su örneklerinin temel bileşenlerinden olan bazı anyon (Cl^-, SO_4^{-2}) ve bazı katyonların (Na^+, K^+, Mg^{++} ve Ca^{++}) Cd (II) elementinin geri kazanım değerlerine olan etkisi araştırıldı. Bu araştırma da içerisinde 25 µg Cd (II) iyonu bulunduran çözeltilere ayrı ayrı farklı konsantrasyonlardan Mg^{++}, Na^+, K^+, Cl^-, SO_4^{-2} ve

Ca^{++} eklenip hacimleri 50 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltiler belirlenen optimum koşullarda kolondan geçirildi. Elüe edilen Cd iyonları FAAS ile tayin edildi

3.16.8. Yöntemin Kesinliği

Geliştirilen yöntemin kesinliği, 25 μg Cd(II) iyonlarını içeren 50 mL' lik örnek çözeltilerde araştırıldı. Bu çözeltiler optimum koşullarda kolondan geçirildi. Biyosorbent üzerinde tutunan Cd(II) iyonları, *Anoxybacillus caldiproteolyticus* ile modifiye edilen Amberlit XAD-16 için 1 M 10 mL HCl, *Geobacillus stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 için 0.5 M 2 mL HNO_3 ile elüe edilerek FAAS ile tayin edildi.

3.16.9. Standart Referans Madde Analizi

Araştırmamızda kullandığımız kolon dolgu maddesi ile geliştirdiğimiz zenginleştirme metodunun doğruluğunu anlamak için yöntemimiz standart referans maddeye uygulandı. Bunun için 1:100 oranında alınan standart referans maddesinin (SCP SCIENCE EnviroMAT Waste Water, Low (EU-L-2)) pH ayarlanması yapıldı. pH'sı 6.0 ayarlanan çözelti kolondan geçirilerek belirlenen elüsyon çözeltileri ile geri alındı ve analizler FAAS ile analiz yapıldı.

3.17. Araştırılan Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması

Geliştirdiğimiz zenginleştirme yöntemini Dicle Nehrinden, Hazar Gölünden alınan su örnekleri ve Diyarbakır ilinden alınan içme suyu gibi gerçek numunelere uygulandı. Bu amaçla aldığımız su örnekleri bölüm 3.6'da açıklandığı gibi temizlenen polietilen kaplara bırakıldı. Laboratuara getirilen Dicle Nehri, Hazar Gölü ve Diyarbakır ilinden alınan içme suyu örnekleri HDA LAB & MED markalı süzgeç kâğıdı ile süzülerek atıklardan arındırıldı. 500 mL'lik alınan su örnekleri + 4 ^{0}C soğutucuda 1 gün bekletildi. Alınan su örnekleri pH'ları 6.0'ye ayarlanarak belirlenen akış hızlarında kolondan geçirildi. Kolonda tutunan Cd iyonları *Anoxybacillus caldiproteolyticus* ile modifiye edilen Amberlit XAD-16 için 1 M 10 mL HCl, *Geobacillus stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 için 0.5 M 2 mL HNO_3 ile elüe edilerek FAAS ile tayin edildi.

3.18. Gözlenebilme ve Tayin Sınırları

İçerisinde CD (II) iyonu bulunmayan 50 mL' lik şahit çözeltiler, daha önce belirlenen pH 6'ya ayarlandıktan sonra yine belirlenen 2 mL/dk akış hızlarıyla içerisinde 0,25 g biyosorbent içeren kolonlardan geçirildi. *Anoxybacillus caldiproteolyticus* ile modifiye edilen Amberlit XAD-16 için 1 M 10 mL HCl, *Geobacillus stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 için 0.5 M 2 mL HNO_3 ile elüe edilerek FAAS ile tayin edildi. Kadmiyum, için gözlenebilme ve tayin sınırları, % 99,7'lik güvenle, bu çözeltilerden elde edilen absorbans değerlerinin standart sapmasının üç katına karşılık gelen derişim olarak gözlenebilme sınırı, on katına gelen karşılık gelen derişim olarak hesaplanmıştır.

4. ARAŞTIRMA BULGULARI

4.1. Bakterileri örneklerinin alınması, izolasyonu ve tanımlanması

Ergani Makam dağından alınan toprak örneği bir seri seyreltme işlemlerine tabi tutularak katı besi yerlerine ekimleri yapıldı. Yapılan ekim sonucunda tek tek düşen kolonilerden düzgün koloniye sahip bakteri alınarak tekrar katı besi yerine ekimi yapıldı. Üreyen bakterinin, tanımlamaya yönelik 16S rRNA analizi için Ref-Gen (METU Technocity/Ankara) gönderildi. Yapılan araştırma sonucunda deneylerde kullanılan bakterinin *Anoxybacillus caldiproteolyticus* olduğu belirlendi. *Anoxybacillus caldiproteolyticus* 841 baz çiftine sahip olduğu tespit edildi. (Şekil 4.1)

AACCTGGGCGGCGTGCTATAATGCAGTCGAGCGGACCAAGAGAGCTTG
CTCTCTTGAGGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGTGGGCACCTGC
CCGTAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGGCTAATACCGGATAAC
ACAAGGAACCGCATGGTTCCTTGTTGAAAGGCGGCTTTGGCTGTCACTT
ACGGATGGGCCCGCGGCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCAC
CAAGGCGACGATGCGTAGCCGACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGG
GACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCT
TCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGCGAAGAA
GGTCTTCGGATCGTAAAGCTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTACCGTTC
GAATAGGGCGGTACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAAC
TACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGA
ATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGCAGGCGGTCCCCTTAAGTCTGATGTG
AAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGGGGACTTG
AGTGCAGGAGAGGGGAGCGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTA
GAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGCCTGTAAC
TGACGCTGAGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATACCCT
GGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGAGGGATTCCA
CCCTTTAGTGCTGCAGCTACGCATTAGCACTC

Şekil 4.1. *Anoxybacillus caldiproteolyticus*'un 16S rRNA analizi

4.2. *A. caldiproteolyticus*'un Morfolojik ve Biyokimyasal Testlerin Belirlenmesi

Tanımlanan bakterinin morfolojik ve biyokimyasal testleri belirlendi. *A. caldiproteolyticus*'un Gram (+) ve disk şeklinde olduğu belirlendi. Bakterinin gerekli diğer özellikler Çizelge 4.1' de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. *Acaldiproteolyticus*'un Morfolojik, Fizyolojik ve Biyokimyasal Testler

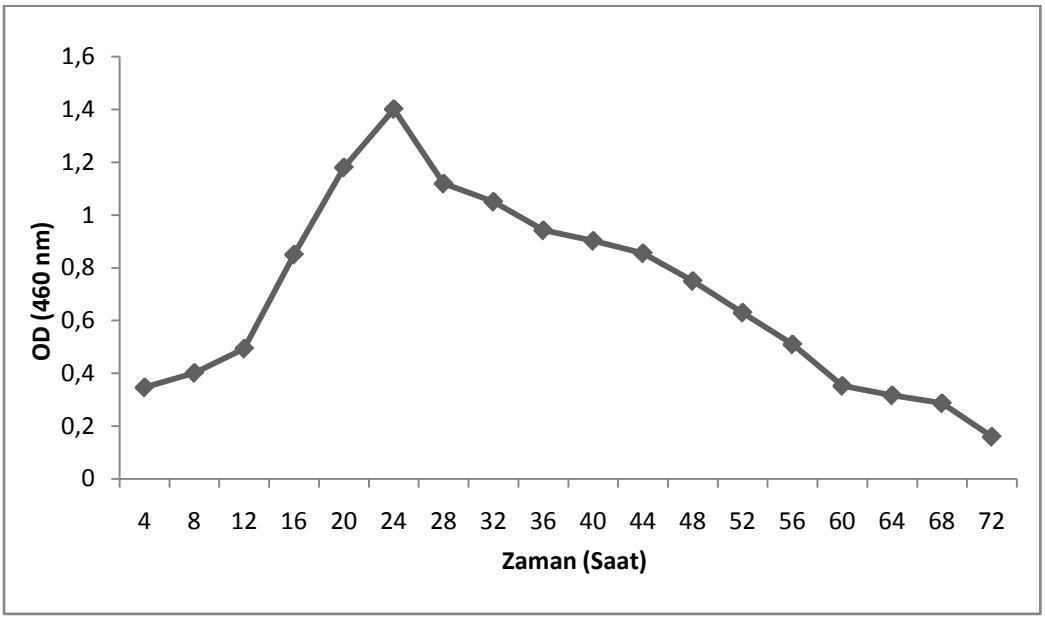
Özellikler	***Mikroorganizma***
Aerobik üreme	+
Gram boyama	+
Spor oluşturma	+
Koloni morfolojisi	Disk, içi dolu, sarımsı,
Sıcaklık aralığı (^{o}C)	35-65
Optimum sıcaklık (^{o}C)	55
pH aralığı	6.0-9.0
Optimum pH	7
Hemoliz	-
Hareketlilik	-
Hidroliz:	
Ksilan	-
Nişasta	-
Aktivite:	
Ksilanaz	-
Ureaz	-
Katalaz	-

+, üreme var; –,üreme yok

4.3. Bakteri Üretimi Üzerine Farklı Parametrelerin Etkisi

4.3.1. İnkübasyon Süresinin Bakteri Gelişimi Üzerine Etkisi

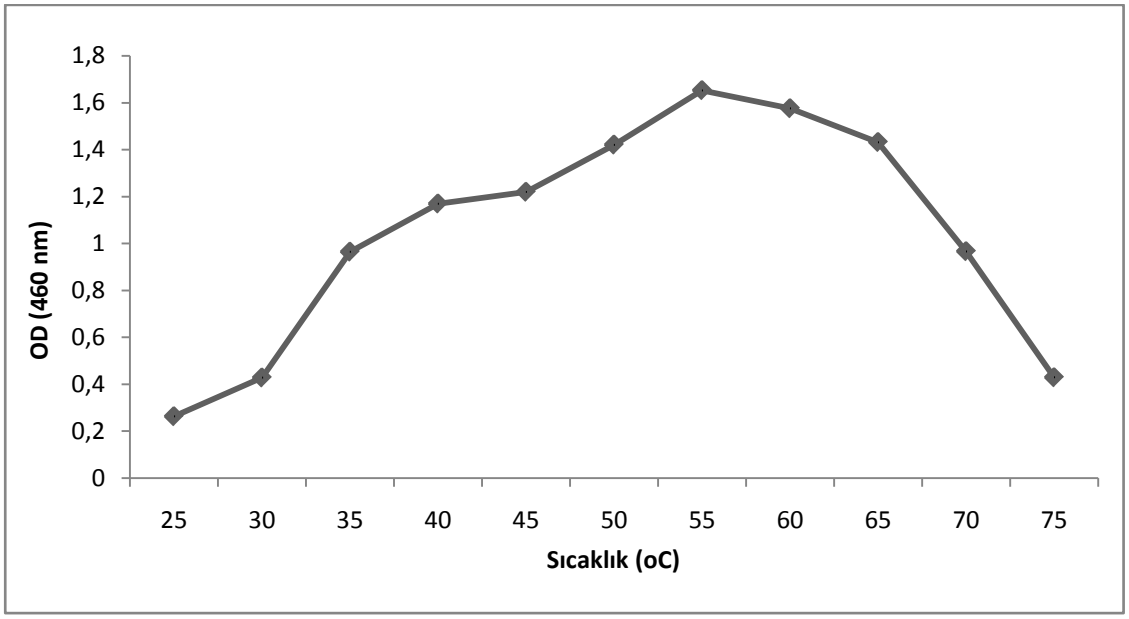
Bakterinin inkübasyon süresinin gelişim üzerine etkisini belirlemek için her 4saatte 4.satten 72. saate kadar örnek alınarak spektrofotometrede ölçümleri alındı. Şekil 4.2 de görüldüğü gibi bakterinin 12. saatten sonra üremesinde artış olduğu 24. saatte ise bakterinin maksimum üreme gösterdiği tespit edildi. 24. saatten sonra bakteri üremesinde giderek azalma olduğu gözlendi.



Şekil 4.2. Bakteri üremesi üzerine inkübasyon süresinin etkisi

4.3.2. Sıcaklığın Mikroorganizma Gelişimi Üzerine Etkisi

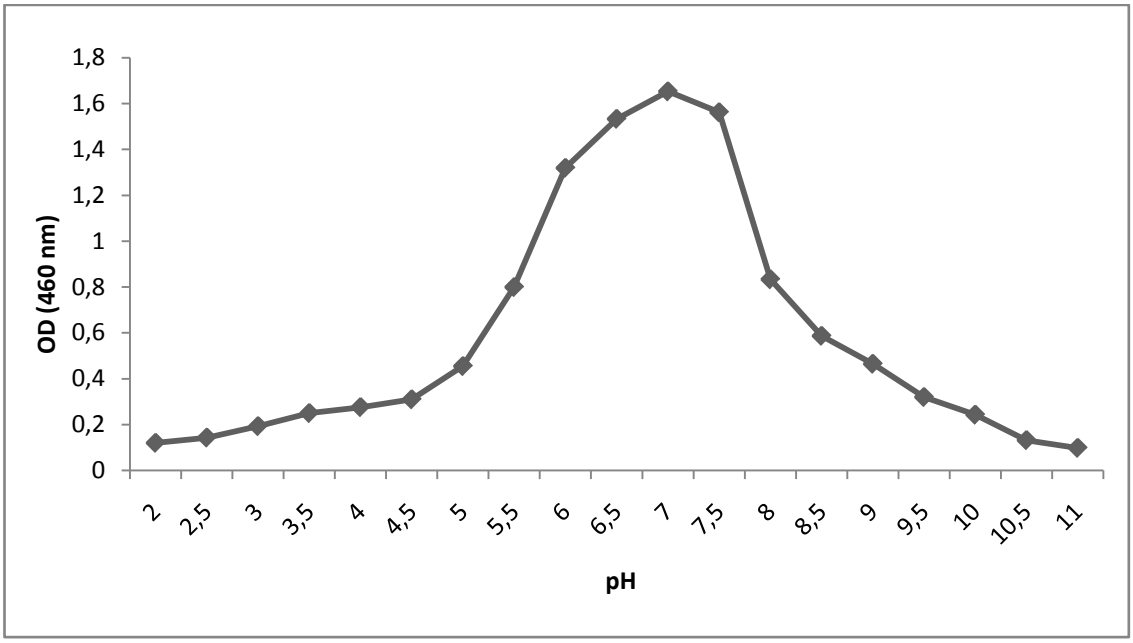
Sıcaklığın bakteri üremesine etkisi belirlemek amacıyla 25-75 ^{o}C sıcaklık aralıklarında bakteri üremesi ölçüldü. Bakteri üremesinde, 30 ^{o}C' den sonra artış gözlenirken, 55-65 ^{o}C aralıkların üremedeki düşüşün yavaş olduğu ancak 65-75 ^{o}C aralıklarında ise bakteri üremesinde hızlı bir düşüş olduğu görüldü. Optimum bakteri üremesinin ise 55 ^{o}C olduğu tespit edildi. (Şekil 4.3)



Şekil 4.3. Bakteri üremesi üzerine sıcaklığın etkisi

4.3.3. Mikroorganizma Gelişimi Üzerine pH'nın Etkisi

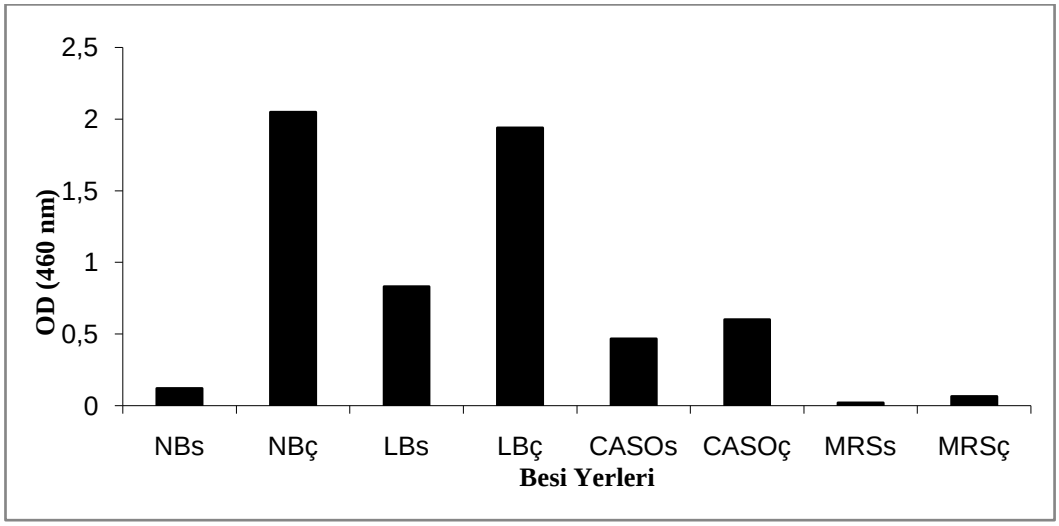
pH'nın bakteri üremesine etkisi araştırıldı. pH 2-11.0 arasında 0,5'lik artışlarla maksimum bakteri üremesinin olduğu pH belirlendi. Bakteri gelişiminin pH 2.5-5.0 aralığında çok az olduğu pH 5.0'dan sonra ise üremede hızlı bir artış olduğu tespit edildi. pH 6.5-7.5 aralığında bakteri gelişimin iyi olduğu ancak pH 7.5-8.0 aralığında yaklaşık % 50'lik hızlı düşüş olduğu görüldü. pH 8.0'den sonra ise bakteri üremesindeki azalma yavaş olarak devam etti. Şekil 4.4 görüldüğü gibi optimum bakterinin ürediği pH değeri 7.0 olarak tespit edildi.



