T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİTANYUM DİOKSİT (TiO_2) NANOPARTİKÜLLERE TUTTURULMUŞ *Koliform* İLE KURŞUNUN AYRILMASI/ZENGİNLEŞTİRİLMESİ VE ALEVLİ ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRESİ İLE TAYİNİ

Gökhan UÇAR

KİMYA ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Yasemin BAKIRCIOĞLU KURTULUŞ

EDİRNE-2011

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TİTANYUM DİOKSİT (TiO_2) NANOPARTİKÜLLERE TUTTURULMUŞ *Koliform* İLE KURŞUNUN AYRILMASI/ZENGİNLEŞTİRİLMESİ VE ALEVLİ ATOMİK ABSORPSİYON SPEKTROMETRESİ İLE TAYİNİ

Gökhan UÇAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

KİMYA ANABİLİM DALI

Bu tez 06 / 10 / 2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Selçuk YURTSEVER

Yrd. Doç. Dr. Yıldız KALEBAŞI AKTAŞ

Doç. Dr. Yasemin BAKIRCIOĞLU KURTULUŞ

(Danışman)

ÖZET

Alevli atomik absorpsiyon spektrometresi (FAAS) çeşitli numunelerdeki eser elementlerin tayininde kullanılan çok popüler yöntemlerden biridir. Fakat FAAS ile eser elementlerin direkt olarak tespitinde, tayin sınırı ve duyarlılığı düzeltmek için ayırma/zenginleştirme yöntemlerinin kullanımını gerektirir. Sıvı-sıvı ekstraksiyonu, birlikte çökme, uçurma, iyon değiştirme, elektroanalitik zenginleştirme, bulut noktası ekstraksiyonu ve katı faz ekstraksiyonu gibi çeşitli ayırma/zenginleştirme teknikleri bu amaçla kullanılmaktadır. Kullanılan bu teknikler arasında, adsorpsiyon yüksek zenginleştirme faktörü, yüksek verim, hızlı faz ayırımı, düşük maliyet, az organik çözelti tüketimi gibi ve on-line (sürekli) ya da off-line (sürekli olmayan) sistemlerle birlikte kullanılabilmesi gibi avantajlarından dolayı çok geniş anlamda kullanılan tekniklerden birisidir. Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrelerinin sürekli akış enjeksiyonu, sürekli olamayan sistemlere göre çeşitli avantajlara sahiptir: yüksek numune verimi, yüksek zenginleştirme faktörü, düşük numune ve reaktif tüketimi, daha iyi kesinlilik, düşük kontaminasyon ve kolaylıkla otomizasyon gibi. Son yıllarda, bakteri, alg, maya ve mantar gibi biyolojik materyaller, iyi performans ve kantitatif olarak fazla bulunabilirlik, metal iyonlarını seçici olarak adsorbe etme, çeşitli çevre şartlarına geniş anlamda uygulanabilirlik (pH, iyonik kuvvet, sıcaklık), düşük maliyet, bol bulunabilirlik, biyosorbentin tekrar-tekrar kullanımı ve mikroorganizmaların büyük yüzey alanından dolayı yüksek biyosorpsiyon kapasitesi gibi özelliklerinden dolayı ağır metallerin ayrılması/zenginleştirilmesinde kullanılmaktadır. Silika jel, karbon nanotüpler, aktif karbon ve zeolitler gibi çeşitli destek materyaller biyomataryelleri immobilize etmek amacıyla önerilmekte ve kullanılmaktadır. İmmobilize edilmiş hücre sistemleri serbest hücrelere göre çeşitli avantajlara sahiptirler: biyokütlenin tekrar kullanılabilirliği, mükemmel kararlılık ve çözeltiden hücrelerin kolay ayrılması gibi.