Şekil 4.4. Bakteri üremesi üzerine pH'nın etkisi

4.3.4. Bakteri için Uygun Besiyerinin Belirlenmesi

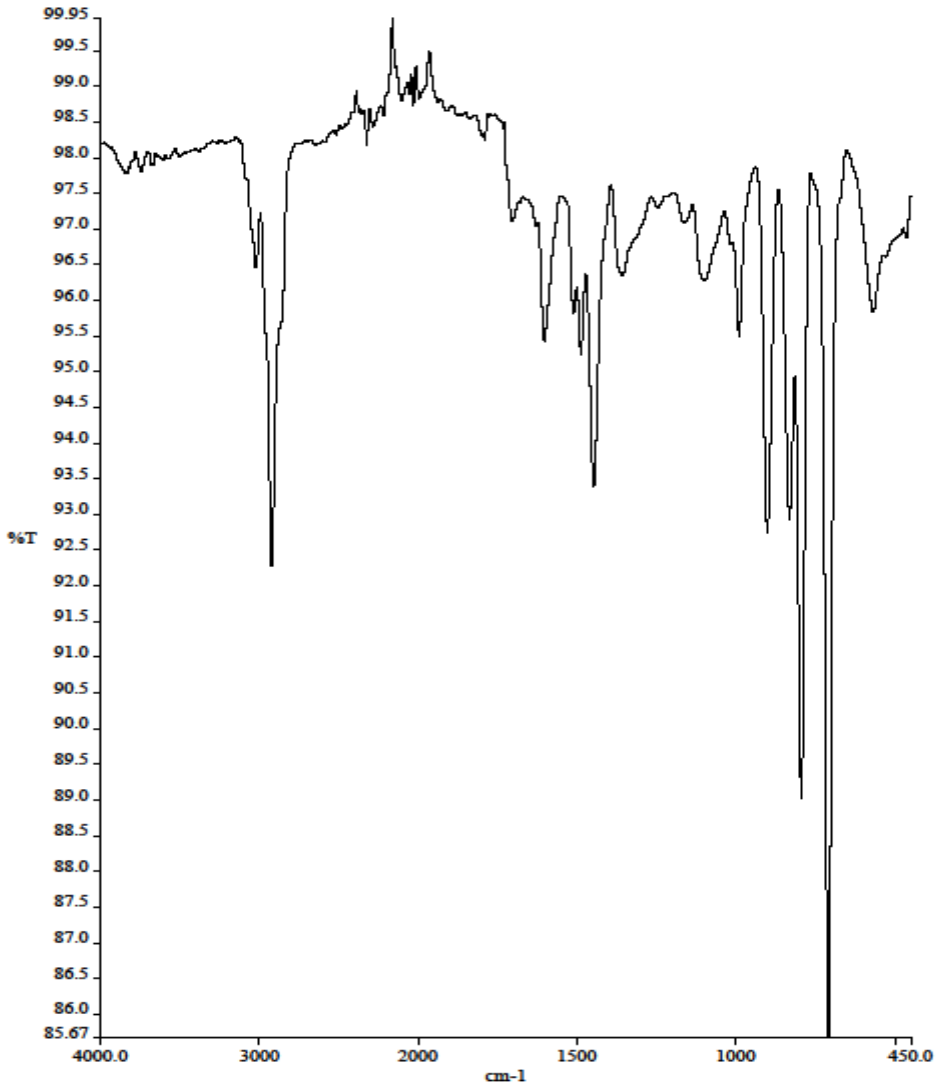
A. caldiproteolyticus'un üremesi için optimum besi yerini belirlemek amacıyla bakteri, farklı besi yerlerinde, optimum şartlarda (24.saat, 55 ^{o}C ve pH 7.0) inkübasyona bırakıldı. Yapılan araştırma sonucunda NBs besi yerinde bakteri gelişiminin NBç besi yerine göre yaklaşık % 5 olduğu belirlendi. NBç ile LBç besi yerlerindeki bakteri gelişiminin yakın olduğu fakat NBç besi yerlerindeki gelişimin diğer besi yerlere göre çok fazla olduğu tespit edildi. Bundan sonraki bakteri üretimi NBç besi yerinde gerçekleştirildi.



Şekil 4.5. Besi yerinin bakteri üremesine etkisi

4.4. *Anoxybacillus caldiproteolyticus'*un IR Spektrumları

Amberlit XAD-16 kopolimerinin FT-IR spektrumları aşağıdaki gibi belirtilmiştir.

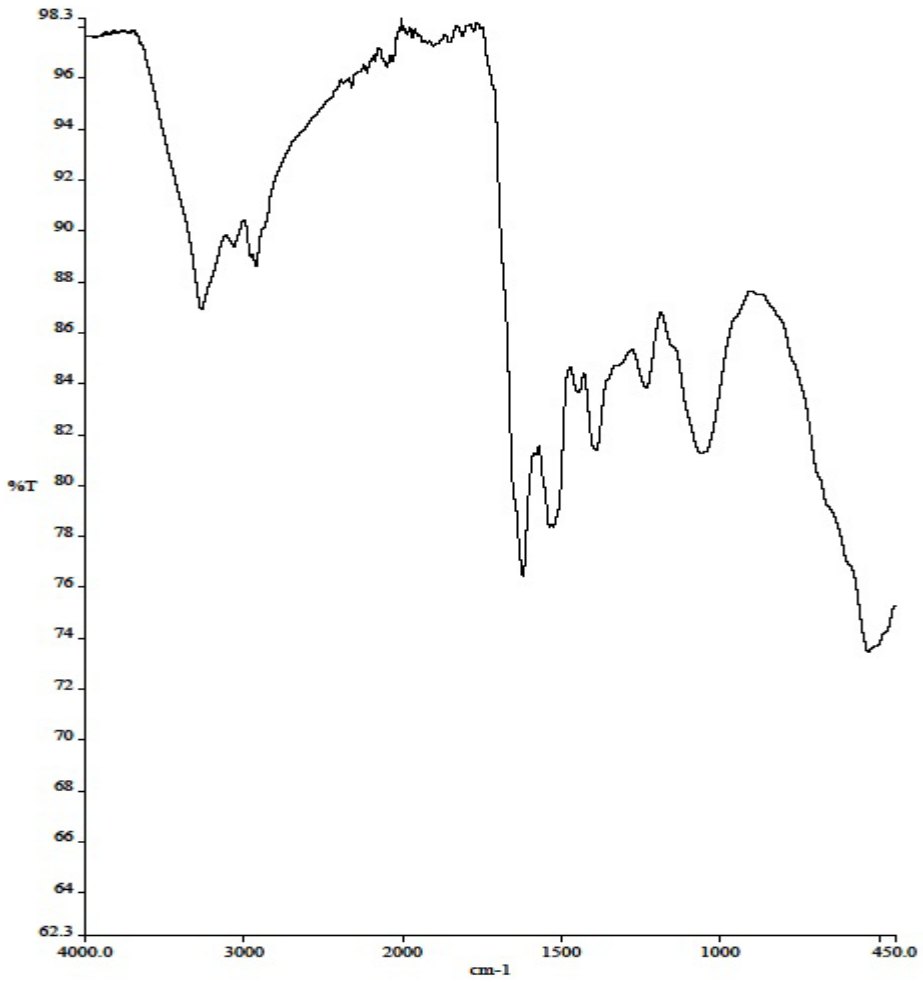


Şekil 4.6. Amberlit XAD-16 FT-IR Spektrumu

IR (KBr, cm^{-1}): $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ gerilme}$: 3056, 3018, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik\ gerilme}$: 2928, $\upsilon(C{=}C)_{aromatik\ gerilme}$: 1452, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik\ düzlem\ içi\ eğilme}$:1375

Elde edilen FT-IR sonuçlarına göre Amberlit XAD-16 reçinesinin genel olarak C-H bağlarına sahip olduğu görüldü.

A. caldiproteolyticus'un FT-IR spektrumları Şekil 4.7'de verilmiştir.

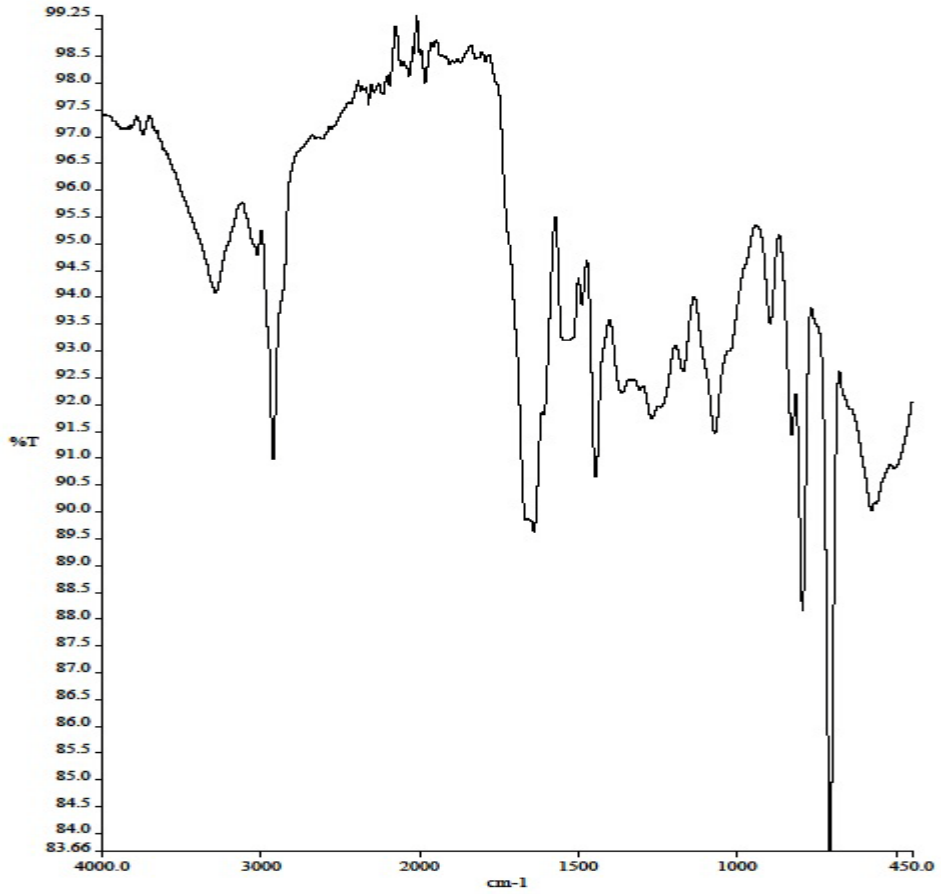


Şekil 4.7. *Anoxybacillus caldiproteolyticus*'un spektrumu

IR (KBr, cm^{-1}): $\upsilon(N\text{-}H)_{gerilmesi}$**:** 3274, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik}$: 3057, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik}$: 2962, 2928, υ(C=O): 1622, υ(N-H): 1537,1523 υ(C=C): 1447, υ(C-N) : 1391, 1232, υ(C-O): 1057

Yapılan araştırmada bakterideki fonksiyonel grup olarak N-H (amid bağı), C=O (karbonil bağı), C-N (amid bağı) ve C-O (eter bağı) bağlarının olduğu tespit edildi.

A. caldiproteolyticus ile Amberlit XAD-16 kopolimeri modifikasyonundan sonra alınan FT-IR spektrumu Şekil 4.8'de verilmiştir.



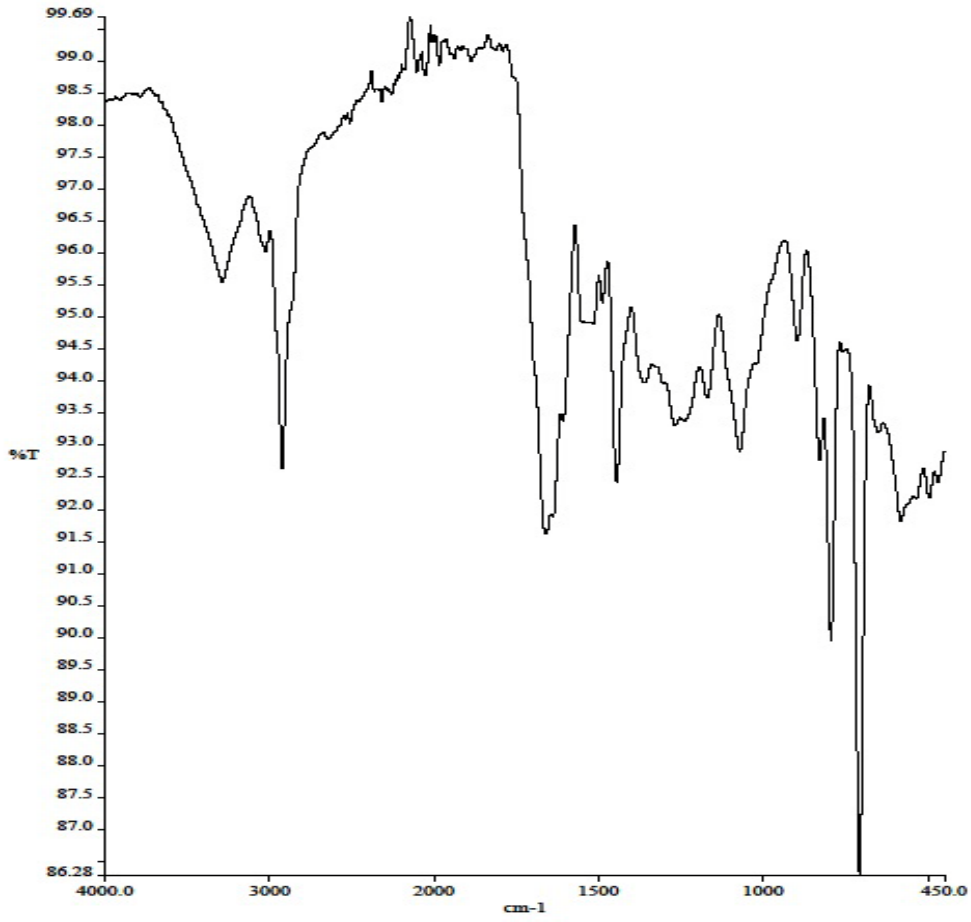
Şekil 4.8. *Anoxybacillus caldiproteolyticus* ile Modifiye Edilmis Amberlit XAD-16 FT-IR Spektrumu

IR (KBr, cm^{-1}): $\upsilon(N\text{-}H)_{gerilmesi}$**:** 3288, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik}$: 3020, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik}$: 2928, $\upsilon(C{=}O)_{aromatik}$: 1671, 1637, $\upsilon(N\text{-}H)_{gerilmesi}$: 1535, $\upsilon(C{=}C)$: 1490, 1446, $\upsilon(C\text{-}N)$: $_{gerilmesi}$: 1364, 1273,1236 $\upsilon(C\text{-}O)$: 1170,1097, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ içi\ eğilme}$: 895, 827, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ dışı\ eğilme}$: 790.

Bakteride bulunan 1622'deki C=O piki 1671 ve 1637'ye kayıp pik yarılmıştır. Bakteride çift omuz şeklinde bulunan1537 ve 1523'teki N-H piki 1535'e kaymış ve birleşmiştir. 1447'de bulunan C=C piki 1496 ve 1446'ya kayıp yarılma gözlenmiştir. Bakteride bulunan C-N 1391 piki 1364'e kaymış ayrıca 1232'deki C-N piki ise 1236 ve 1273 pikine yarılmıştır. 1057'deki yayvan C-O piki 1170 ve 1097 şeklinde iki pike yarılmış ve keskinleşmiştir. Bu sonuçlara göre bakteri ile reçine arasındaki

bağlanmanın, fonksiyonel grup olarak amid, karbonil ve eter bağları üzerinden gerçekleştiğini gösterdi.

Modifikasyon ile hazırlanan kolon dolgu maddesinden Cd (II) iyonu geçirdikten sonra alınan FT-IR spektrumu Şekil 4.9 da verilmiştir.



Şekil 4.9. Modifikasyon ile oluşturalan klon maddesinden metal geçirildikten sonraki FT-IR spektrumları

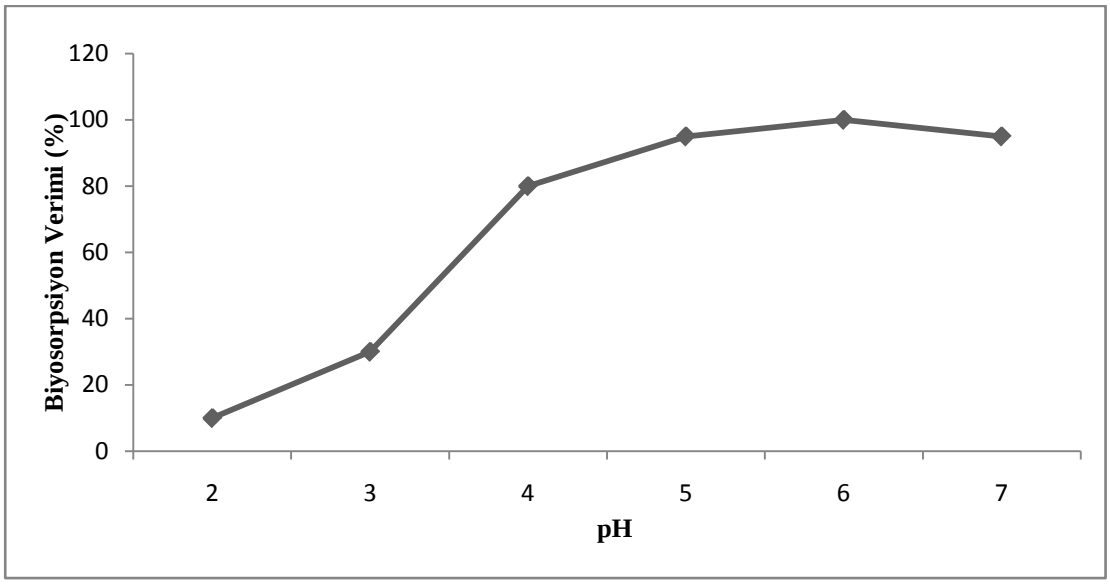
IR (KBr, cm^{-1}): $\upsilon(N\text{-}H)_{gerilmesi}$**:** 3277, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik}$: 3023, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik}$: 2923, $\upsilon(C{=}O)_{aromatik}$: 1662, 1635, $\upsilon(N\text{-}H)_{gerilmesi}$: 1535, $\upsilon(C{=}C)$: 1486, 1444, $\upsilon(C\text{-}N)$: $_{gerilmesi}$: 1363, 1268, 1237, $\upsilon(C\text{-}O)$:1168 1071, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ içi\ eğilme}$: 895, 826, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ dışı\ eğilme}$: 793.

Metal geçirildikten sonra alınan FTIR spektrumuna bakacak olursak 3288'de bulunan N-H $_{gerilmesi}$ piki 3277'ye, 1671 ve 1637'de omuz şeklinde bulunan C=O piki 1662 ve 1635 piklerine yarılıp şeklinde ve şiddetlerinde değişiklik gözlenmiştir. 1273 ve 1236'daki C-N pikleri biyosorpsiyon sonrası 1268 ve 1237'de 2 tane omuz şeklinde

pike yarılmıştır. Bu da metal bağlanmaların C=O ve C-N üzerinden bağlandığını göstermiştir.

4.5. pH'nın *Anoxybacillus caldiproteolyticus*'un Metal Biyosorpsiyonu Üzerine Etkisi

Farklı pH aralıklarında hazırlanan 0.5 mg/L 50 mL'lik Cd çözeltileri kolondan geçirilerek pH'nın etkisi incelendi. Düşük pH'larda tutma kapasitesinin az olduğu ancak artan pH değerlerinde verimin giderek arttığı tespit edildi. Şekil 4.10 incelendiğinde Cd (II) iyonunun nicel olarak pH 5.0-7.0 aralığında biyosorpsiyon kapasitesinin daha yüksek olduğu tespit edildi.. Bu sonuç ışığında zenginleştirme çalışmalarımız da en iyi tutunmanın gerçekleştiği pH değeri 6 olarak belirlendi. Bundan sonraki optimizasyon çalışmalarında çözeltinin pH'sı pH 6.0'a ayarlanarak çalışıldı.

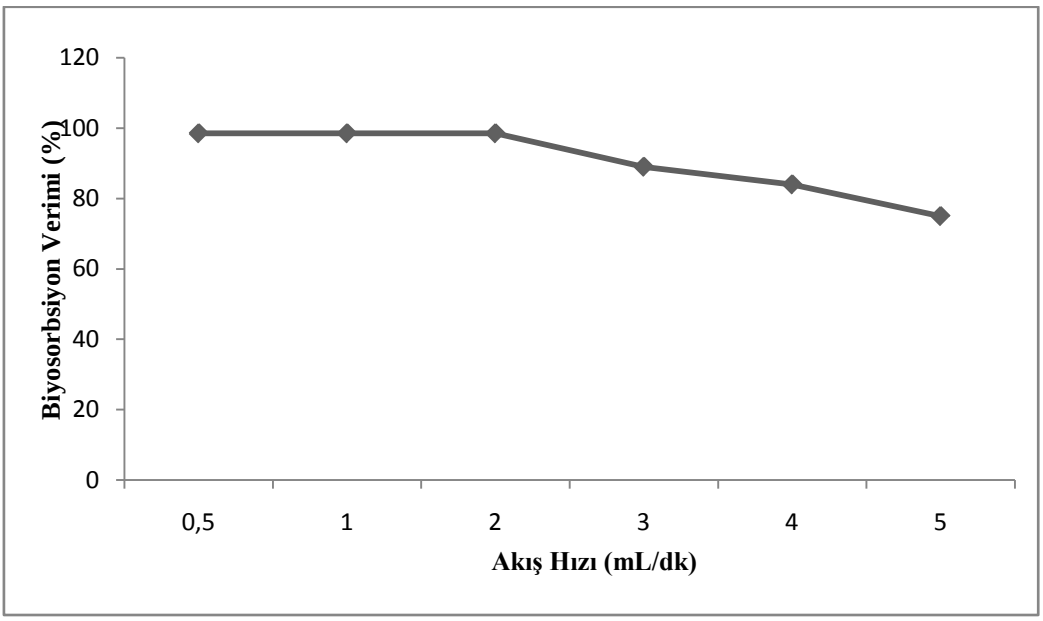


Şekil 4.10. Cd verimine pH'nın etkisi

4.6. Örnek Çözeltinin Akış Hızının Metal Biyosorpsiyonuna Etkisi

Biyosorbent üzerinde metal çözeltilerinin alıkonmaları hızına bağlı olarak değişir. Bu nedenle içerisinde 0.5 mg/L Cd(II) iyonu içeren 50 mL'lik örnek çözelti pH 6 değerine ayarlandıktan sonra peristatik pompa yardımıyla kolondan geçirildi. Örnek çözeltinin akış hızı 0.5-2 mL/dk aralığında olduğu zaman kolonda nicel olarak alıkonmalar sağlandı. 2 ml/dk'dan daha yüksek akış hızlarında ise Cd(II) iyonunun biyosorbent üzerinde dengeli bir şekilde tutunamamasından dolayı geri alma yüzdelerinde düşme gözlemlendi. Akış hızı 3 mL/dk olduğunda verimin % 98.5'ten %

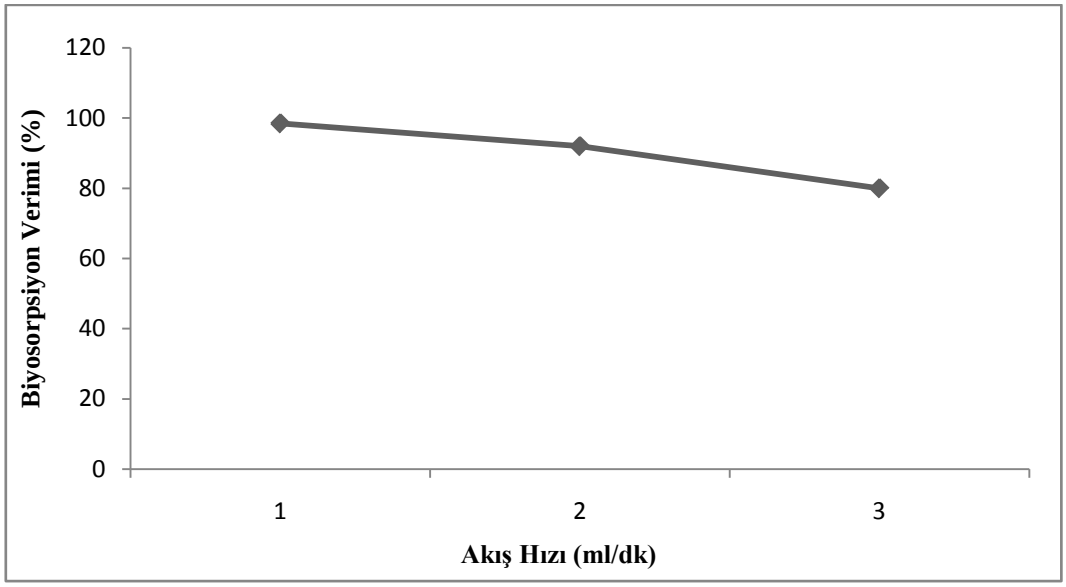
89 olduğu görüldü. Kolondan 5 mL/dk akış hızında çözelti geçirildiğinde geri kazanım verimin % 75'e kadar azaldığı tespit edildi. Bütün bunlar göz önüne alındığında bundan sonraki biyosorpsiyon çalışmalarında uygun akış hızı 2 mL/dk olarak belirlendi.



Şekil 4.11. Örnek çözeltinin akış hızın etkisi

4.7. Elüsyon Çözeltisinin Akış Hızının Etkisi

İçerisinde 0.5 mg/L bulunan Cd(II) çözeltisi 2 mL/dk akış hızı ile geçirildikten sonra elüsyon çözeltileri peristatik pompa yardımıyla 1-3 mL/dk' lık hız aralıklarında kolondan geçirilerek kadmiyum iyonunun geri kazanma verimine elüsyon çözeltisinin akış hızının etkisi incelendi. Akış hızı 1 mL/dk olduğunda geri kazanım veriminin % 98.5 olduğu akış hızlarının 2 mL/dk olduğunda verimin % 92'ye 3 mL/dk olduğunda ise %80'ne düştüğü belirlendi. Yapılan araştırma sonucunda elüsyon akış hızının 1 mL/dk olduğu belirlendi.



Şekil 4.12. Elüsyon çözeltisinin akış hızın etkisi

4.8. Elüent Derişimi, Türü ve Hacminin Etkisi

Biyosorbent üzerinde alıkonan metal iyonunun geri kazanılmasını sağlamak için çalışılan diğer önemli faktörler elüentin türü, derişimi ve hacmidir. Biyosorbentin uzun süreli kullanımını sağlamak için elüsyon çözeltisi olarak seçilen asitin konsantrasyonu ve hacminin mümkün olduğu kadar düşük olması gerekmektedir. Çeşitli elüentlerin Cd(II) iyonunun geri kazanımı üzerine etkisi Çizelge 4.2 ve 4.3'te verildi. Biyosorbent üzerinde tutunan Cd(II) iyonunun geri kazanımına elüentin türü, derişimi ve hacminin etkisini incelemek için farklı konsantrasyon(0.25, 0.5, 1.0 ve 2.0 M) ve farklı hacimlerdeki (2,4,6 ve 10 mL) HCl ve HNO_3 çözeltileri ile çalışmalar yapıldı. Çizelge 4.2 ve 4.3 incelendiğinde HCl asit ile geri kazanımın HNO_3'e göre daha iyi olduğu belirlendi. HCI derişimi ve hacmi arttıkça geri kazanım veriminin arttığı görüldü. 0.25, 0.5, 1 ve 2M HCI 10 mL deki verimlerinin sırasıyla % 89.5±0.4, 93.43±0.5, 98.5±0.2 ve 100.0±0.1 olduğu tespit edildi. Bütün bunlar göz önüne alındığında bundan sonraki zenginleştirme çalışmalarında, biyosorbent üzerine tutunan Cd (II) iyonunu geri almak için 1 M 10 mL HCI kullanılmasına karar verildi.

Çizelge 4.2. HCl asitinin geri kazanım verimine etkisi

Elüasyon Çözelti Türü	**Elüasyon Çözelti Derişimi (mol/L)**	**Elüasyon Çözelti Hacmi (mL)**	**Cd Geri Kazanım Verimi (%)**
HCl	0,25	2	85.62±0.5
		4	87.5±0.3
		6	88.6±0.4
		10	89.5±0.4
	0,5	2	87.63±0.2
		4	89.6±0.1
		6	90.57±0.3
		10	93.43±0.5
	1	2	88.8±0.6
		4	92.12±0.2
		6	94.13±0.3
		10	98.5±0.2
	2	2	87.2±0.4
		4	92.27±0.2
		6	97.14±0.5
		10	100.0±0.1

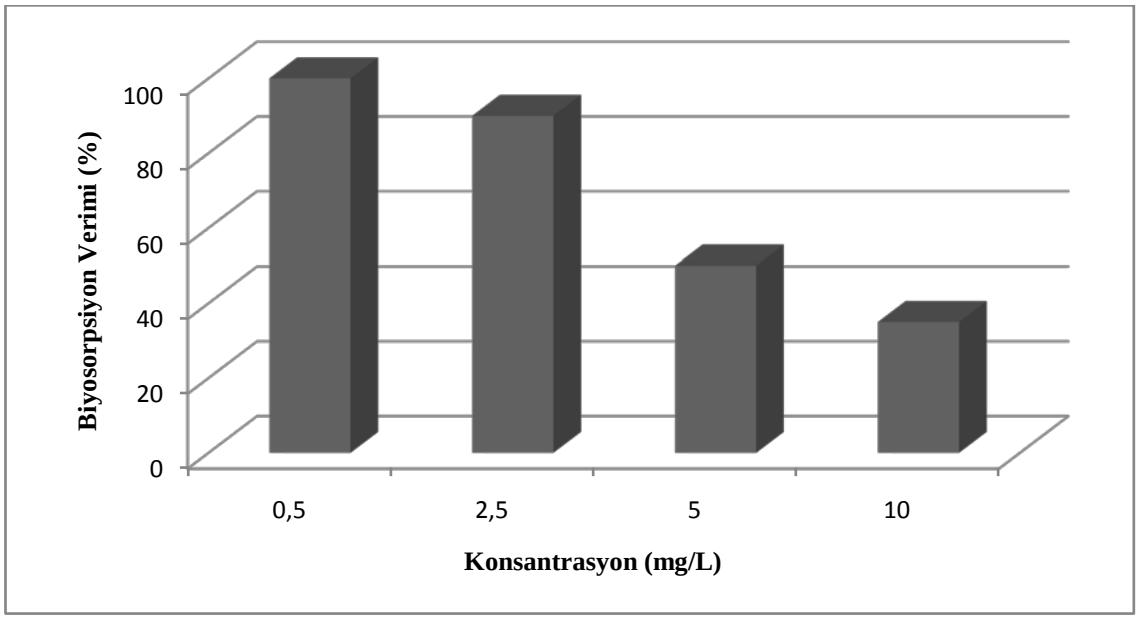
Çizelge 4.3. HNO_3 asitin geri kazanım verimine etkisi

Elüasyon Çözelti Türü	Elüasyon Çözelti Derişimi (mol/L)	Elüasyon Çözelti Hacmi (mL)	Cd Geri Kazanım Verimi (%)
HNO_3	0,25	2	80.16±0.2
		4	83.56±0.1
		6	84.19±0.3
		10	85.87±0.1
	0,5	2	83.96±0.3
		4	85.14±0.5
		6	87.84±0.4
		10	90.96±0.4
	1	2	84.93±0.2
		4	86.96±0.3
		6	88.39±0.4
		10	92.11±0.5
	2	2	84.99±0.2
		4	87.4±0.1
		6	89.11±0.4
		10	93.17±0.3

4.9. Biyosorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

A. caldiproteolyticus ve Amberlit XAD 16 ile hazırlanan kolonun, kapasitesini belirlemek amacı ile 0.5, 2.5, 5 ve 10 ppm'lik farklı konsantrasyonlarda hazırlanan 50 mL çözeltilerin pH'sı ayarlanarak kolondan geçirildi. Kolondan geçirilen konsantrasyonlara bakıldığında geri kazanım veriminin 0.5 mg/L de % 98.5 olduğu, 10 mg/L konsantrasyonunda ise geri kazanım verimi düşerek % 35 elde edildiği tespit edildi. Bu sonuçlara göre artan konsantrasyonlarda kolonun tutma kapasitesiyle ters

orantılı olduğu konsantrasyon arttığında verimin giderek azalma gösterdiği Şekil 4.13 de görülmektedir.



Şekil 4.13. Biyosorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Araştırmamızda 25, 125, 250, 500µg Cd (II) iyonlarını bulunduran pH'ı 6.0 olan 50 mL'lik örnek çözeltiler kolondan geçirilip 1 M 10 mL HCI ile geri alınması sağlandı. 0.25 g kolon dolgu maddesi içerisinde bulunan bakteri miktarı 0.05 g olup, bakterinin adsorpladığı maksimum Cd (II) miktarı 3500 µg $_{Cd\ (II)}$ / $g_{bakteri}$ olarak tespit edildi. FAAS ile tayin sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.4'te gösterildi.

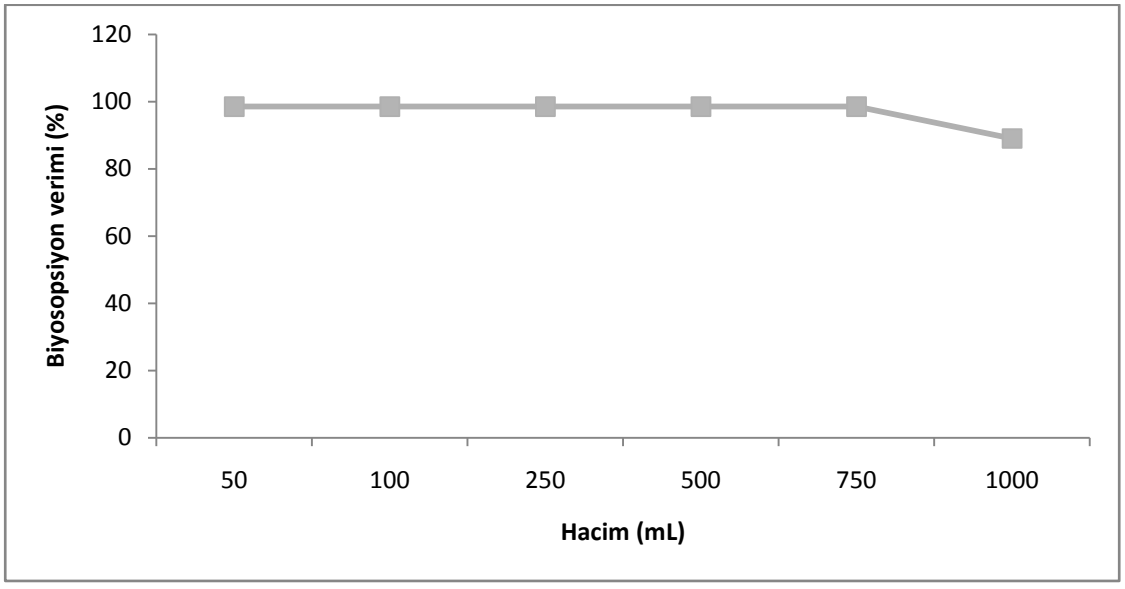
Çizelge 4.4. Bakterinin biyosorpsiyon kapasitesi tayini

$C_{başlangıç}$ (mg/L)	**Biyosorpsiyon Verimi (%)**	**Bağlanma Kapasitesi ($µg_{Cd(II)}/g_{bakteri}$)**
0.5	98.5	500
2.5	90	2250
5	50	2500
10	35	3500

4.10. Örnek Çözelti Hacminin ve Zenginleştirme Faktörünün Belirlenmesi

İçme suyu ve nehir suyu gibi gerçek örnekler eser düzeyde metal iyonları içerirler. Bundan dolayı bu metal iyonlarının tayin edilebileceği örnek çözelti hacminin bilinmesi gerekir. Yüksek zenginleştirme faktörüne ulaşabilmek için 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mL hacmindeki örnek çözeltilere sırasıyla, 0.5, 0.25, 0.10, 0.05, 0.33 ve 0.025 µg/mL olacak şekilde Cd (II) iyonu eklenerek daha önceden belirlenen optimum koşullarda kolondan geçirildi. 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mL hacimleri kolondan geçirildiğinde sırasıyla verimlerin % 98.5, % 98, % 97.7, % 97.5 ve % 89 olduğu belirlendi. Elde edilen sonuçlara göre örnek çözelti hacmi 750 mL olana kadar Cd (II) nicel olarak biyosorbe≥(97) oldu, 1000 mL örnek hacminde ise biyosorpsiyon veriminde azalma gözlemlendi.

Geri alma işlemi 10 mL ile gerçekleştiğinden dolayı zenginleştirme faktörü 75 olarak belirlendi.

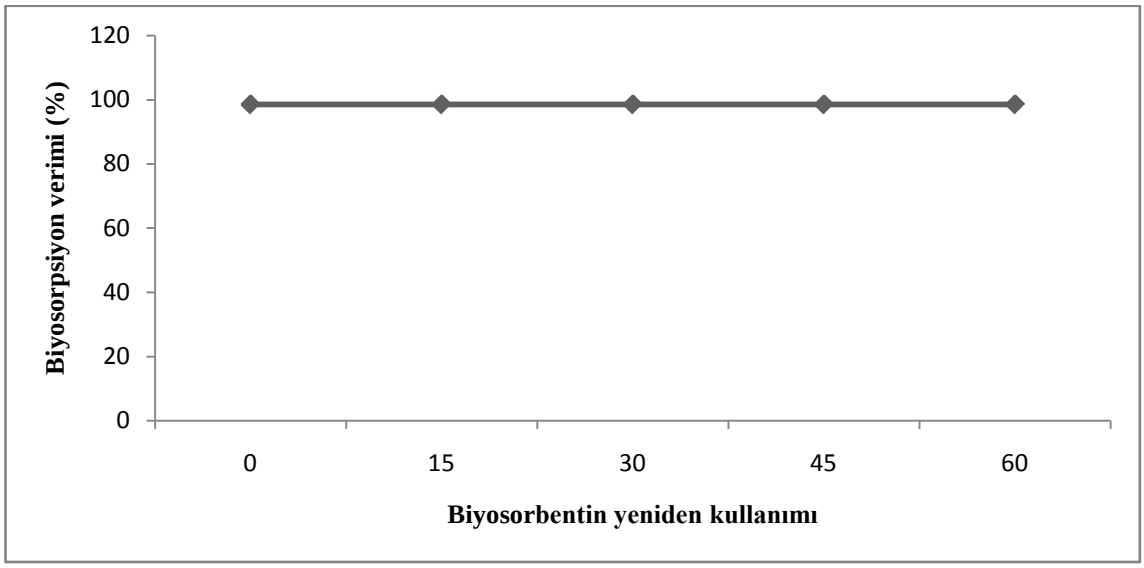


Şekil 4.14. Örnek Çözelti hacminin metal biyosorpsiyonuna etkisi

4.11. Yeniden Kullanılabilirliği

Zenginleştirme çalışmalarında biyosorbentin tekrar tekrar kullanıldığında bile biyosorpsiyon kapasitesi düşmeden biyokütlenin aynı kararlılıkta doğru sonuçlar vermesi kullanılan biyosorbent miktarı için önemli bir faktördür. Bu amaç içerisinde 250 mg kolon dolgu maddesi bulunan kolondan, daha önce belirlenen optimum koşullardan 50 mL'lik model çözeltiler geçirildi. Zenginleştirme çalışmalarından elde

edilen sonuçlara göre geri kazanım veriminin % 98.5 ile % 97.8 arasında olduğu, bu sonuçlara göre biyosorbentin 60 kez kullanıldığında bile biyokütlenin kararlılığında ve biyosorbent kapasitesinde bir değişiklik olmadığını gösterdi. Dolayısıyla her bir kolonun yaklaşık 60'ar defa kullanılabileceğine karar verildi.