Bu çalışmada, Edirne Sağlık İl Müdürlüğü, Halk Sağlığı Laboratuarından alınan biyokütle üzerine TiO_2 nanopartikülü immobilize edilerek, sorbent madde olarak kullanılmış ve biyokütle üzerinde adsorplanan kurşun on-line olarak alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin öncesi ayırma/zenginleştirilmesi sağlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: *Koliform*, Titanyum dioksit, Biyosorpsiyon, Kurşun, Akış enjeksiyon

ABSTRACT

Flame atomic absorption spectrometry (FAAS) is one of the most popular techniques used in determination of trace elements in variety of samples. However, direct determination of trace elements by FAAS requires the use of separation/preconcentration step in order to improve detection limit and selectivity. There are many kinds of separation preconcentration/ techniques e.g. coprecipitation, liquid-liquid extraction, ion exchange, electrochemical deposition, clooud point extraction and solid phase extraction. Among these techniques, solid phase extraction is one the most widely used techniques because of its advantages of high enrichment factor, high recovery, rapid phase separation, low cost, low consumption of organic solvents and the ability to combine with on-line or off-line systems. In online flow-injection methods solid phase extraction (SPE) with FAAS has several advantages over the corresponding off-line methods: higher sample throughput, higher enrichment factors, lower sample, and reagent consumption, better precision, lower risk of loss or contamination and easy automation. In recent years, biological materials such as bacteria, algae, yeast and fungi have been used as a sorbent for heavy metal separation/preconcentration, because of their good performance and large available quantities, selective adsorption of metal ions, operation over a broad range of environmental conditions (pH, ionic strength, temperature), low cost, free availability and possible reuse of the biosorbent, high biosorption capacity because of large surface area of organism. Numerous support materials such as silica gel, carbon nanotubes, activated carbon and zeolites have been proposed and used to immobilize biomaterials. Immobilized cell systems posses several advantages on freely suspended cells, better capability of re-using the biomass, excellent durability, and easy separation of cells from the solution.

In this study, the use of biomass from Edirne Ministry of Health, Public Health Laboratory immobilized on TiO_2 nanoparticules has been used as a biosorbent for the on-line flow injection separation and preconcentration of trace lead prior to its determination by flame atomic absorption spectrometry (FAAS).

Keywords: *Coliform*, Titanium dioxide, Biosorption, Lead, Flow injection

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
İÇİNDEKİLER iii
TABLOLAR DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
TEŞEKKÜRLER x
1. GİRİŞ 1
2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI 2
2.1. Kurşun 2
2.1.1. Doğadaki Bulunuşu 3
2.1.2. Kurşunun İnsan Sağlığına Etkileri 4
2.2. ESER ELEMENTLER 4
2.2.1. Zenginleştirme Yöntemleri 5
2.2.1.1. Eksrtaksiyon 7
2.2.1.2. Birlikte Çöktürme 7
2.2.1.3. Uçurma 8
2.2.1.4. İyon Değiştirme 8
2.2.1.5. Elektroanalitik Zenginleştirme 9
2.2.1.6.Adsorpsiyon 9
2.3. Adsorpsiyon Teorisi 10
2.3.1. Adsorpsiyon Tipleri 10
2.3.1.1. Fiziksel Adsorpsiyon 11
2.3.1.2. Kimyasal Adsorpsiyon 11
2.3.1.3. İyonik Adsorpsiyon 11
2.3.1.4. Biyolojik Adsorpsiyon (Biyosorpsiyon) 12
2.3.2. Adsorpsiyon Prosesine Etki Eden Faktörler 12
2.3.2.1. Karıştırma Hızı 12
2.3.2.2. Adsorbentin Özellikleri 12
2.3.2.3. Adsorbentin Partikül Boyutu 13
2.3.2.4. Adsorbe Olan Maddenin (Adsorbatın) Çözülebilirliği 13
2.3.2.5. Adsorbat Molekülünün Büyüklüğü 13

2.3.2.6. pH 14
2.3.2.7. Sıcaklık 14
2.4. Biyosorpsiyon 14
2.4.1. Biyosorbent Eldesi 15
2.4.2. Biyosorbentlerin Dış Yüzey Özellikleri 16
2.4.3. Mikroorganizmaların Metalleri Tutma Mekanizması 17
2.4.3.1. Hücre Zarından Aktarım 19
2.4.3.2. Fiziksel Adsorpsiyon 20
2.4.3.3. İyon Değişimi 20
2.4.3.4. Kompleks Oluşumu 20
2.4.3.5. Çökelme 21
2.4.4. Mikroorganizmalarla Ağır Metal Adsorbsiyonunda Ölü Hücrelerin Kullanılmasının Avantajları ve Dezavantajları 21
2.4.5. Biyosorbent Olarak Bakterilerin Kullanılması ve Bakterilerin Genel Yapıları 24
2.4.6. Bakteriyal Biyosorpsiyonun Tarihi 25
2.4.7. Bakteri Yüzeyinin Karakterizasyonu 26
2.4.8. Bakteriyal Biyosorpsiyon Mekanizması 28
2.4.9. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler 29
2.4.9.1. Çevresel Etkiler 29
2.4.9.1.1 pH Etkisi 29
2.4.9.1.2. Sıcaklık Etkisi 30
2.4.9.1.3. Karıştırma Hızı 30
2.4.9.1.4. Biyokütle Miktarı 31
2.4.9.1.5. İyon Rekabeti 31
2.4.10. Biyokütlelerin İmmobilizasyonları 31
2.4.10.1. İnert Destek Üzerine Adsorpsiyon 32
2.4.10.2. Polimerik Matriks Üzerine Tutunma 32
2.4.10.3.Taşıyıcı Bileşiklere Kovalent Bağlanma 32
2.4.10.4. Bağlayıcılar ile Tutunma 32
2.4.11. Biyosorbe Edilen Metal İyonlarının Yıkanması, Geri Kazanılması ve Biyokütlenin Tekrar Kullanımı 33
2.4.12. Biyosorpsiyonun Geleceği 34
2.5. AKIŞ ENJEKSİYON 35
2.5.1.Temel Prensipler 36

2.5.1.1. Dağılma 37
2.5.2. Cihaz 38
2.5.2.1. Peristaltik Pompalar 39
2.5.2.2. Enjeksiyon Valfi 40
2.5.2.3. Taşıyıcı Boru ve Bağlantılar 42
2.6. Nanopartiküller 43
2.6.1. Titanyum Dioksit (TiO_2) Nanopartikülü ve Genel Özellikleri 44
2.6.2. Titanyum Dioksit (TiO_2) in Genel Kullanım Alanları 45
2.7. Atomik Absorpsiyon 46
2.7.1. Atomik Spektroskopi 46
2.7.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi 47
2.7.3. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi 47
2.7.3.1. Işık Kaynakları 48
2.7.3.1.1. Oyuk Katot Lambaları 48
2.7.3.1.2. Yüksek Işımalı Lambalar 50
2.7.3.1.3. Buhar Boşalım Lambaları 50
2.7.3.1.4. Elektrotsuz Boşalım Lambaları 50
2.7.3.2. Monokromatörler 50
2.7.3.3. Dedektörler 51
2.7.3.4. Atomlaşma 51
2.7.3.4.1. Alev Atomlaşma 51
2.7.3.4.2. Elektrotermal Atomlaşma 53
3. MATERYAL VE METOD 55
3.1. Kullanılan Cihazlar 55
3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışları 55
3.3. Koliform Grup Bakterileri Hakkında Genel Bilgi 57
3.4. Koliform Grup Bakterilerinin İmmobilizasyon için Hazırlanması 59
3.5. Cansız Koliform Bakterilerinin TiO_2 Nanopartikülüne İmmobilizasyonu 60
3.6. Katı Faz Ekstraksiyon Kolonunun Hazırlanması 61
3.7. Akış-enjeksiyon (FI) Sisteminin Hazırlanması 62
3.8. Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinin Çalışma Parametreleri 62
3.9. Numunelerin Hazırlanması 63
3.10. METOD 64
4. SONUÇLAR ve TARTIŞMALAR 66

4.1. pH Etkisi 66
4.2. Eluent Cinsi ve Eluent Konsantrasyonu Etkisi 67
4.3. Eluent Hacminin Etkisi 68
4.4. Eluent Akış Hızının Etkisi 69
4.5. Numune Akış Hızının Etkisi 70
4.6. Kalibrasyon Çalışmaları 71
4.8. Gerçek Numunelerde Kurşun Tayini 73
KAYNAKLAR 77
ÖZGEÇMİŞ 85