Şekil 4.15. Biyosorbentin yeniden kullanılması

4.12. Yabancı İyon Etkisi

Geliştirdiğimiz zenginleştirme yönteminin gerçek numune ortamında da uygulanır olmasını araştırmak için doğal su numunelerinin temel bileşenleri olan bazı alkali ve toprak alkali katyonlarının (Na^+, K^+, Mg^{++},Ca^{++}) ve bazı anyonların (SO_4^{-2}, Cl^-) Cd(II) iyonunun alıkonmasına etkisi incelendi. Çizelge 4.5 incelendiğinde Cd (II) iyonu bulunan matriks ortamında Cl^- iyonu konsantrasyon 100 mg/L'ye, SO_4^{-2} , Na^+, K^+ 50 mg/L ve Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonu için ise 25 mg/L 'ye kadar geri kazanım veriminde düşme olmazken bu konsantrasyonlardan sonra geri kazanım verimlerinde azalma olduğu tespit edildi. Cl^- iyonu konsantrasyon 100 mg/L de olduğunda verimin % 89.4±0.1, SO_4^{-2} , Na^+, K^+ 50 mg/L konsantrasyonlarda verimlerinin sırasıyla % 87.2±0.2, % 89.6±0.3 ve % 87.6±0.1 olduğu tespit edildi. Ca^{+2} ve Mg^{+2} iyonu için ise 25 mg/L konsantrasyonlar geri kazanım verimlerinin sırasıyla % 88.2±0.2 ve % 75.4±0.1 düştüğü belirlendi.

Çizelge 4.5. Yabancı iyonların geri kazanıma etkisi

İyon	İlave Edilen (mg/L)	Geri Kazanım (%)
SO_4^{-2}	5	100.0±0.1
	25	96.3±0.5
	50	87.2±0.2
Cl^-	5	100.0±0.2
	25	100.0±0.1
	50	100.0±0.3
	100	89.4±0.1
K^+	5	100.0±0.3
	25	100.0±0.5
	50	87.6±0.1
Na^+	5	100.0±0.3
	25	100.0±0.5
	50	89.6±0.3
Ca^{2+}	5	100.0±0.4
	25	88.2±0.2
	50	54.6±0.6
Mg^{+2}	5	100.0±0.4
	25	75.4±0.1
	50	40.6±0.5

4.13. Yöntemin Kesinliği

Geliştirdiğimiz zenginleştirme yönteminin kesinliği 0.5 mg/L Cd (II) iyonu içeren 50 mL'lik model çözeltiler daha önce belirlenen optimum koşullara ayarlandıktan sonra 250 mg (*A. caldiproteolyticus* ile Amberlit XAD-16 modifiye edilmiş) reçine

içeren kolondan geçirildi. 1 M 10 mL HCI ile geri alındıktan sonra FAAS ile tayin edildi ve yöntemin kesinliği belirlendi.

Çizelge 4.6. Optimum şartlarda Cd (II) iyonunu geri kazanma verimlerinin tekrarlanabilirliği

Element	(%) R ± $\frac{t.s}{\sqrt{N}}$	% Bağıl Standart Sapma
Cd (II)	98.23± 2.40	1.96

% 95 güven seviyesinde beş tayinin ortalaması, R: x ortalama

4.14. Standart Referans Madde (SRM)

Geliştirdiğimiz zenginleştirme metodunun doğruluğunu anlamak için metodumuzu Standart referans maddeye (SCP SCIENCE EnviroMAT Waste Water, Low (EU-L-2)) uygulanarak 1:100 oranında hazırlanan çözelti uygun pH'ya ayarlandıktan sonra belirlenen optimum koşullarda kolondan geçirildi. Çizelge 4.7 incelendiğinde sertifika tolerans değer aralığı olan 0.017-0.029 mg/L aralığına elde edilen 0.024±0.004 mg/L sonucun girdiğinden dolayı geliştirdiğimiz metodun doğruluğu tespit edildi.

Çizelge 4.7. Standart referans madde de Cd(II) iyonun tayini

Element	**Sertifika Tolerans Değeri**	**Bulunan değer[a] (mg/L)**	**BSS[b]**
Cd (II)	0.017-0.029	0.024±0.004	0.125

[a] % 95 güven seviyesinde N=5, [b] BSS: Bağıl Standart Sapma

4.15. Araştırılan Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması

Dicle Nehri, Hazar Gölü ve Diyarbakır ilinden alınan musluk suyu örneklerinden 250 mg biyosorbent içeren kolondan pH 6.0'a ayarlandıktan sonra 2 mL/dk akış hızıyla kolondan geçirildi. 1 M 10 mL HCI ile geri alınarak analizler FAAS ile yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre Dicle Nehrin de 86.10±1.73 µg/L, Hazar Gölün de 405.15±2.17 µg/L ve içme suyunda 802.19±2.51 µg/L Cd (II) iyonu tespit edildi.

Çizelge 4.8. Çeşitli doğal su örneklerinde Cd(II) iyonlarının tayini

Su örneği	**Bulunan değer[a] (µg/L)**	**% BSS[b]**
Dicle Nehri	86.10±1.73	1.61
Hazar Gölü	405.15±2.17	1.75
İçme Suyu	802.19±2.51	0.25

[a] % 95 güven seviyesinde N=5, [b] BSS: Bağıl Standart Sapma

4.16. Gözlenebilme ve Tayin Sınırları

Tayin edilen Cd (II) için gözlenebilme sınır değeri hesaplanarak bulunan değer elde edilen zenginleştirme katsayısına bölünmüştür. Yapılan analizlerde cihazın LOD'sinin 4.61 µg/L olduğu geliştirdiğimiz metodun LOD'sinin 1.62µg/L olduğu belirlendi. Bu sonuçlar ile geliştirdiğimiz metodun cihazın okuyabileceği alt sınırının altında analiz yapılabileceğini bu şekilde amacımıza paralel olarak metodumuzun uygulanabilirliği belirlendi.

Çizelge 4.9. Cd(II) için gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı

Parametreler	**Cd**
Kalibrasyon denklemi	y = = 0,285x - 0,001
Korelasyon katsayısı (R^2)	0.999
LOD(µg/L)	1.62
LOQ(µg/L)	5.4
Kalibrasyon denklemi[a]	y = 0.239x – 0.002
Korelasyon katsayısı (R^2)[a]	R^2 = 0.998
LOD(µg/L)[a]	4.61
LOQ(µg/L)[a]	15.355

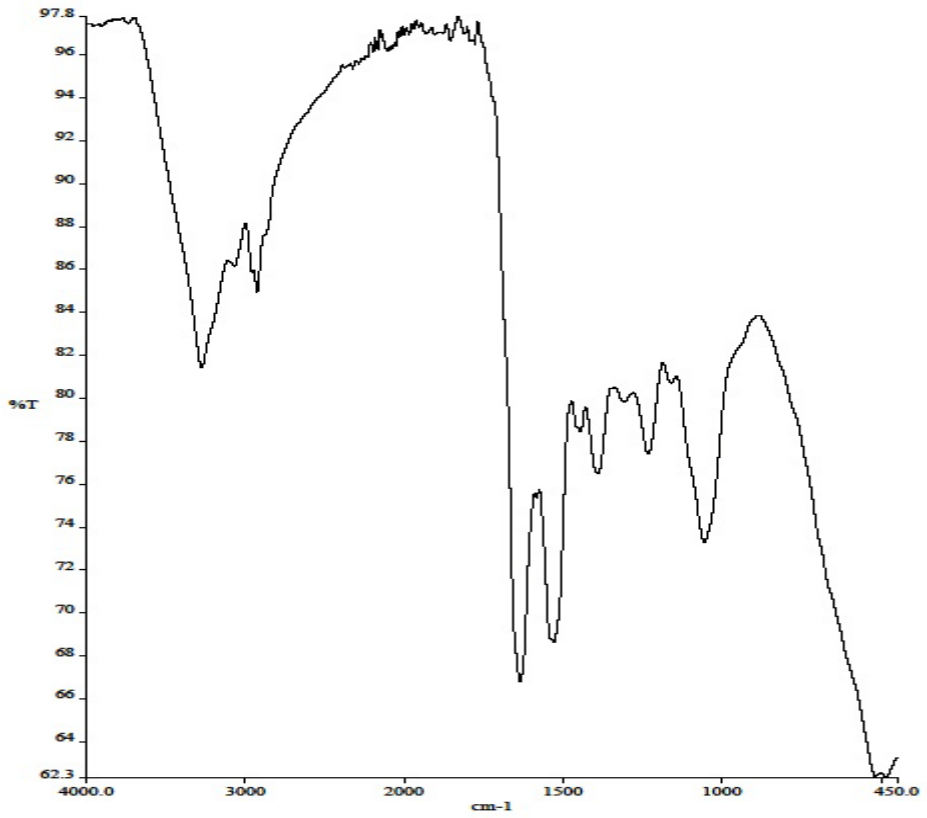
[a] FAAS için verilen değerler

4.17. *G. stearothermophilus*'un Optimum Üreme Koşulları

Geobacillus stearothermophilus'un gelişimi için uygun besi olarak NB saf su olarak tespit edilmiştir. Bakterinin optimum sıcaklığı 55 °C pH ise 7.0 olarak belirlenmiştir.

4.18. *G. stearothermophilus*'un IR Spektrumları

Geobacillus stearothermophilus'un FT-IR spektrumu Şekil 4.16' da gösterildi.

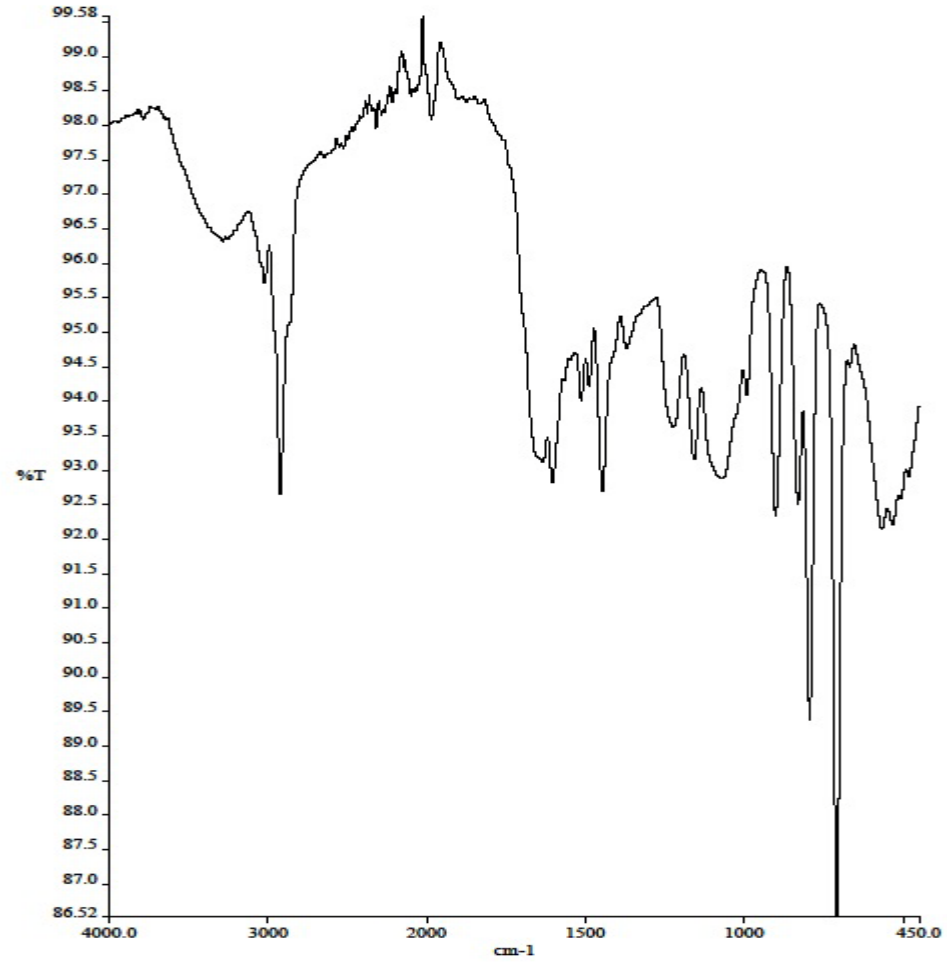


Şekil 4.16. *Geobacillus stearothermophilus*'un spektrumu

IR (KBr, cm^{-1}): $\upsilon(N\text{-}H)_{gerilmesi}$**:** 3274, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik}$: 3067, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik}$: 2959, 2925, υ(C=O): 1635, υ(N-H): 1530, υ(C=C): 1442, υ(C-N) : 1390, 1230, υ(C-O): 1162, 1056.

Bakterinin FT-IR spektrumu alındığında fonksiyonel grup olarak 3274'te N-H ve 1390 ile 1230 C-N seviyelerinde amid piklerinin olduğu 1635'te C=O karbonil piki ve 1162 ile 1056 C-O eter pikleri tespit edildi.

G. stearothermophilus ile Amberlit XAD-16 kopolimeri modifikasyonundan sonra alınan FT-IR spektrumu Şekil 4.17 de verilmiştir.



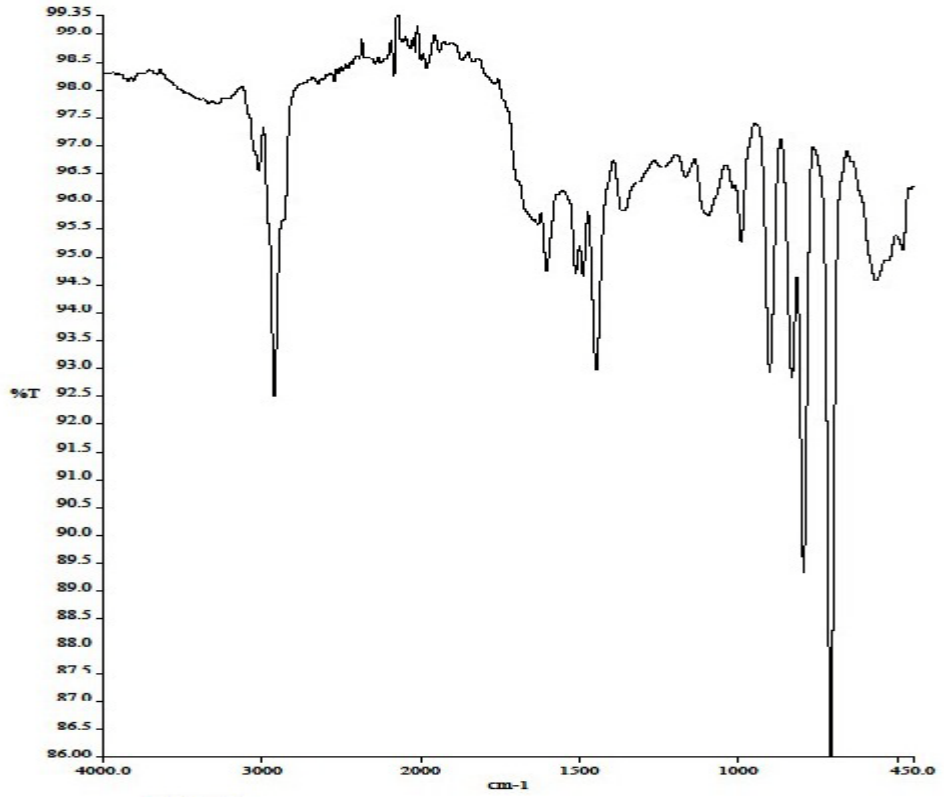
Şekil 4.17. *G. stearothermophilus* ile Modifiye Edilmis Amberlit XAD-16 FT-IR spektrumu

IR (KBr, cm^{-1}): $\upsilon(H_2O)_{gerilmesi}$**:** 3278, υ(C-H) $_{aromatik}$: 3021, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik}$: 2922, $\upsilon(C{=}O)_{aromatik}$: 1631, 1603, υ(N-H) $_{gerilmesi}$: 1513 υ(C=C): 1487, 1445, υ(C-N): $_{gerilmesi}$: 1367,1226, υ(C-O): 1157,1078, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ içi\ eğilme}$: 900, 829, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ dışı\ eğilme}$: 793.

Bakteride bulunan 1635'teki C=O piki 1631 ve 1603 piklerine yarılmıştır. 1530'daki N-H piki 1513'e kayıp, pik keskinleşmiş ve şiddeti azalmıştır. 1442'deki C=C piki 1487 ve 1445 şeklinde iki keskin pike yarılmıştır. 1390 ve 1230'daki C-N pikleri 1367 ve 1226 şeklinde iki keskin pike dönüşmüştür. 1162'deki C-O piki 1157'ye

kayıp keskinleşmiştir. 1056'daki C-O piki ise 1078'e kayıp yayvanlaşmıştır. Bu sonuçlar bize bu bakterinin reçineye C=O, N-H, C-N ve C-O grupları üzerinden bağlandığını göstermektedir.

Modifikasyon ile hazırlanan kolon dolgu maddesinden Cd (II) iyonu geçirdikten sonra alınan FT-IR spektrumu Şekil 4.18 de verilmiştir.



Şekil 4.18. Modifikasyon ile oluşturulan klon maddesinden metal geçirildikten sonraki FT-IR spektrumları

IR (KBr, cm^{-1}): $\upsilon(H_2O)_{gerilmesi}$**:** 3268, υ(C-H) $_{aromatik}$: 3020, $\upsilon(C\text{-}H)_{alifatik}$: 2922, $\upsilon(C{=}O)_{aromatik}$: 1630, 1601, υ(N-H) $_{gerilmesi}$: 1513, υ(C=C): 1486, 1446, υ(C-N): $_{gerilmesi}$: 1363, 1237, υ(C-O): 1169, 1093, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ içi\ eğilme}$: 898, 829, $\upsilon(C\text{-}H)_{aromatik\ düzlem\ dışı\ eğilme}$: 792.

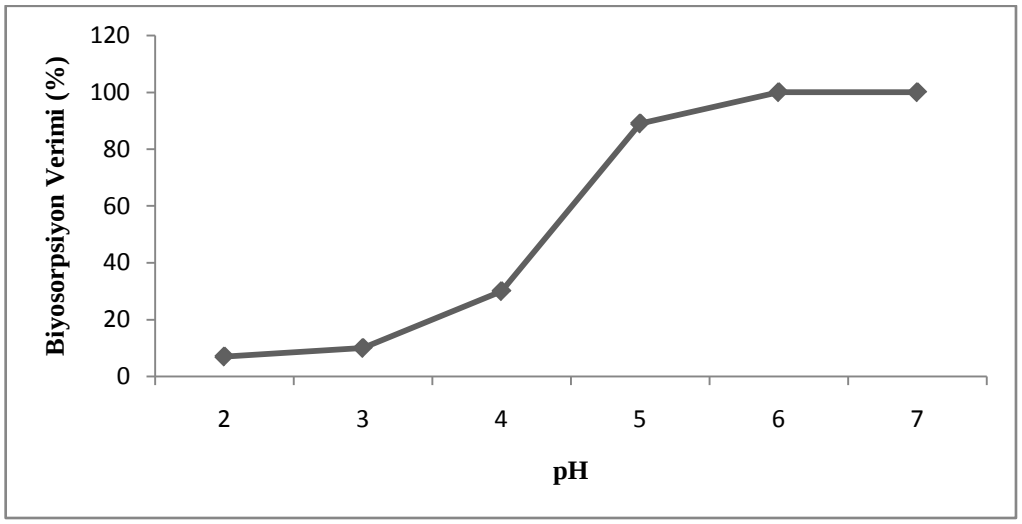
FT-IR spektrumuna baktığımızda 3278'deki N-H piki 3268'e 1631 ile 1603'teki C=O pikleri 1630 ve 1601'e kaymış 1630'daki pik keskinleşmiş, 1601'deki pik ise biraz daha yayvanlaşmıştır. 1367 ve 1226'daki C-N piki 1363 ve 1237'ye kaymıştır. 1367'deki keskin pik 1363'te yayvanlaşmış 1126'daki pikin şiddeti ise 1237'ye kaydığında azalmıştır. 1157 ve 1078 deki C-O piki 1169 ve 1093'e kaymıştır ve şiddeti

azalmıştır. 1157'deki keskin pik 1169'da yayvanlaşmıştır. Bu da bağlanmanın C-N, C=O ve C-O pikleri üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir.

4.19. *G. stearothermophilus*'un Metal Biyosorpsiyonu için Optimum Koşulları

4.19.1. pH'nın Etkisi

G. stearothermophilus ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 üzerine, en fazla geri kazanma veriminin sağlandığı pH değerlerinin bulunması amacıyla Cd (II) iyonu içeren 0.5 mg/L 50 mL'lik bir seri model örnek çözeltileri hazırlanarak pH'ları 2.0 ile 7.0 arasında ayarlandı. 1 M 10 mL HCI ile geri alınan çözeltinin, verim hesabı yapılarak gerekli sonuçlar Şekil 4.19'de gösterildi. pH 2.0-5.0 arasında geri kazanım verimi ortamın asidik olmasına bağlı olarak düşük olduğu belirlendi. pH 6.0 ve 7.0 Cd (II) iyonunun nicel olarak zenginleştirilebildiği görüldü ve en iyi tutunmanın gerçekleştiği en düşük pH değeri olan 6.0 seçildi.

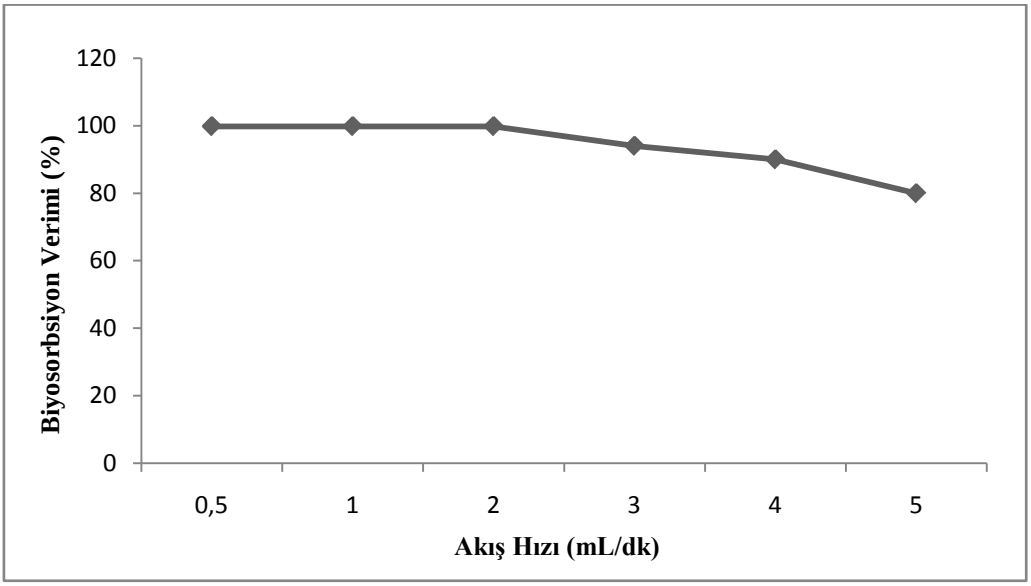


Şekil. 4.19. pH'nın etkisi

4.19.2. Örnek Akış Hızının Metal Biyosorpsiyonuna Etkisi

Çözelti akış hızının geri kazanma verimine etkisini araştırmak amacıyla 0.5 mg/L 50 mL Cd (II) iyonu çözeltileri pH 6.0'a ayarlandıktan sonra *G. stearothermophilus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-16 içeren kolondan 0.5-5.0 mL/dk akış hızı aralığında peristatik pompa yardımıyla kolondan geçirildi. Yapılan çalışmada akış hızının 0.5-2 mL/dk aralığında kolondan nicel (≥95) olarak alıkonmaları

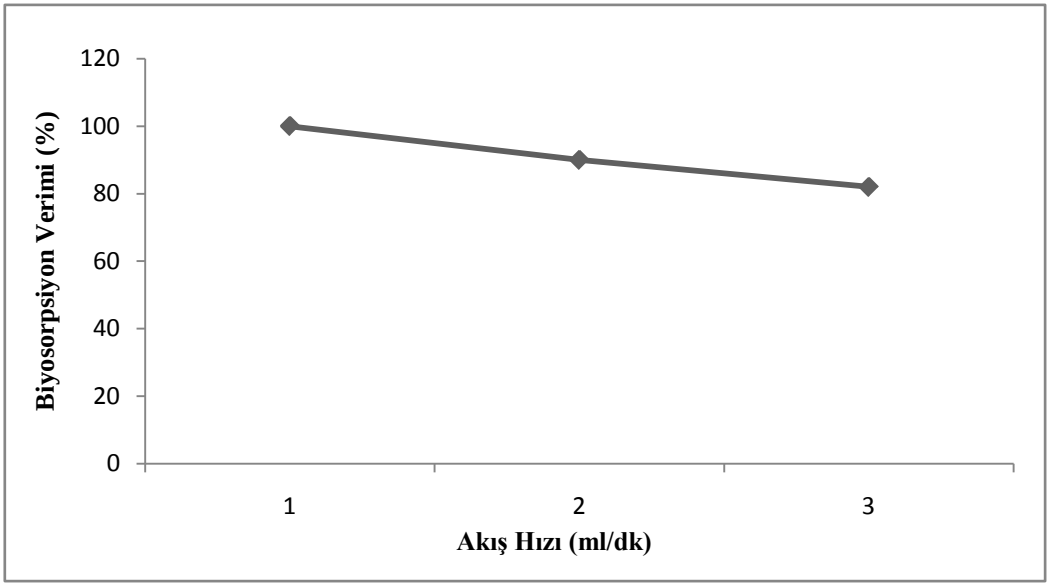
sağlandı. 2 mL/dk'dan daha yüksek hızlarda geri alma yüzdelerinde düşme gözlemlendiği özellikle 5 mL/dk geri kazanım veriminin % 80 olduğu tespit edildi. Çalışmalarımızda 2 mL/dk akış hızı kullanılmasına karar verildi.



Şekil 4.20. Örnek çözelti akış hızı

4.19.3. Elüsyon Çözeltisinin Akış Hızı

Hazırlanan Cd(II) çözeltisi 2 mL/dk akış hızı ile kolondan geçirildikten sonra 0.5 M HNO_3 elüsyon çözeltileri peristatik pompa yardımıyla akış hızları 1-3 mL/dk aralığında kolondan geçirilerek kadmiyum iyonunun geri kazanma verimine elüsyon çözeltisinin akış hızının etkisi incelendi. Yapılan çalışma sonucunda elüsyon akış hızının 1 mL/dk olduğunda geri kazanım veriminin % 100 ancak akış hızı arttığında verimin azaldığı görüldü. Akış hızı 3 mL/dk olduğunda verimin % 82'e kadar düştüğü tespit edildi.



Şekil 4.21. Elüsyon Çözeltisinin Akış Hızının Etkisi

4.19.4. Elüent Derişimi, Türü ve Hacminin Etkisi

Örnek çözeltiler kullanılarak Cd(II) iyonun geri kazanma verimine, eluent çözeltisinin türü ve hacminin etkisi araştırıldı. Bu amaçla, kolonda tutunan Cd(II) iyonunu geri almak için; 0.25 M, 0.5 M, 1 M ve 2 M HCl ile 0.25 M, 0.5 M, 1 M ve 2M HNO_3 çözeltileri denendi. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.10 ve 4.11 da gösterildi. Bu sonuçlar incelendiğinde HNO_3 asit çözeltisi kullanılarak yapılan geri alma çalışmalarının, HCI asit çözeltisine kıyasla çok daha iyi sonuçlar verdiği gözlendi. 0.25 M 2 mL HNO_3 ile geri alınan Cd(II) iyonu veriminin % 95.2±0.5 olduğu, 0.5 M 2 mL HNO_3 ile geri almada ise % 99.8±0.5 verim elde edildi.

Çizelge 4.10. HCl asitinin geri kazanım verimine etkisi

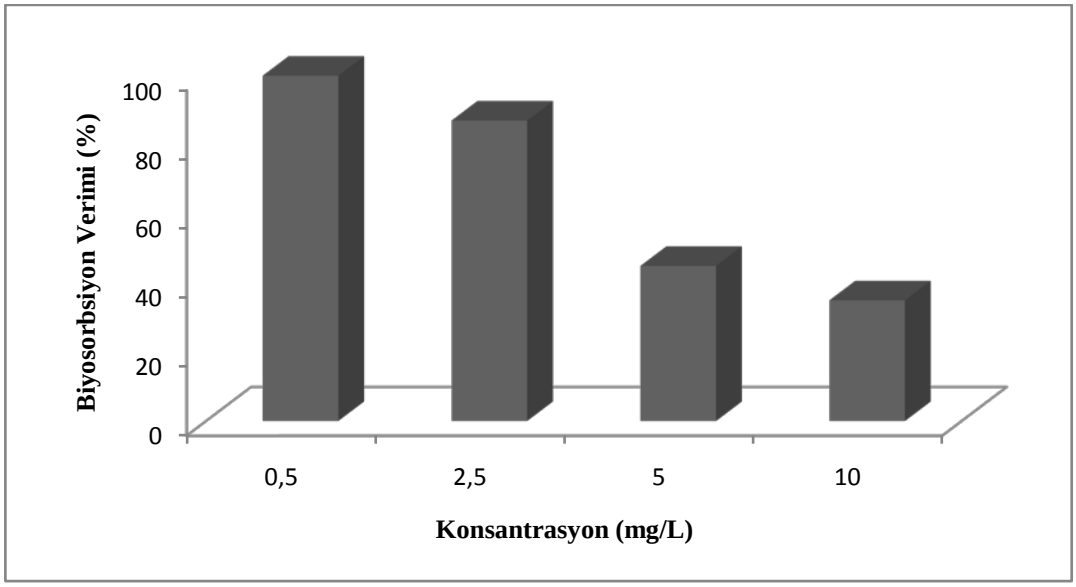
Elüasyon Çözelti Türü	**Elüasyon Çözelti Derişimi (mol/L)**	**Elüasyon Çözelti Hacmi (mL)**	**Cd Geri Kazanım Verimi (%)**
HCl	0,25	2	84.1±0.3
		4	85.4±0.4
		6	87.63±0.3
		10	88.12±0.5
	0,5	2	90.2±0.2
		4	91.3±0.1
		6	93.1±0.5
		10	94.9±0.6
	1	2	91±0.3
		4	92.61±0.4
		6	93.49±0.2
		10	95.17±0.1
	2	2	97.7±0.4
		4	98.35±0.2
		6	98.64±0.3
		10	100.0±0.3

Çizelge 4.11. HNO_3 asitin geri kazanım verimine etkisi

Elüasyon Çözelti Türü	**Elüasyon Çözelti Derişimi (mol/L)**	**Elüasyon Çözelti Hacmi (mL)**	**Cd Geri Kazanım Verimi (%)**
HNO_3	0,25	2	95.2±0.5
		4	96.6±0.3
		6	97.3±0.4
		10	97.5±0.1
	0,5	2	99.8±0.5
		4	100.0±0.2
		6	100.0±0.1
		10	100.0±0.1
	1	2	100.0±0.4
		4	100.0±0.3
		6	100.0±0.2
		10	100.0±0.1
	2	2	100.0±0.3
		4	100.0±0.4
		6	100.0±0.1
		10	100.0±0.2

4.19.5. Biyosorbsiyon Kapasitesinin Belirlenmesi

Hazırlanan kolondan, uygun koşullarda hazırlanan ve içerisinde 0.5, 2.5, 5 ve 10 mg/L Cd (II) iyonu bulunan 50 mL'lik çözeltiler uygun akış hızıyla kolondan geçirildi. Artan konsantrasyona bağlı olarak verimde azalmalar görüldü. İçerisinde 0.5, 2.5, 5 ve 10 mg/L'lik Cd (II) iyonu bulunan çözeltilerin geri kazanım verimleri sırası ile % 99.8, % 87, % 45 ve % 35 olduğu tespit edildi.



Şekil 4.22. Biyosorpsiyon kapasitesinin belirlenmesi

Çalışmamızda 25, 125, 250, 500 µg Cd(II) iyonlarını bulunduran pH'sı 6.0 olan 50 mL'lik örnek çözeltiler kolondan geçirilip 0.5 M 2 mL HNO_3 ile geri alınması sağlandı. 0.25 g biyosorbent içerisinde bulunan bakteri miktarı 0.05 g olup, bakterinin adsorpladığı maksimum Cd (II) miktarı 10 mg/L de 3500 µg $_{Cd\ (II)}$ / $g_{bakteri}$ olarak gözlemlendi. FAAS ile tayin sonucunda elde edilen veriler Çizelge 4.12'de gösterildi.

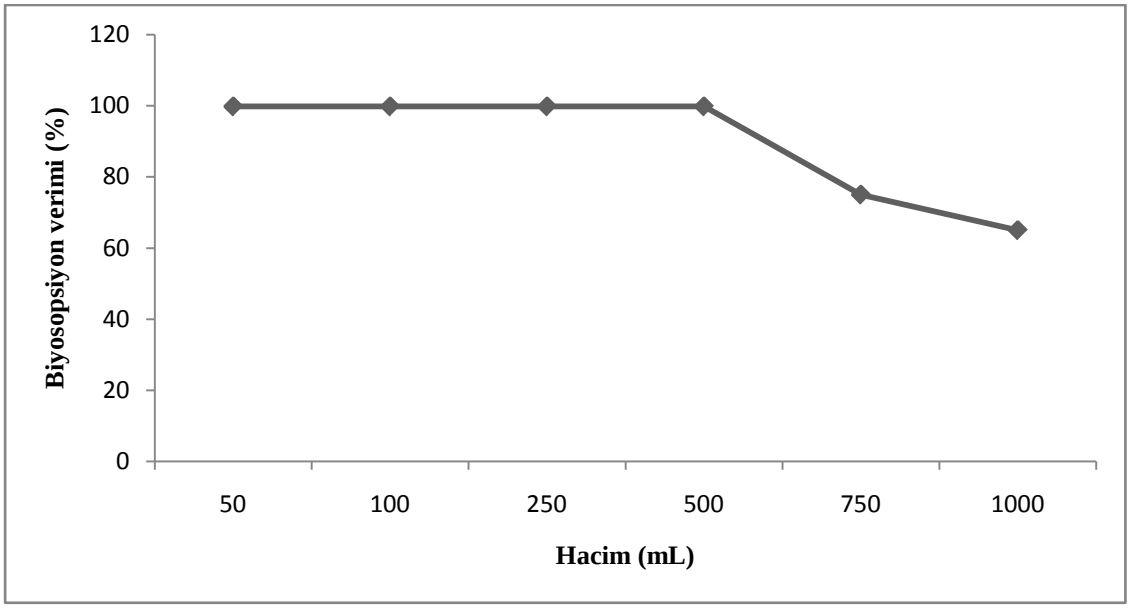
Çizelge 4.12. Bakterinin biyosorpsiyon kapasitesi tayini

$C_{başlangıç}$ (mg/L)	**Biyosorpsiyon Verimi (%)**	**Bağlanma Kapasitesi ($\mu g_{Cd(II)}/g_{bakteri}$)**
0.5	99,8	500
2.5	87	2175
5	45	2250
10	35	3500

4.19.6. Örnek Çözelti Hacminin ve Zenginleştirme Faktörünün Belirlenmesi

Örnek çözelti hacminin geri kazanım verimine etkisini araştırmak amacıyla, ayrı ayrı 0.5 mg/L Cd(II) içeren, 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mL'lik örnek çözeltileri hazırlanarak kolondan daha önce belirlenen en uygun şartlarda geçirildi. Analizler FAAS ile yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre, örnek çözelti hacmi 500 mL oluncaya

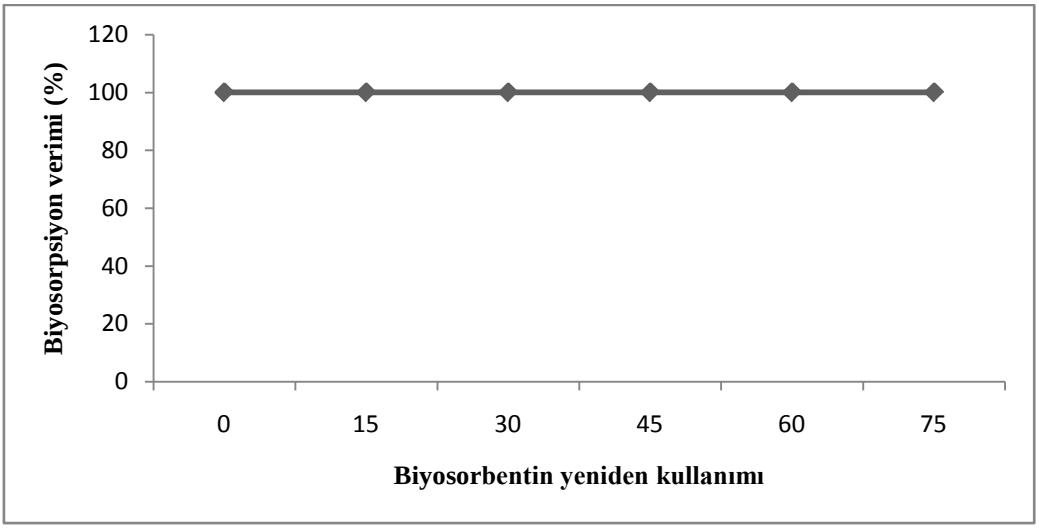
kadar Cd (II) iyonu kantitatif geri alınabildi. Özellik ile geri alma veriminin % 99.8-% 98.2 aralığında olduğu belirlendi. 500 mL'den daha yüksek hacimlerde ise geri alma veriminin 750 mL'de % 75, 1000 mL'de ise % 65 düştüğü gözlemlendi. Geri alma işlemleri 0.5 M 2 mL HNO_3 ile gerçekleştirildiğinden dolayı zenginleştirme faktörü 250 olarak belirlendi.



Şekil 4. 23. Örnek Çözelti hacminin metal biyosorpsiyonuna etkisi

4.19.7. Kolonun Yeniden Kullanılabilirliği

Kolon dolgu maddesi olarak içerisinde *G. stearothermophilus* ile Amberlit XAD-16 modifiye edilmiş 250 mg bulunan kolon pH 6.0'ya ayarlandı. 50 mL'lik çözeltiler kolondan geçirildi. Biyokütlenin kararlılığı, tekrar kullanılabilirliği biyosorpsiyon kapasitesi düşmeden analitlerin geri kazanımdaki değişiklikleri ele alınarak değerlendirildi. Zenginleştirme çalışmalarında elde edilen sonuçlara göre geri kazanım verimleri % 99.8-98.4 aralığında olduğu tespit edildi. Buna göre, biyosorbent yaklaşık 75 kez kullanıldığında ve geri kazanım değerlerinde bir değişiklik gözlemlendi. Her bir kolonun yaklaşık 75'er defa kullanılabildiğine karar verildi.