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 2.1 Kurşunun genel özellikleri 2

Tablo 2.2 Atomlaşmada kullanılan alev türleri 53

Tablo 3.1 Kullanılan cihazlar ve markaları……..….55

Tablo 3.2 Kullanılan kimyasallar ve temin yerleri 56

Tablo 3.3 AAS Cihazındaki Analizler İçin Çalışma Koşulları 63

Tablo 4.1 Standart Referans maddede kurşun tayini……...…….73

Tablo 4.2 Çeşitli numunelerdeki kurşunun tayini 74

Tablo 4.3 Titanyum dioksit (TiO_2) nanopartiküllere tutturulmuş *koliform* ile kurşunun ayrılması/zenginleştirilmesi ve alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini metodunun diğer metodlar ile karşılaştırılması……75

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Galen (PbS), Seruzit ($PbCO_3$) minerali 3

Şekil 2.2 Ayırma(a) ve Deriştirme(b) 6

Şekil 2.3 Biyokütlelerin biyosorbentlere dönüştürülmesi 16

Şekil 2.4 Hücre metabolizmasına göre 18

Şekil 2.5 Uzaklaştırılmış metalin bulunduğu yere göre 19

Şekil 2.6 Gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin yapısı 25

Şekil 2.7 Akış-enjeksiyon analizinde numunenin aldığı yol 37

Şekil 2.8 Akış-enjeksiyon analizinde numunenin aldığı yol üç boyutlu gösterim 37

Şekil 2.9 Peristaltik Pompa 39

Şekil 2.10 Akış enjeksiyon valflerinin gösterimi 41

Şekil 2.11 6 uçlu döner valf 41

Şekil 2.12 Akış-enjeksiyon analiz sisteminde kullanılan taşıyıcı borular 42

Şekil 2.13 (a) Rutil (b) Brokit (c) Anataz 44

Şekil 2.14 Bir TiO_2 molekülünün model kristal yapısı 45

Şekil 2.15 Atomik absorpsiyon spektrofotometresinin bileşenleri 48

Şekil 2.16 Oyuk katot lambası 49

Şekil 3.1 Enterobacter cinsi bakterinin mikroskobik görüntüsü 57

Şekil 3.2 Klebsiella cinsi bakterinin mikroskobik görüntüsü 58

Şekil 3.3 E. coli bakterisinin mikroskobik görüntüsü 59

Şekil 3.4 Koliform bakterisinin TiO_2 nanopartikülününe immobilizasyonuna ait SEM görüntüsü 60

Şekil 3.5 TiO_2 nanopartiküllerine immobilize olmuş koliform grup bakterisi dolu kolon.....61

Şekil 3.6 Akış-enjeksiyon (FI) sisteminin şematik gösterimi.....62

Şekil 4.1 Kurşunun kolon üzerinde alıkonmasına pH' nın etkisi…….66

Şekil 4.2 Kurşunun geri kazanılmasında eluent cinsi ve eluent konsantrasyonun etkisi 67

Şekil 4.3 Eluent hacminin etkisinin belirlenmesi 68

Şekil 4.4 Eluent akış hızının etkisinin belirlenmesi 69

Şekil 4.5 Numune akış hızı etkisinin belirlenmesi 70

Şekil 4.6 5.0 μg/L kurşunun 10-1000 mL hacimlerinde zenginleştirilmesi 71

Şekil 4.7 10 μg/L kurşunun 10-1000 mL hacimlerinde zenginleştirilmesi 72

Şekil 4.8 15 μg/L kurşunun 10-1000 mL hacimlerinde zenginleştirilmesi 72

TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans eğitimimde ve tezimde kıymetli görüşlerinden yararlandığım, çalışmalarımın her aşamasında yoğun ilgi ve desteğini gördüğüm, tezimin hazırlanmasında tecrübelerinden yararlandığım Hocam **Doç.Dr. Yasemin BAKIRCIOĞLU KURTULUŞ**' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Yüksek lisans eğitimim süresince gerek literatür taramalarında gerekse takıldığım yerlerde hiçbir zaman yardımını ve manevi desteğini esirgemeyen Hocam **Arş. Gör. Dr. Dilek BAKIRCIOĞLU**' na ve bugünlere gelmemi sağlayan, desteklerini üzerimden hiçbir zaman eksik etmeyen çok sevgili **Ailem**' e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

1. GİRİŞ

Teknolojik gelişmeye paralel olarak artan çevre kirliliği doğal dengenin ve canlı sağlığının korunması açısından günümüzde oldukça önem kazanmaktadır. Bu nedenle gıda ürünleri, doğal ve içme sularının eser element içeriklerinin nitelik ve nicelik yönünden tayini sürekli bir şekilde gerçekleştirilmektedir. Çevre kirliliğine yol açan eser elementlerden biri de kurşundur. Kurşunun olumsuz etkilerinin farkına varılmasından bu yana insan veya insanlarla direkt ilişkili canlı-cansız materyaller üzerinde sayısız araştırmalar yapılmıştır. Bu materyallar üzerindeki araştırmaların en önemlisi kurşunun miktarının tespitidir. Her ne kadar gelişen teknolojiyle beraber eser element analizlerinde kullanılan cihazlar mevcut ise de, miktarların sağlıklı ve kesine yakın bir doğrulukta tayininin gerçekleşmesi için ayırma ve ön zenginleştirme işlemlerinin kullanılması gerekmektedir. Ancak böylece incelenecek materyallerde girişim yapabilecek başka bileşenlerin önüne geçilebilir ve ayrıca konsantrasyonun tayin sınırının altında kalması engellenebilir.

Bu çalışmada, Titanyum dioksit (TiO_2) üzerine tutturulmuş koliform bakteri grubu kurşun elementinin zenginleştirilmesi amacıyla kullanılmıştır. Zenginleştirme işleminin gerçekleştirilmesinden sonra alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayin gerçekleştirilmiştir

2. KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. Kurşun

Kurşun, (lat; plumbum) periyodik tablodaki elementlerden biri olup, Atom ağırlığı 207.21, atom numarası 82 dir. Değerlik elektron sayısı 2 ile 4 arasında değişir. Kurşun, mavimsi gri renkte, kolay dövülüp işlenebilen bir metaldir. Kesildiğinde parlak bir görünümde olup havayla temas ettiğinde rengi matlaşır (Minczevski vd., 1982). Aşağıdaki tablo 2.1' de kurşun metalinin genel özellikleri verilmiştir.

Tablo 2.1 Kurşunun genel özellikleri

Atom numarası	82
Grup, periyot, blok	14, 6, p
Atom ağırlığı	207.2 g/mol
Elektrik direnci	208 nΩ m (20°C'de)
Isıl genleşme	28.9 μm/(mK) (25°C'de)
Mohs sertliği	1.5
Yoğunluk	11.34 g/cm³
Sıvı haldeki yoğunluğu	10.66 g/cm³
Ergime noktası	327.4 °C
Kaynama noktası	1749 °C
Isı kapasitesi	26.650 (25 °C) J/(mol K)
Yükseltgenme seviyeleri	(4^+), (2^+) Amfoter Oksit
Elektronegatifliği	2.33 Pauling ölçeği
İyonlaşma enerjisi	715.6 kJ/mol
Atom yarıçapı (hes.)	154 pm

2.1.1. Doğadaki Bulunuşu

Yer kabuğunda bulunma sıklığı 12.5 g/t dur. Yani yerkabuğunun sadece %0.00018' ini kaplar ve bu nedenle seryum, tungsten, vanadyum veya itriyum gibi elementlerden daha nadir bulunur. En çok bulunan kurşun madeni galendir (PbS). Serüzit, anglesit, piromorfit minerallerinde de düşük miktarlarda bulunur. Üç radyoaktif parçalanma serisinin hepsinde son üründür ve parçalanma serisine göre farklı atom ağırlıklarına sahiptir. Bu değerler radyum serisinde 206, toryum serisinde 208 ve aktinyum serisinde 207'dir.

Kurşunun en çok rastlanılan cevherleri, sülfür minerali galen (PbS) ve onun oksitlenmiş ürünleri olan seruzit ($PbCO_3$) ve anglezit ($PbSO_4$) dir (Şekil 2.1).