Şekil 4.24. Biyosorbentin yeniden kullanılması

4.19.8. Yabancı İyon Etkisi

Doğal su numunelerinin temel bileşenleri olan ve girişim yaptığı düşünülen Mg^{+2}, K^{+}, Na^{+}, Ca^{++} SO_4^{-2} ve CI^{-} iyonlar Cd (II) içeren çözeltileri belirli konsantrasyonlarda eklendi ve pH 6'ya ayarlandıktan sonra daha önce belirlenen optimum koşullarda kolondan geçirildi. Elde edilen Cd(II) iyonları FAAS ile tayin edildi. K^{+}, Na^{+} ve CI^{-} iyonları konsantrasyonu 100 mg/L'ye, SO_4^{-2} 50 mg/L'ye ve Ca^{+2} , Mg^{+2} 25 mg/L kadar kantitatif bir kazanım gözlenirken, bu konsantrasyonlardan sonra geri kazanım verimlerinde azalma olduğu gözlendi.

K^{+}, Na^{+} ve CI^{-} iyonları konsantrasyonu 100 mg/L de olduğunda verimleri sırasıyla % 96.2±0.3, % 95.6±0.5 ve % 100.0±0.2 olduğu tespit edildi. SO_4^{-2} 50 mg/L'ye kadar % 97.3±0.4; Ca^{+2} , Mg^{+2} 25 mg/L kadar ki geri kazanım verimleri sırası ile % 95.3±0.2 ve % 98.6±0.4 sonuçları elde edildi.

Çizelge 4.13. Yabancı iyonların geri kazanıma etkisi

İyon	**İlave Edilen (mg/L)**	**Geri Kazanım (%)**
SO_4^{-2}	5	100.0±0.1
	25	97.3±0.4
	50	90.2±0.1
Cl^-	5	100.0±0.3
	25	100.0±0.1
	50	100.0±0.2
	100	92.3±0.1
K^+	5	100.0±0.2
	25	100.0±0.1
	50	96.2±0.3
	100	89.3±0.2
Na^+	5	100.0±0.6
	25	100.0±0.4
	50	95.6±0.5
	100	90.6±0.5
Ca^{2+}	5	95.3±0.2
	25	70.2±0.1
	50	36.5±0.3
Mg^{+2}	5	98.6±0.4
	25	80.6±0.3
	50	45.2±0.2

4.19.9. Yöntemin Kesinliği

İçerisinde 250 mg *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 kolondan daha önce belirlenen optimum koşullarda Cd (II) iyonları geçirildi. Elüe edilen Cd (II) iyonları FAAS ile tayini edildi. Bu işlemler sonucunda yöntemin kesinliği belirlendi.

Çizelge 4.14. Optimum şartlarda Cd (II) iyonunu geri kazanma verimlerinin tekrarlanabilirliği

Element	(%) $R \pm \frac{t.s}{\sqrt{N}}$	% Bağıl Standart Sapma
Cd (II)	98.93 ±1.3	1.05

% 95 güven seviyesinde beş tayinin ortalaması, R: x ortalama

4.19.10. Standart Referans Madde

1:100 oranında hazırlanan çözelti uygun pH'ya ayarlandıktan sonra belirlenen optimum koşullarda kolondan geçirildi. Çizelge 4.15 incelendiğinde sertifika tolerans değer aralığı olan 0.017-0.029 mg/L aralığına elde edilen 0.023±0.005 mg/L sonucun girdiğinden dolayı geliştirdiğimiz metodun doğruluğu tespit edildi.

Çizelge 4.15. Standart referans maddede Cd(II) iyonun tayini

Element	**Sertifika Tolerans Değeri**	**Bulunan değer[a] (µg/L)**	**BSS[b]**
Cd (II)	0.017-0.029	0.023±0.005	0.17

[a] % 95 güven seviyesinde N=5, [b] BSS: Bağıl Standart Sapma

4.19.11. Araştırılan Yöntemin Gerçek Numunelere Uygulanması

Geliştirdiğimiz zenginleştirme yöntemini Dicle Nehri, Hazar gölü ve Diyarbakır'dan alınan musluk suyu örnekleri uygun pH'ya ayarlandıktan sonra kolondan geçirildi. 0.5 M 2 mL HNO_3 ile geri alınan örnekler FAAS ile tayin edildi. Elde edilen sonuçlara göre Dicle Nehrin de 95.32±2.56 µg/L, Hazar Gölün de 522.30±2.67 µg/L ve içme suyunda 576.46±3.52 µg/L Cd (II) iyonu tespit edildi.

Çizelge 4.16. Çeşitli doğal su örneklerinde Cd(II) iyonlarının tayini

Su örneği	**Bulunan değer[a] (µg/L)**	**% BSS[b]**
Dicle Nehri	95.32±2.56	2.16
Hazar Gölü	522.30±2.67	0.4
İçme suyu	576.46±3.52	0.5

[a] % 95 güven seviyesinde N=5, [b] BSS: Bağıl Standart Sapma

4.19.12. Gözlenebilme ve Tayin sınırları

Gözlenebilme Sınırı; Cd(II) içermeyen 10 adet tanık çözeltiye kolon yöntemi uygulanarak, elde edilen geri alma çözeltilerinin absorbansları FAAS ile ölçüldü. Bu değerlerin standart sapması hesaplandı, standart sapmanın üç katı, tanık absorbansı ortalamasına eklenerek, bu değere karşılık gelen Cd(II) derişimi gözlenebilme sınırı olarak hesaplandı. LOD değeri 0.9 µg/L olduğu tespit edildi.

Tayin Sınırı; Gözlenebilme sınırı tayininde elde edilen standart sapmanın on katı, tanık absorbansı ortalamasına eklenerek, bu değere karşılık gelen Cd(II) derişimi tayin sınırı olarak hesaplandı. LOQ değerini ise 3.0 µg/L olarak belirlendi.

Çizelge 4.17. Cd(II) için gözlenebilme sınırı ve tayin sınırı

Parametreler	**Cd**
Kalibrasyon denklemi	y = 0.175x - 0,00
Korelasyon katsayısı (R^2)	0.998
LOD(µg/L)	0.9
LOQ(µg/L)	3.0
Kalibrasyon denklemi[a]	y = 0,239x - 0,002
Korelasyon katsayısı (R^2)[a]	R^2 = 0,998
LOD(µg/L)[a]	4.61
LOQ(µg/L)[a]	15.355

[a] FAAS için verilen değerler

4.20. Geliştirilen Metotların Karşılaştırılması

Geliştirilen metotlara bakıldığında *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi kullanılarak geliştirilen metodun *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi kullanılarak geliştirilen metottan zenginleştirme faktörü, elüentin derişimi, hacmi ve konsantrasyonu, geri kazanım verimi ve LOD (µg/L) gibi parametrelerde daha iyi oldu tespit edildi.

Çizelge 4.18. Geliştirilen Metotların Karşılaştırılması

Parametreler	*A.caldiproteolyticus*	*G. stearothermophilus*
pH	6	6
Akış hızı (mL/dk)	2	2
Elüent türü, derişimi ve hacmi	1 M 10 mL HCI	0.5 M 2 mL HNO_3
Biyosorpsiyon kapasitesi	3.5	3.5
Örnek çözelti hacmi	750	500
Zenginleştirme faktörü	75	250
Kolonun yeniden kullanılabilirliği	60	75
Yöntemin kesinliği (%)	98.23± 2.40	98.93 ±1.3
LOD (µg/L)	1.62	0.9
LOQ (µg/L)	5.4	3.0

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS) çevre sağlığı ve kalite kontrol amacıyla; içme, kaynak, nehir, göl, deniz ve fabrika atık sularında eser elementlerin analizinde en yaygın kullanılan tekniklerden biridir. Fakat bu analizlerde, çeşitli örneklerdeki eser elementlerin son derece düşük derişimlerde bulunması ve örneğin matriksinden kaynaklanan bozucu etkiler nedeniyle bazı sorunlarla karşılaşılmaktadır. Böyle eser düzeydeki ağır metallerin analizini daha kolay ve kesin gerçekleştirmek için analiz öncesi analite bulunduğu ortamda uygun şartlar altında bir ön ayırma ve zenginleştirme işlemleri uygulanmaktadır. Zenginleştirme işlemi ile tayin edilecek eser element, büyük hacimli bir örnekten, bağıl olarak oldukça küçük hacimli bir tayin çözeltisi içine alınır. Bu esnada etki edebilecek diğer bileşenler ortamdan uzaklaştırılarak ayırma işlemi de gerçekleştirilir. Bu yüzden birçok durumda analiti matriksten ayırarak seçiciliği arttırmak ve analiti zenginleştirerek tayin sınırını geliştirmek gereklidir (Varhan Oral 2009).

Zenginleştirme ve ayırma yöntemleri ile bu sorunlar ortadan kaldırılabilir. Bu amaçla katı faz ekstraksiyonu (SPE), sıvı-sıvı ekstraksiyonu, birlikte çöktürme, iyon değiştirme, elektrokimyasal biriktirme, bulutlanma noktası ekstraksiyonu gibi sıkça başvurulan teknikler kullanılmaktadır (Soylak ve ark. 2003, Li ve ark. 2006). Bu yöntemlerden, katı faz ekstraksiyonu yöntemi genellikle katı fazın kolay yenilenmesi, yüksek zenginleştirme faktörüne ulaşılabilmesi, adsorbanın tekrarlanabilir kullanımı gibi avantajlarından dolayı tercih edilir (Kendüzler 2003). Eser metal iyonlarının immobilizasyon ile zenginleştirilmesi çalışmalarında, kolon dolgu maddesi olarak birçok doğal ve yapay maddeler kullanılmaktadır. Bunlar arasında mikroorganizma (alg, mantar, maya, bakteri) silikajel, naftalin, sepiolit, çok yüzeyli karbon nanotüp, Amberlite XAD türü reçineler vb. sayılabilir（Sternberg ve Dorn 2002).

Bu çalışmada ayırma ve zenginleştirme yöntemi olarak, katı faz ekstraksiyonu kullanılmıştır. Bunun için biyosorbent olarak Ergani Makam dağındaki toprak örneğinden temin edilerek izolasyonu, tanımlanması ve karakterizasyonu yapılan *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi ve hazır alınan *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinelerinden hazırlanan kolonlar kullanıldı. Ayırma ve önderiştirme verimine çözeltinin pH'sı, çözelti akış hızı,

elüent tipi, derişimi ve hacmi, biyosorpsiyon kapasitesi, örnek çözelti hacmi ve biyosorbentin kullanılabilirliği gibi parametrelerin etkileri araştırıldı. Yöntemin gerçek numunelere uygulanabilirliğini araştırmak için Na^+, K^+, Cl^- ve Na^+ gibi bazı iyonların geri kazanma verimine etkileri incelendi. Geliştirilen yöntem Dicle Nehri, Hazar Gölü ve Diyarbakır içme suyu gibi gerçek örneklerde Cd(II) iyonunun tayini için uygulandı. Geliştirilen metodun doğruluğunu desteklemek amacıyla, metot standart referans maddeye uygulandı.

Bölüm 4.4'te ayrı ayrı reçine, bakteri, modifiye edilmiş reçine ve biyosorbe olmuş modifiye reçinenin IR spektrumları verilmiştir. *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesinin FTIR spektrumu incelendiğinde recinede bulunmayıp bakteride bulunan 3274'teki amid piki 3288'e kaymıştır. Bakteride bulunan 1622'deki C=O piki 1671 ve 1637'ye kayıp pik yarılmıştır. Bakteride çift omuz şeklinde bulunan1537 ve 1523'teki N-H piki 1535'e kaymış ve birleşmiştir. 1447'de bulunan C=C piki 1496 ve 1446'ya kayıp yarılma gözlenmiştir. Bakteride bulunan C-N 1391 piki 1364'e kaymış ayrıca 1232'deki C-N piki ise 1236 ve 1273 pikine yarılmıştır. 1057'deki yayvan C-O piki 1170 ve 1097 şeklinde iki pike yarılmış ve keskinleşmiştir.

Bu sonuçlar bize bakterinin reçineye C=O, N-H, C-N ve C-O grupları üzerinden bağlandığını göstermektedir. Biyosorbe olmuş modifiye reçinenin (içerisinde 25 μg Cd(II) iyonlarının bulunduğu çözelti pH 6.0'ye ayarlanarak kolondan geçirilmesi ile elde edilen) FTIR spektrumuna bakacak olursak 3288'de bulunan N-H $_{gerilmesi}$ piki 3277'ye, 1671 ve 1637'de omuz şeklinde bulunan C=O piki 1662 ve 1635 piklerine yarılıp şeklinde ve şiddetlerinde değişiklik gözlenmiştir. 1273 ve 1236'daki C-N pikleri biyosorpsiyon sonrası 1268 ve 1237'de 2 tane omuz şeklinde pike tarılmıştır. Bu da bağlanmaların C=O ve C-N üzerinden bağlandığını göstermiştir.

FTIR spektrumlarımızda 3057-3018, 2962-2923, 1523-1444 cm^{-1}'de ortaya çıkan pikler sırasayla $(C\text{-}H)_{aromatik}$,$(C\text{-}H)_{alifatik}$ ve $(C{=}C)_{aromatik}$ gerilme titreşimlerine aittir.

G. stearothermophilus ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesinin FTIR spektrumu incelendiğinde modifiye reçine ve biyosorbe olmuş modifiye reçinede 3278 ve 3268'de görünen geniş ve orta şiddetteki pikler (OH) H_2O'dan kaynaklı olup amitten gelen N-H piki ile üst üste çakışmıştır. Bundan dolayı bakteride gözlenen orta şiddetteki N-H soğurması OH soğurmanın geniş bandından dolayı spektrumda görülmemektedir.

Bakteride bulunan 1635'teki C=O piki 1631 ve 1603 piklerine yarılmıştır. 1530'daki N-H piki 1513'e kayıp, pik keskinleşmiş ve şiddeti azalmıştır. 1442'deki C=C piki 1487 ve 1445 şeklinde iki keskin pike yarılmıştır. 1390 ve 1230'daki C-N pikleri 1367 ve 1226 şeklinde iki keskin pike dönüşmüştür. 1162'deki C-O piki 1157'ye kayıp keskinleşmiştir. 1056'daki C-O piki ise 1078'e kayıp yayvanlaşmıştır. Bu sonuçlar bize bu bakterinin reçineye C=O, N-H, C-N ve C-O grupları üzerinden bağlandığını göstermektedir.

Biyosorbe olmuş modifiye reçinenin (içerisinde 25µg C d(II) iyonlarının bulunduğu çözelti pH 6.0'ye ayarlanarak kolondan geçirilmesi ile elde edilen) FTIR spektrumuna baktığımızda 3278'deki N-H piki 3268'e 1631 ile 1603'teki C=O pikleri 1630 ve 1601'e kaymış 1630'daki pik keskinleşmiş, 1601'deki pik ise biraz daha yayvanlaşmıştır. 1367 ve 1226'daki C-N piki 1363 ve 1237'ye kaymıştır. 1367'deki keskin pik 1363'te yayvanlaşmış 1126'daki pikin şiddeti ise 1237'ye kaydığında azalmıştır. 1157 ve 1078 deki C-O piki 1169 ve 1093'e kaymıştır ve şiddeti azalmıştır. 1157'deki keskin pik 1169'da yayvanlaşmıştır. Buda bağlanmanın C-N, C=O ve C-O pikleri üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir.

FTIR spektrumlarımızda 3067-3020, 2959-2922, 1487-1442 cm^{-1}'de ortaya çıkan pikler sırasayla $(C\text{-}H)_{aromatik}$, $(C\text{-}H)_{alifatik}$ ve $(C{=}C)_{aromatik}$ gerilme titreşimlerine aittir.

Bu bağlar modifiye reçinenin oluşumunda, birinci dereceden etkilenmedikleri için, reçine, bakteri ve modifiye reçine bandları yaklaşık aynı bölgede çıkmakta veya merkez atomuna bağlı olarak çok az kayma görülmektedir. Aromatik ya da alifatik olsun C-H grupları bakteri reçine etkileşimine katılmadıklarından çok fazla bir kayma beklenmez.

Önderistirme koşullarının belirlenmesi amacıyla, Cd(II) iyonunun biyosorpsiyonunu etkileyen en önemli parametrelerden biri olan pH değeri araştırıldı. Bu çalışmada en iyi tutunmanın sağladığı pH değerini bulmak için pH=2.0-7.0 aralığında deneyler yapıldı. Yapılan çalışmada Şekil 4.10'da gözlemlendiği gibi *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 kolonu için; Cd (II) iyonunun en iyi adsorplandığı pH 6.0 olarak, *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16'dan geçirilen Cd (II) iyonu için ise Şekil 4.19'de gösterildiği gibi pH 6.0 ve 7.0 de kantitatif geri kazanım olduğu tespit edildi. Elde edilen sonuçlar

literatüre uygun olarak 6.-8.0 aralığında bulundu (Özdemir ve ark. 2010; Özdemir ve ark 2012). Yıldız ve ark. (2013) yaptıkları araştırmalarında sepiolit'e immobolize ettikleri *Streptomyces albus* CIP 104432^{T} içeren kolondan tutunan Cd(II) iyonunun pH'sını 6.0 olarak bulmuşlardır. Bağ ve ark. (2000) çalışmalarında *Escherichia coli* ile Sepioliti immobilize ederek hazırladıkları kolonda tutunan Cd (II) iyonunun pH'sını 6.0 olarak tespit etmişlerdir. Saraçoğlu ve Elçi (2002) katı faz ekstraksiyonunda Cd (II) iyonun pH'sını 6.0 olarak belirlemişlerdir.

Mikroorganizmalarda birden fazla aynı fonksiyonel grup vardır. Bunlara örnek olarak amin, amid, imidazol, hidroksil, karboksil, tiol ve tiyoeter gruplarını verebiliriz (Crist, et al., 1981). Metal iyonları bu fonksiyonel gruplara genellikle nötrale yakın pH'larda (pH 6-8 aralığında) daha fazla adsorplanır. (Madrid, Y., Camara, C, 1997). Daha yüksek ve daha düşük pH'larda geri kazanım azalmaktadır. Düşük pH'larda adsorpsiyonun az olmasının nedeni, mikroorganizma yüzeyindeki fonksiyonel grupların protonlar tarafından doldurulmasıdır (Pérez- Corona, ve ark. 1997). Metaller mikroorganizma yüzeyine fonksiyonel gruplardaki protonlarla yer değiştirerek bağlanır. Bu nedenle düşük pH değerlerinde Cd (II) iyonları biyosorbent tarafından tutulamamıştır. Geri kazanma veriminin yüksek pH'larda düşük olmasının nedeni iyonik olmayan hidroksil komplekslerinin oluşması ve metal iyonlarının hidroksil iyonlarına bağlanması olarak açıklanabilir (Pardo ve ark. 2003, Robles ve Aller 1995)

Geliştirilen ayırma ve zenginleştirme yönteminin verimliliği arasında örneğin analize hazırlanması için gereken sürenin kısa olması şüphesiz tartışılmaz bir gerçektir. Yöntemin uygulama basamaklarında en zaman alıcı kısım örneğin kolondan geçme ve elüe edilme zamanıdır. Bu sürelerin uzunluğu yöntemin performansı ile doğrudan ilgilidir. Hazırlanan her iki kolonda da Cd (II) iyonun tutunmaları ve geri kazanımlarını örnek ve eluent akış hızlarının etkileri incelendi. Bu amaçla optimum şartlarda hazırlanan model çözeltiler 0.5-5 mL/dk aralığında değişen hızlarda kolondan geçirildi. En iyi tutunmanın her iki kolon için 2 mL/dk akış hızı ile olduğu belirlendi. Kolonlardan adsorplanan Cd (II) iyonunu elüe etmek için 1-3 mL/dk aralığında akış hızları denendi. İncelenen makaleler (Bag ve ark 1998, Bag ve ark 2000, Turker ve Tunceli 2000) doğrultusunda elüsyon çözeltilerinin hacimleri düşük olduğu için analiz süresini çok fazla etkilemeyeceğinden optimize koşulu elde etmek için elüsyon çözeltinin akış hızı 1 mL/dk olarak belirlendi. Metal iyonları ve biyokütle arasındaki

etkileşim yetersiz olduğundan dolayı yüksek akış hızlarında geri kazanım verimi düşüktür (Özdemir ve ark. 2013).