Şekil 2.1 Galen (PbS), Seruzit ($PbCO_3$) minerali

Kurşun üretiminin yaklaşık yarısı aküler, çeyrek kadar kısmı kurşun tetraetil ve diğer organokurşun bileşikleri gibi kimyasal maddeler için ve kalan kısım ise kalıp oluşturmada, kablolarda, alaşımlarda ve renk verici maddeler olan pigmentlerin eldesinde kullanılır. Bunun dışında kristal cam üretiminde, aşındırıcı sıvıların saklanacağı kapların yapımında, renkli lenslerin yapımında da kullanılmaktadır (Welz ve Sperling, 1999).

2.1.2. Kurşunun İnsan Sağlığına Etkileri

Kurşun, hemoglobinin çok önemli bir kısmı olan hemin sentezlenmesini önler ve kansızlığa sebep olur. Kurşun zehirlenmesine uğrayan bir vücutta alyuvarların sentezi azaldığı gibi mevcut olanlarında biyolojik ömrü azalır. Kurşun benzer şekilde böbrek enzimlerini de inhibe eder ve zehirlenmelere sebep olur. Bir kimsenin kanındaki kurşun seviyesiyle çalıştığı çevrenin kurşun konsantrasyonu arasında iyi bir ilişki olduğu bulunmuştur. Sigara içen bir kimsenin kanındaki kurşun seviyesi genellikle içmeyen kimseninkinden az da olsa yüksektir. Bundan başka, tünel, garaj, trafik ve park yerlerindeki görevlilerin kanındaki kurşun seviyesi genellikle daha yüksektir. Yapılan çalışmalarda çocuklarda kurşunun mevcudiyeti, düşük zihinsel gelişmenin ve davranış bozukluklarının en büyük nedeni olarak belirtilmektedir (Aydemir, 2001).

2.2. ESER ELEMENTLER

Çoğu element, analiz örneklerinde çok küçük miktarlarda bulunur ki tayini mümkün olsa bile, klasik tekniklerle kantitatif olarak analizi mümkün değildir. Böyle çok küçük konsantrasyonları ifade etmek ve çok zor tayin edilebilen konsantrasyonları açıklayabilmek amacıyla ‘eser’ tanımı kullanılır. Böyle elementlere de ‘eser element’ denir. Son zamanlarda çok düşük konsantrasyonlar, analitik tekniklerin ilerlemesi ve yeni tekniklerin geliştirilmesiyle doğruluk ve kesinlikle tayin edilmesine rağmen bugün hala **‘eser element’** olarak ifade edilmektedir. Genel olarak, konsantrasyon 100 μg/g’ ın altında olduğu zaman eser element olarak kabul edilir. Aşırı derecede düşük konsantrasyonlar da, 10 ng/g altındakiler ise **‘ultra eser’** olarak adlandırılırlar. Bu düşük konsantrasyonlarına rağmen eser elementler pek çok alanda önemli rol oynarlar.

Eser elementlerin canlı organizmaların sağlıklı olmasında önemi büyüktür. Bu anlamda ‘temel’ ve ‘temel olmayan’ elementler olarak ayrılırlar. Bir element, canlı organizmada bir eksiklik sendromuna neden olup (fizyolojik ve yapısal bozukluk) ve bu

bozukluk ilaçla tedavi edilebiliyorsa ‘temel element’ olarak tanımlanır. Bir element canlı organizmada bulunması gereken seviyeden daha az ise organizmada fizyolojik ve yapısal bozukluklara neden olabilir. Bu eksiklikten kaynaklanan semptomlar, ölümcül klinik semptomlardan kaynaklanan biyolojik fonksiyonlardaki azalmalardan farklıdır. Diğer yandan, bir elementin çok yüksek konsantrasyonda olması da problem yaratabilir. Bundan dolayı bu tip elementlerin yiyeceklerle vücuda alınması belirli limitlerle sınırlandırılmıştır (Vandecasteele ve Block, 1993).