Biyosorbentin kısa sürede bozulmasını önlemek için elüasyon çözeltisi olarak seçilen asidin konsantrasyonunun ve hacminin mümkün olduğu kadar düşük olması gerekmektedir. En yüksek geri kazanma veriminin sağlandığı pH ve akış hızı kullanılarak kolonlar hazırlandı. Kolonlarda tutulan Cd (II) iyonunun geri kazanım verimini arttırmak için geri alma çözeltisinin türü, hacmi ve derişiminin etkisi incelendi. Literatürlerde yaygınca kullanılan HCl ve HNO_3 ile çalışma yapıldı (Dogru ve ark 2007, Özdemir ve ark 2010, Tuzen ve ark 2008). Bu amaç doğrultusunda 0.25, 0.5, 1.0 ve 2 M derişimlerindeki HCI ve HNO_3 elüent türleri kullanıldı. Yapılan araştırmada *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD 16 ile hazırlanan kolondan Cd (II) iyonunun geri kazanım veriminin % 98.5±0.2 olarak elde edildiğinden geri almak için 1 M 10 mL HCI kullanılmasına karar verildi. *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi ile hazırlanan kolon da ise Cd (II) iyonunun geri kazanım veriminin % 99.8±0.5 olarak elde edildiği 0.5 M 2 mL HNO_3 kullanıldı. Mendil ve ark. (2008) yaptıkları çalışmada kolondan Cd iyonunu 1M 8 mL HCI ile geri almışlardır. Özdemir ve ark. (2012) çalışmalarında biyosorbent olarak Amberlit XAD-16 ya immobolize ettikleri *Pleurotus eryngii*'i kullanarak hazırladıkları kolondan biyosorbe olan Cd iyonunu geri almak için 1 M 5 mL HCI kullanmışlardır. Saraçoğlu ve Elçi (2002) Chromosorb-102 ile pirolidin ditiyokarbamat kompleksinden hazırlanan küçük kolondan Cd (II) iyonunu kantitatif geri almak için aseton içerisinde 1 M 10 ml HNO_3 kullanmışlardır. Elde edilen sonuçlar ışığında hem biyosorbentin bozulmasını önlemek hem de yüksek zenginleştirme faktörü elde etmek için kullanacağımız elüent derişimi ve hacmi için mümkün olan en düşük değerler kullanıldı (Bağ ve ark. 2000).

Amberlit XAD-16 reçinesi üzerine tutturulmuş ölü *A. caldiproteolyticus* ve *G. stearothermophilus* bakterileri ile hazırlanan biyosorbentler tarafından adsorplanan metal miktarları yani biyosorbentlerin kapasitelerinin belirlenmesi amacıyla içerisinde 25, 125, 250, 500 µg Cd(II) iyonlarını bulunduran pH'sı 6.0 olan 50 mL'lik örnek çözeltiler kolondan geçirildi. İlk kolonun 1 M 10 mL HCI ile ikinci kolonun ise 0.5 M 2 mL HNO_3 ile geri almaları sağlandı. Her iki kolon için; 0.25 g biyosorbent içerisinde bulunan bakteri miktarı 0.05 g olup, bakterinin adsorpladığı maksimum Cd (II) miktarı 3.5 mg/g olarak gözlemlendi. Dogru ve ark. (2007) *Bacillus subtilis* ile Amberlit XAD-

4 reçinesi tutturularak hazırlanan kolonun Cd (II) iyonun biyosorpsiyon kapasitesini 3.93 mg/g olarak bulmuşlardır. Yıldız ve ark. (2013) immobolize ettikleri *Streptomyces albus*'un Cd (II) iyonunun biyosorpsiyon kapasitesini 5.48 mg/g olarak belirlemişlerdir. Mendil ve ark. (2008[a]) araştırmalarında Chromosorb 101 reçinesine immobilize edilmiş *Bacillus thuringiensis var. israelensis*'u ile hazırlanan kolonun Cd (II) iyonunun biyosorpsiyon kapasitesinin 8.90 mg/g olarak bulmuşlardır. Mendil ve ark. (2008[b]) *Penicillium italicum* ile Sepabeads SP 70 tutturulduğunda Cd (II) iyonun biyosorpsiyon kapasitesinin 7.39 mg/g olarak tespit etmişlerdir.

Eser elementler gerçek örneklerde çok düşük konsantrasyonlarda bulunduklarından tayin edilebilmeleri için zenginleştirme faktörünün olabildiğince yüksek olması gerekir. Bu da ancak yüksek örnek hacimlerinin kullanımıyla mümkün olmaktadır (Yıldız ve ark. 2011). Optimize edilen şartlarda örnek hacminin geri kazanımlar üzerine olan etkisinin incelenmesi için 50, 100, 250, 500, 750 ve 1000 mL'lik çözeltiler her iki kolondan geçirildi. Kolon dolgu maddesi olarak içerisinde *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 hazırlanmış kolon için örnek çözelti hacmi 750 mL Cd (II) nicel olarak ($\geq$ 97) biyosorbe oldu, 1000 mL örnek hacminde ise biyosorpsiyon veriminde Şekil 4.13'te olduğu gibi azalma olduğu gözlemlendi. Geri alma işlemi 10 mL ile gerçekleştiğinden dolayı zenginleştirme faktörü 75 olarak belirlendi. Kolon dolgu maddesi olarak içerisinde *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 kolonunda örnek çözelti hacmi 500 mL Cd (II) iyonu kantitatif ($\geq$ 97) geri alınabildi. 500 mL'den daha yüksek hacimlerde ise geri alma yüzdelerinin düştüğü gözlemlendi. Sonuçlar Şekil 4.22'de gösterildi. Geri alma işlemleri 0.5 M 2 mL HNO_3 ile gerçekleştirildiğinden dolayı zenginleştirme faktörü 250 olarak belirlendi. Mendil ve ark. (2008[a]) araştırmalarında Cd (II) iyonunun zenginleştirme faktörünü 31 olarak bulmuşlardır. 8.90 mg/g olarak bulmuşlardır. Mendil ve ark. (2008[b]) *Penicillium italicum* ile Sepabeads SP 70 tutturulduğunda Cd (II) iyonun zenginleştirme faktörünü 25 olarak belirlemişlerdir. Çamuroğlu (2014) araştırmasında *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 üzerinde Cd(II) iyonunun zenginleştirme faktörünü 50 olarak bulmuştur. Yıldız ve ark. (2013) yaptıkları çalışmada Cd (II) iyonunun zenginleştirme faktörünü 25 olarak tespit etmiştir. Dogru ve ark. (2007) çalışmalarında Cd(II) iyonun zenginleştirme faktörünü 50

olarak tespit etmişlerdir. Özdemir ve ark. (2007) çalışmalarında Cd (II) iyonunun zenginleştirme faktörünü 100 olarak gözlemlemişlerdir.

Kolon dolgu maddesi olarak içerisinde *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçine bulunan kolonun tekrar tekrar kullanıldığında bile aynı kararlılıkta doğru sonuçlar vermesi modifiye ettiğimiz biyosorbent miktarı için önemli bir faktördür. Şekil 4.15'te görüldüğü gibi biyosorbentin yaklaşık 60 defa kullanımına kadar geri kazanım verimlerinde değişimin olmadığı görüldü ve adsorbanın tekrar tekrar kullanılabileceği sonucuna varıldı. Şekil 4.24 incelendiğinde ise *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 kolonunun ise yaklaşık olarak 75 defa kullanıldığında geri kazanım veriminin değişmediği görüldü. Çamuroğlu (2014) araştırmasında *Mucor pusillus* immobilize edilmiş Amberlit XAD-4 kolonun yaklaşık olarak 40 defa kullanılabileceğini belirlemiştir. Bağ ve ark. (2000) hazırladıkları kolonun 20 defa kullanılabileceğini bulmuşlardır. Özdemir ve ark. (2007) yaptıkları çalışmada kullandıkları kolonun 20 defa kullanılabileceğini tespit etmişlerdir.

Geliştirdiğimiz katı-faz ekstraksiyon yöntemleri ile zenginleştirilen Cd(II) iyonlarının geri kazanımına FAAS ile tayinlerde girişim yaptığı düşünülen ve gerçek numune ortamında bulunabilecek olan Na^{+}, K^{+}, Ca^{++} ile Cl^{-} gibi iyonların etkisi araştırıldı. Kolon dolgu maddesi olarak içerisinde *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi bulunan kolon için Cd(II) iyonunun geri kazanımı üzerine yabancı iyonların etkisi Çizelge 4.5'te gösterildi. Çizelge 4.5 incelendiğinde Cd (II) iyonu bulunan matriks ortamında Cl^{-} iyonu konsantrasyon 100 mg/L'ye, Na^{+}, K^{+} 50 mg/L ve Ca^{++} iyonu için ise 25 mg/L 'ye kadar geri kazanım veriminde düşme olmazken bu konsantrasyonlardan sonra geri kazanım verimlerinde azalma olduğu tespit edildi. *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 kolonundan geçirilen çözeltiler ile ilgili sonuçlar 4.13'te verildi. Bu sonuçlara K^{+}, Na^{+} ve CI^{-} iyonları konsantrasyonu 100 mg/L'ye, Ca^{++} 25 mg/L'ye kadar kantitatif ($\geq$ 95) bir kazanım gözlenirken, bu konsantrasyonlardan sonra geri kazanım verimlerinde azalma olduğu gözlendi.

Belirlenen en uygun şartlarda (pH, akış hızı, geri alma çözeltisinin türü, derişim ve hacmi, örnek çözeltisinin hacmi gibi) kadmiyum için geri kazanma veriminin tekrarlanabilirliği incelendi. Böylece yöntemin kesinliği belirlendi. Yöntemin optimum

şartlarda 5 tekrar deneyi için geri kazanma veriminin tekrarlanabilirliği (kesinliği), % 95 güven seviyesinde *A. caldiproteolyticus* ve *G. stearothermophilus* ile ayrı ayrı immobilize edilen Amberlit XAD-16 için sırasıyla 98.23± 2.40 bağıl standart sapma değeri % 1.96 ve 98.93 ±1.3 bağıl standart sapma değeri ise % 1.05 olarak tespit edildi.

Geliştirilen zenginleştirme yönteminin hem doğruluğunu incelemek hem de uygulanabilirliğini göstermek amacıyla yöntemlerimiz standart referans maddeye (SCP SCIENCE EnviroMAT Waste Water, Low (EU-L-2)) uygulandı. Sonuçlar Çizelge 4.7 ile 4. 15'te gösterildi. Her iki biyosorbent için bulunan sonuçlar sertifika değerleri ile uyumludur. Elde edilen sonuçlar yöntemin uygulanabilir olduğunu göstermektedir

Geliştirilen zenginleştirme yönteminde *A. caldiproteolyticus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçine bulunan kolondan, gerçek numune olarak Dicle Nehri, Hazar Gölü ve Diyarbakır iline ait içme suyu geçirildi. Çizelge 4.8 incelendiğinde Dicle Nehri için 86.10±1.73 µg/L, Hazar Gölü, 405.15±2.17 ve içme suyu 802.19±2.51 şeklinde belirlendi. Bağıl standart sapma değerleri sırasıyla; % 1.61, % 1.75 ve % 0.25 olarak belirlendi. *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 kolonundan geçirilen aynı gerçek numuneler geçirdi. Çizelge 4.16'te görüldüğü gibi Dicle Nehri için 95.32±2.56 µg/L, Hazar Gölü, 522.30±2.67 µg/L ve içme suyu 576.46±3.52 µg/L olarak tespit edildi. Bağıl standart sapma değerleri ise sırasıyla % 2.16, % 0.4 ve % 0.5 olduğu görüldü.

A. caldiproteolyticus ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 reçinesi kullanılarak geliştirlen metotta gözlenebilme ve tayin sınır sırasıyla 1.589 µg/L ve 5.298 µg/L olarak tespit edilmiştir. *G. stearothermophilus* ile modifiye edilmiş Amberlit XAD-16 ile hazırlanan kolondan geliştirilen yöntemde gözlenebilme sınırı 0.9, tayin sınırı ise 3.0 olarak bulundu. Özdemir ve ark. (2010) yaptıkları çalışmada *Geobacillus thermoleovorans* subsp. *Stromboliensis*'i ile Amberlit XAD-4 üzerine immobilize ederek geliştirdikleri metdun LOD'yi 0.24, Mendil ve ark. (2008) ise çalışmalarında LOD'yi 0.41 ve Yıldız ve ark. (2013) araştırmalarında LOD'yi 53 olarak belilemişleridir.

6. KAYNAKLAR

Agüloğlu Fincan, S., Enez, B., Özdemir, S., Matpan Bekler, F. 2014. Purification and characterization of thermostable α-amylase fromthermophilic *Anoxybacillus flavithermus*. ***Carbohydr Polym***, 102:144-150.

Agüloğlu, S., Ensari, N.Y., Uyar, F., Otludil, B. (2000). The effects of aminoacids on production and transport of α-amylase through bacterial membranes. ***Starch/Starke*** 52: 290-295.

Ahalya, N., Ramachandra, T.V., Kanamadi, R.D. 2003. Biosorption of Heavy Metals. ***Res J Chem Environ*** 7 (4): 71-79.

Aksoy, Z. 2011. *Anoxybacillus* Sp. So-B1 ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Kullanılarak Cu(II) İyonunun Biyosorpsiyonu ve Önderiştirilmesi.Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Aydın, F. 2008. Birlikte Çöktürme ve Katı Faz Özütlemesi ile Bazı Ağır Metal İyonlarının Zenginleştirilmeleri. Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri

Aygün, S. 1988. Atomik Spektroskopi, Karadeniz Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Trabzon.

Bag, H., Lale, M., Türker, A.R. 1998. Determination of Iron and Nickel by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry After Preconcentration on *Saccharomyces Cerevisiae* İmmobilized Sepiolite. ***Talanta***, 47: 689-696.

Bag, H., Turker A. R., Lale, M. 2000. Determination of Cu, Zn, Fe, Ni and Cd by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry After Preconcentration by *Escherichia Coli* İmmobilized Sepiolite. ***Talanta***,51: 895-902.

Bag, H., Turker, A.R., Lale, M. 1999. Determination of trace metals in geological samples by atomic absorption spectrophotometry after preconcentration by A*spergillus niger* immobilized on sepiolite. ***Anal Sci***, 15 (12): 1251-1256.

Baytak, S. 2003. Mn(II), Co(II), Fe(III) ve Cr(III) İyonlarının Mikroorganizma Tutturulmuş Amberlit XAD-4 Kullanılarak Katı Faz Özütleme Tekniği ile Zenginleştirilme şartlarının Araştırılması ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi ile Tayini. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Baytak, S., Türker, A.R. 2004. Flame atomic absorption spectrometric determination of manganese in alloys after preconcentration onto Amberlite XAD-4 loaded with *Saccharomyces carlsbergensis*. ***Turk J Chem*** 28(2): 243-254.

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. ***J Hazard Material*** 153: 975–983.

Blais,F., Tyagi,R.O., AucIair, C. 1993. Bioleaching of metals from sewage sludge: Effects of temperattire. ***Water Res***, 27 (1): 111-120 .

Bozanta, E., Ökmen, G. 2011. Biyosorpsiyon ve Mikroorganizmalar. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi 4 (2): 69-77.

Burcu Anılan. Bakır ve Kadmiyumun Dimetilglioksim-Modifiye Silikajel ile Katı Faz Ekstraksiyonu Yöntemi Kullanılarak Önderistirilmesi ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi ile Tayini. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

Calace, N., Nardi, E., Petronio, B.M., Pietroletti, M., Tosti, G. 2003. Metal Ion Removal From Water by Sorption on Paper Mill Sludge. ***Cehemosphere***, 51 (9):797-803.

Camel, V. 2003. Solid phase extraction of trace elements. ***Spectrochim Acta Part B***, 58: 1177-1233.

Can, O.T. 2002. Alüminyum Elektrotlar Kullanılarak Tekstil Atık su ve Boyalarının Elektrokoagülasyon ile Arıtımı. Yüksek Lisans Tezi, Gebze İleri teknoloji Ensititüsü Mühendisliği Fen Bilimleri Ensitütüsü, Gebze.

Caner B. 2006. Amberlit XAD-7 Reçinesi ile Metal Zenginleştirilmesi ve AAS Le Tayinleri. Yüksek Lisans, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Ceribasi, I.H., Yetis, U. 2001. Biosorption of Ni(II) and Pb(II) by *Phanerochaete chrysosporium* from a binary metal system – kinetics. ***Water SA***, 27: 15-20.

Chatterjee, N. 2006. Biosorption of cadmium by fungi. ***Master Sci Biotechnol***. Department Of Biotechnology & Environmental Sciences. Thapar Institute of Engineering and Technology. Patiala

Chojnacka, K. 2010. "Biosorption and bioaccumulation– the prospects for practical applications". ***Environ Int,*** 36: 299-307.

Chong, K.H., Volesky, B. 1995. Description of two-metal biosorption equilibria by Langmuir-type models. ***Biotechnol Bioeng***, 47: 1-10.

Coleri Cihan, Arzu. 2013. Taxonomic Classification of Anoxybacillus Isolates from Geothermal Regions in Turkey by 16S rRNA Gene Sequences and ARDRA, ITS-PCR, Rep-PCR Analyses. ***Pol J Microbiol*** 62 (2): 149-163.

Costa, A.C.A., Leite, S.G.F. 1991. Metal biosorption by sodium alginate immobilized *Chlorella homosphaera****. BiotechnoI Lett***, 13 (8): 559-562.

Çalışır, F. 2008. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinde Bazı Eser Elementlerin Tayin Öncesi Çeşitli Yöntemlerle Ayrılması ve Zenginleştirilmesi. Doktora Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Dalman, Ö. 2003. Yeni Bir Reaktif Kullanarak Doğrudan ve Katı Faz Ekstraksiyonu ile Bakır(II)'nin Kantitatif Tayini. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Demirbaş, Ö. 2001. Viktorya mavisinin perlit yüzeyine adsorpsiyonu. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.

Deniz, C. 2010. Ağır Metal ve Renk İçeren Atık Suların Gideriminin Adsorpsiyon/Biyosorpsiyon Yöntemleriyle Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Sivas.

Derrell, R.V. 1997. Trace Elements Human Nutrition, Micronitruents in Agriculture, SSSA Book Series:4, USA

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. ***J Hazard***, 149 (1): 166-173.

Duran, C. 2000. Bazı Eser Elementlerin XAD-2000 Reçinesinde Zenginleştirildikten Sonra AAS ile Analizleri. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon.

Duran, C., Bulut, V.N., Gundogdu, A., Soylak. M., Belduz A.O., Beris, F.S. 2009. Biosorption of Heavy Metals by Anoxybacillus gonensis Immobilized on Diaion HP-2MG. ***Sep Sci Technol*** 44: 335-358,

Efendioğlu, A. 2010. N,Ń-Bis(O-Vaniliniden) Etilendiamin ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-4 Reçinesinin Sentezi ve Eser Metallerin Tayininde Kullanılması. . Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Enez, B. 2011. *Geobacillus Stearothermophilus'*tan Ekstraselüler α-Amilaz Enziminin İzolasyonu, Saflaştırılması ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Erdem Şener, 2002. Atık sulardaki bakır ve kromun dolgulu kolonlarda adsorpsiyon yoluyla giderimi. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Eşer, S. 2012. *Salinivibrio Sharmensis* Tutturulmuş Amberlit XAD-4 Kullanarak Katı Faz Ekstraksiyonu İle Cd(II) ve Ni(II) İyonlarının FAAS ile Tayini..Dicle Üniveristesi. Yüksek Lisans

Forster, C., F., Wase, D.A.J. 1997. Biosorbents for Metal Ions. London, UK:CRC Press, 1-9.

Gadd, G.M., Griffits A. 1978. Microorganisms and heavy metal toxicity, ***Microb. Ecol***, 4: 303-317.

Galaris, D., Evangelou, A. 2002. The role of oxidative stress in mechanisms of metal induced carcinogenesis. ***Crit Rev Onc/Hem***, 42: 93-103.

Ghaedi, M. Karami, B. Ehsani, Sh. Marahel, F. Soylak, M. 2009. Preconcentration–separation of Co^{2+}, Ni^{2+}, $Cu^{2+}$and Cd^{2+} in real samples by solid phase extraction of a calix[4] resorcinarene modified Amberlite XAD-16 resin. ***J Hazard Mater***, 172 (2-3): 802-808.

Göksungur, Y., Üren, S., Guvenc, U., 2003. "Biosorption of Copper Ions by Caustic Treated Waste BakerS Yeast Biomass". ***Turk J Biol***, 27: 23-29.

Göllü Özcan, S. 2010. Karbon Nanotüpler Kullanılarak Metal İyonlarının Katı-Faz Ekstraksiyonu ve Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometresi İle Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Guo, Y., Din, B., Liu, Y., Chang, X., Meng S., Liu, J. 2004. Preconcentration and Determination of Trace Elements with 2-Aminoacetylthiophenol Functionalized Amberlite XAD-2 by İnductively Coupled Plasma-Atomic Emission Spectrometry. ***Talanta***, 62: 209-215.

Güven, G., Demir, M., Başbülbül, G. 2011. Preconcentration and separation of copper, zinc and lead ions on *Geobacillus stearothermophilus* DSMZ 22 loaded on silica gel. ***J Food Agric Environ***, 9 (2) : 60 -611.

Ho, Y.S., Wang, C.C. 2004. Pseudo-Ishotherms for The Sorption of Cadmium lons Onto Tree Fern. ***Process Bioehem***, 39: 759-763.

Itoh, K., Toba, T., Itoh, T., Adachi, S. 1993. Properties of β-galactosidase of *Lactobacillus kefiranofaciens* K–1 isolated from kefir grains. Lett Appl Microbiol, 15: 232-234.

İnce, M. 2005. Ultra eser düzeydeki ağır metallerin Amberlite-XAD ile önderiştirilmesi ve atomik absorpsiyon spektrofotometresiyle tayini. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Kahvecioğlu, Ö., Kartal, G., Güven, A., Timur, S. 2003. Metallerin Çevresel Etkileri-I, ***Metalurji Derg,*** 136: 47-53.

Kantipuly, C., Katragadda, S., Chow, A., Gesser, H.D. 1990. Chelating polymers and related supports for separation and preconcentration of trace metals, ***Talanta***, 37: 491-517.

Karadağ, A. 2008. Endüstriyel atık sulardan bazı metal iyonlarının biyoadsorbent kullanarak giderimi. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Balıkesir.

Karadaş, C., Kara, D. 2013. "On-line preconcentration and determination of trace elements in waters and reference cereal materials by flow injection FAAS using newly synthesized 8-hydroxy-2-quinoline carboxaldehyde functionalized Amberlite XAD-4". ***J Food Comp Anal***, 321: 90-98.

Karpuzcu, M. 2005. "Su temini ve çevre sağlığı". ***Kubbealti yayıncılık***, İstanbul, 39: 42.

Kenduzler, E., Turker, A.R. 2003. Atomic absorption spectrophotometric determination of trace copper in waters, aluminium foil and tea samples after preconcentration with 1-nitrosa -2-naphthol -3,6- disulfonic acid on Ambersorb 572. ***Analytica Chimica Acta***, 480: 259-266.

Kılınç, Ersin., Dündar, A., Özdemir. S., Okumus, V. 2013. Solid Phase Extraction Based on the Use of *Agaricus arvensis* as a Fungal Biomass for the Peconcentrations of Pb and Al Prior to Their Determination in Vegetables by ICP-OES. ***Atomic spekt***, 34:(3).

Kınacı, C., Öztürk, İ. 1989. Membran proseslerinin çevre biyoteknolojisinde kullanım esasları. Beşinci Bilimsel ve Teknik Çevre Kongresi, S, 831-840.

Kırış, T. 2012. Bazı Eser Elementlerin Katı-Faz Ekstraksiyonu ile Zenginleştirilmesi ve ASS ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Gaziosman Paşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.

Kim, W.J. Rajagopal, S.N. 2000. Isolation and Characterization of β-galactosidases from Lactobacillus crispatu. ***Folia Microbiol***, 45 (1): 29-34.

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

Liang, P., Liu, Y., Guo, L., Zeng, J., Lu, H. 2004. Multiwalled carbon nanotubes as solid-phase extraction adsorbent for the preconcentration of trace metal ions and their determination by

inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. ***J Anal Atomic Spectrom***, 19: 1489-1492.

Li, L., Hu, B., Xia, L., Jiang, Z. 2006. Determination of trace Cd and Pb in environmental and biological samples by ETV-ICP-MS after single-drop microextraction. ***Talanta***, 70 (2): 468-473.

Liska, I. 2000. Fifty years of solid-phase extraction in water analysis-historical development and overview. ***J Chromatogr A***, 885: 3-16.

Liu, Y., Chang, X., Guo, Y., Meng, S. 2006. Biosorption and preconcentration of lead and cadmium on waste Chinese herb Pang Da Hai. ***J Hazard Mater B***, 135: 389-394.

Madrid, Y., Camara, C., 1997. Biological substrates for metal preconcentration and speciation. ***Trends Analy Chem***, 16: 36-44.

Mendil, D. Tuzen, M. Usta, C. Soylak, M. 2008. *Bacillus thuringiensis var israelensis* immobilized on Chromosorb 101: a new solid phase extractant for preconcentration of heavy metal ions in environmental samples. ***J Hazard Mater*** 150 (2): 357-63.

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. ***J Hazard Mater***, 152: 1171-1178.

Müller, L. 1991. Consequences of cadmium toxicity in rat hepatocytes: mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation. ***Toxicol***, 67: 285-92.

Nies DH. 1991. Microbial heavy-metal resistance. ***Appl Microbiol Biotechnol***, 51:730-50.

Okumuş, V., Özdemir, S., Kılınç, E., Dündar, A., Yüksel, U., Baysal, Z. 2015. Preconcentration with *Bacillus subtilis*–Immobilized Amberlite XAD-16: Determination of Cu^{2+} and Ni^{2+} in River, Soil, and Vegetable Samples. ***Biorem J*** 19: 1.

Onat, R. 2011. *Anoxybacillus Sp*. So_B1 Bakterisi ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Reçinesi Kullanılarak ve Pb(II)'nin Biyosorpsiyonu, Önderiştirilmesi ve AAS İle Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Orhan, Y. 1996. Poliolefinlerin Degredasyonu. Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Samsun.

Orhan, Y., Büyükgüngör, H. 1993. The Removal of Heavy Metals by Using Agricultural Wastes. ***Wat Sci Tech***, 28 (2):247-255.

Özdemir, S. 2009. Ağır Metallerin Değişik Termofilik Bakterilerdeki Akümülasyonu, Biyosorbsiyonu ve Çevre Biyoteknolojisinde Kullanımı Üzerine Çalışmalar. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Özdemir, S., Gul-Guven, R. Kilinc, E., Dogru, M., Erdogan S. 2010. Preconcentration of cadmium and nickel using the bioadsorbent *Geobacillus thermoleovorans* subsp. stromboliensis immobilized on Amberlite XAD-4. ***Microchim Acta***, 169:79-85.

Ozdemir, S., Erdogan, S., Kilinc E. 2010. *Bacillus* sp. immobilized on Amberlite XAD-4 resin as a biosorbent for solid phase extraction of thorium prior to UV-vis spectrometry determination. ***Microchim Acta***, 171: 275-281.

Ozdemir, S., Kilinc, Ersin. 2012. *Geobacillus thermoleovorans* immobilized on Amberlite XAD-4 resin as a biosorbent for solid phase extraction of uranium(VI) prior to its spectrophotometric determination. ***Microchim Acta***178: 389–397.

Özdemir, S., Okumus, V., Kılınc, E., Bilgetekin, H., Dündar, A., Ziyadanoğulları, B. 2012. Pleurotus eryngii immobilized AmberliteXAD-16 as a solid-phasebiosorbent for preconcentrations of Cd^{2+} and Co^{2+} and theirdeterminationbyICP-OES. ***Talanta***, 99: 502-506.

Özdemir, S., Okumuş, V., Dündar, A. Kılınç, E. 2013. Preconcentration of metal ions using microbacteria. ***Microchim Acta***, 180: 719–739.

Özdemir, S., Okumuş,V., Dündar, A., Çelik, K.S., Yüksel, U., Kılınç, E. 2013. Selective preconcentration of Lanthanum(III) by Coriolus versicolor immobilised on Amberlite XAD-4 and its determination by ICP-OES. ***Intern J Environ Anal Chem***.

Özvardarlı, A. 2006. Çevre biyoteknolojisi uygulamalarında biyosorpsiyonun yeri. Yüksek Lisans Tezi, Çevre Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Çorlu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Çorlu.

Robles, L.C., Aller, A.J. 1995. Determination of cadmium in biological and environmental samples by slurry electrothermal atomic absorption spectrometry. ***Talanta***, 42: 1731.

Saraçoglu, S., Elçi, L. 2002. Column solid-phase extraction with Chromosorb-102 resin and determination of trace elements in water and sediment samples by flame atomic absorption spectrometry. ***Anal Chimica Acta***, 452 (1): 77-83.

Saygı K.Ö. 2010. Katı Faz Ekstraksiyonu ve Birlikte Çöktürme ile Bazı Metal İyonlarının Zenginleştirilmesi ve Türlendirilmesi. Doktora Tezi, Gaziosmanpaşa Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.

Soylak, M., Elçi, L., Doğan, M. 2001. Solid Phase Extraction of Trace metal ions with Amberlite XAD resins prior to Atomic Absorption Spectrometric Analysis. ***J Trace Microprobe Tech***, 19: 329-344.

Soylak, M., Karatepe, A.U., Elçi, L., Doğan, M. 2003. Column preconcentration/separation and atomic absorption spectrometric determinations of some heavy metals in table salt samples using amberlite XAD-1180. ***T J Chem***, 27 (2): 235-242.

Soylak, M., Topalak, Z. 2014. Multiwalled carbon nanotube impregnated with tartrazine: Solid phase extractant for Cd(II) and Pb(II). ***J Ind Eng Chem***, 20: 581-585.

Soylak, M., Unsal, Y.E., Kizil, N., Aydin, A. 2010. Utilization of membrane filtration for preconcentration and determination of Cu(II) and Pb(II) in food, water and geological samples by atomic absorption spectrometry. ***Food ChemToxicol***, 48(2): 517-521.

Soysal, S.E. 2009. Katı Destek Üzerine İmmobilize Edilmiş Bazı Bakteriler ile Ağır Metal İyonlarının Ayırma ve Deriştirme Şartlarının Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.

Steven, P.C.S., ve Ryan, W.D. 2002. "Cadmium removal using Cladophara in batch, semi batch and flow reactors" .***Biosour Technol***, 81(3): 249-55.

Stohs, S.J., Bagchi, D. 1995. Oxidative mechanisms in the toxicity of metal ions. ***Free Radic Biol Med***, 18: 321-36.

Şengül, F., Müezzinoğlu, A. 1993. Çevre Kimyası, D.E.Ü. Mühendislik Fakültesi Yayınları, İzmir.

Ting, Y.P., Lawson, F., Prince, I.G. 1989. "Uptake of Cadmium and Zinc by the Alga Chlorella vulgaris". ***Biotech Bioeng***, 34: 990-999.

Tokalioğlu, Ş., Kartal, Ş., Elçi, L. 1994. "Determination Of Copper, Cadmium, Lead And Bismuth In High-Purity Zinc Metal Samples By Atomic-Absorption Spectrometry After Preconcentration Using Amberlite Xad-1180 Resin", ***Anal Sci***, 10: 779-782.

Tokalioğlu, Ş., Kartal, Ş., Elçi, L. 2000. "Speciation And Determination Of Heavy Metals In Lake Waters By Atomic Absorption Spectrometry After Sorption On Amberlite Xad-16 Resin". ***Anal Sci***, 16: 1169-1174,

Topbaş, M.T., Brohira,R.A., Karaman, R.M. 1998. Çevre Kirliliği. T.C. Çevre Bakanlığı, Ankara

Tsezos, M., Volesky, B. 1981. Biosorption of uranium and thorium. ***Biotechnol Bioeng***, 23: 583-604.

Turker, A.R., Tunceli, A. 2000. Flame Atomic Absorption Spectrometric Determination of Silver After Preconcentration on Amberlite XAD-16 Resin From Thiocyanate Solution. ***Talanta***, 51, 889-894.

Tuzen, M., Soylak, M.. 2009. Column solid-phase extraction of nickel and silver in environmental samples prior to their flame atomic absorption spectrometric determinations. ***J Hazard Mater***, 164: 1428-1432.

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. ***J Hazard Mater***, 159: 335-341.

Tuzen, M. Saygi, K.O. Usta, C. Soylak, M. 2008. *Pseudomonas aeruginosa* immobilized multiwalled carbon nanotubes as biosorbent for heavy metal ions. ***Bioresour Technol***, 99 (6): 1563-1570.

Tuzen, M., Uluozlu, O.D., Usta, C., Soylak, M. 2007. Biosorption of copper(II), lead(II), iron(III) and cobalt(II) on *Bacillus sphaericus*-loaded Diaion SP-850 resin. ***Anal Chim Acta***, 581: 241–246

Tuzen, M., Parlar, K., Soylak, M. 2005. Enchment/seperation of cadmium(II) and lead(II) in environmental samples by solid phase extraction. ***J Hazard Mater***, 121 (1-3): 79-87.

Tünay, O. 1996. Endüstriyel Kirlenme Kontrolü, İ.T.Ü. İnşaat Fakültesi Matbaası, İstanbul

Uluozlu, O.D., Tuzen, M., Mendil, D., Soylak., M. 2010. Determination of As(III) and As(V) species in some natural water and food samples by solid-phase extraction on *Streptococcus pyogenes* immobilized on Sepabeads SP 70 and hydride generation atomic absorption spectrometry. ***Food Chem Toxicol*** 48:1393-1398.

Varhan Oral, E. 2009. 1,6-Bis(2-Karboksi Aldehit Fenoksi)Bütan ile Modifiye Edilmiş Amberlit XAD-16 Reçinesinden Yararlanılarak Kurşun, Kadmiyum, Çinko, Bakır ve Nikel İyonlarının Önderiştirilmeleri ve Çözeltiden Ayrılmalarının İncelenmesi. Doktora Tezi, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır.

Varhan Oral, E., Ozdemir, S., Ibrahim Dolak, Okumus, V ., Dundar, A. , Ziyadanoğulları, B., Aksoy, Z., Onat, R . 2015. *Anoxybacillus* sp. SO B1–Immobilized Amberlite XAD-16 for Solid-Phase Preconcentration of Cu(II) and Pb(II) and Their Determinations by Flame Atomic Absorption Spectrometry**. *Biorem J,***19(2):139-150.

Vegliò, F., Beolchini, F. 1997. Removal of metals by biosorption: a review. ***Hydrometallurgy***, 44: 301–16.

Venkatesh, G., Singh, A.K. 2005. 2-{[1-(3,4-Dihidroxyphenyl) methylidene] amino} Benzoic Acid İmmobilized Amberlite XAD-16 as Metal Extractant. ***Talanta***, 67: 187-194.

Vieira, H.S.F., Volesky, B. 2000. "Biosorption: a solution to pollution". ***Int Microbiol***, 3:17-24.

Vijayaraghavan, K., Yun, Y.S. 2008. Bacterial biosorbents and biosorption, ***Biotechnol Adv*** 26: 266-291.

Volesky B. 1987. Biosorbents for metal recovery. ***TIBTECH***, 5: 96-101.

Volesky, B. 1986. Biosorbent Materials. ***Biotechnoi Bioeng Symp***, 16: 121-126.

Volesky, B., Schiewer, S. 1999. Biosorption of metals. In: FlickingerM, DrewSW, editors. Encyclopedia of Bioprocess Technology. New York, 433-53.

Wilde, E.W., Benamann, J.R. 1993. Bioremoval of heavy metals by the use of micro algae, ***Biotehnol Adv***, 11: 781-812.

Wong, P.K., Kwok, S.C. 1992. Accumulation of nickel ion (Ni^{+2}) by imııobilized ceIls of Enterobacter species. ***Biotechnol Lett***, 14 (7): 629-634.

Xie, F., Lin, X., Wu, X., Xie, Zenghong. 2008. Solid phase extraction of lead (II), copper (II), cadmium (II) and nickel (II) using gallic acid-modified silica gel prior to determination by flame atomic absorption spectrometry. ***Talanta***, 74: 836-843.

Yalçın, H. 2010. Eser Miktarda Nikel Tayini için Yeni Katı Faz Ekstraksiyon Metodu. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.

Yildiz, O., Citak, D., Tuzen M., Soylak, M. 2011. Determination of Copper, Lead and Iron in Water and Food Samples after Column Solid Phase Extraction Using 1-Phenylthiosemicarbazide on Dowex Optipore L-493 Resin. ***Food ChemToxicol***, 49: 458-463.

Yildiz, D., Kula, I., Şahin, N. 2013. Preconcentration and Determination of Cd, Zn and Ni by Flame Atomic Absorption Spectrophotometry by Using Microorganism *Streptomyces Albus* Immobilized on Sepiolite. ***Eurasian J Anal Chem***, 8 (3): 112-122.

Yıldırım, N. 2004. Farklı Konsantrasyonlarda Kadmiyumun Beyaz Çürükçül Fungus *Phanerochaete chrysosporium*' un Antioksidatif Enzim Aktiviteleri ve Glutatyon Seviyesi Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.

Yılmaz, V. 2006. Amberl_Te Xad-1180/Tan Selat Yapıcı Reçinesi ile Katı Faz Ekstraksiyonu Sonrası Bazı Eser Metallerin FAAS ile Tayini. Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Kayseri.

Yu, D.W., Jing, F., Stephan, S.L., Rao, K.M.K. 2004. Cadmium inhibits the electron transfer chain and induces reactive oxygen species. ***Free Radic Biol Med***, 36: 1434-1443.

Zhang, L., Li, Z., Du, X., Li, R., Chang, X. 2012. " Simultaneous separation and preconcentration of Cr(III), Cu(II), Cd(II) and Pb(II) from environmental samples prior to inductively coupled plasma optical emission spectrometric determination". ***Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc,*** 86: 443-448.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Barış ENEZ

Doğum Yeri : DİYARBAKIR

Doğum Tarihi : 12.12. 1985

E-Mail : benez47@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Fatih Lisesi (Süper Lise) 1999–2003

Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü 2004–2008

Yüksek Lisans : Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı 2009- 2011

Doktora: Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı 2011- 2015