Eser analizde, eser elementler matriks olarak adlandırılan örneğin bileşenlerinin bulunduğu ortam içinde tayin edilebilirler. Bu ortamlar ise metaller, madenler, mineraller, bileşikler, su, sulu çözeltiler, organik ve biyolojik maddeler olarak sıralanabilir. Matriks adı verilen ortam eser element analizlerinde olumsuz etki yapabilirler. Böyle ortamlarda yeterli duyarlılık, kesinlik ve doğrulukla sonuç alınmaz. Hatta bazı hallerde tayin yapmak imkansızdır. Çünkü eser element derişimi belirli bir düzeyin üzerinde olmalıdır. Aksi takdirde alınan sinyal aletin zemin sinyalinin altında kalır (Tokalıoğlu, 1997).

Eser element tayininde dört temel problemler karşılaşılır. Bu problemler şöyle sıralanabilir:

1- Eser element derişiminin tayininin yapılamayacak kadar küçük derişimde olması.

2- Çok küçük miktardaki başlangıç örneğinde ana bileşen, yan bileşen ve eser elementlerin analizi.

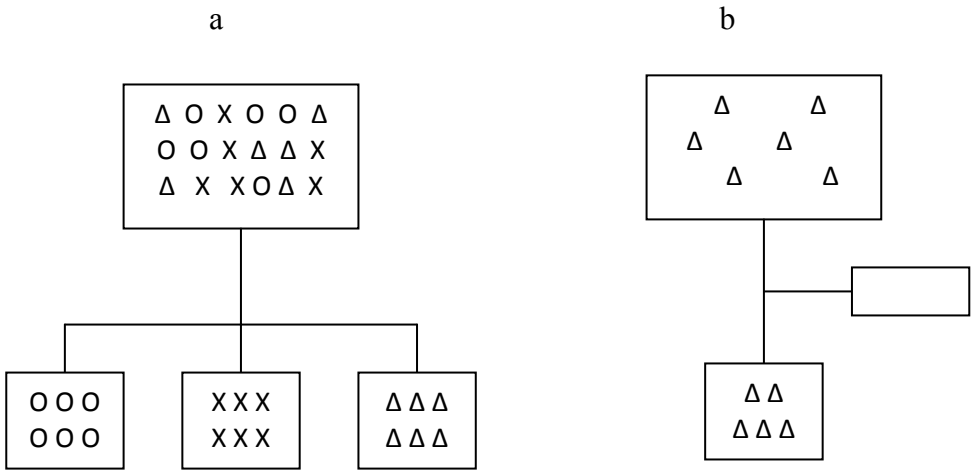
3- Büyük miktardaki bir örnekten tayini yapılacak eser elementlerin ayrılması.

4- Ortam girişimlerini (matriks etkisini) önlemek ve tayin kapasitesini artırmak için analiti ortamdan ayırmak ve küçük bir hacimde toplamaktır (Soylak, 1993).

2.2.1. Zenginleştirme Yöntemleri

Eser element derişimi, tayin sınırının altında olduğunda gözlenebilir sinyal elde edilemez. Böyle durumlarda, analiti gerek uygun ortam içerisine almak, gerekse küçük hacimde toplayarak deriştirme amacıyla önderiştirme ayırma yöntemleri kullanılır. Bu yöntemlere zenginleştirme yöntemleri denir (Soylak, 1993).

Zenginleştirme yöntemlerinde; ayırma, analitin ortamda bulunan türlerden arındırılmasıdır. Deriştirmede, analit daha küçük hacim içerisine alınmasıdır. Şekil 2.2' de görüldüğü gibi ayırma işlemi ile her bir bilesen ayrılırken deriştirme işlemi ile bileşenin konsantrasyonu artmıştır.



Şekil 2.2 Ayırma(a) ve Deriştirme(b)

Eser analizde kullanılan zenginleştirme yöntemleriyle tayin basamağında şu kolaylıklar sağlanmış olur:

I. Eser element derişiminin artmasıyla, yöntemin tayin kapasitesi artırılmış olur.

II. Eser element uygun ortama alınacağından, girişimler giderilir, dolayısıyla duyarlılık artar.

III. Büyük miktardaki başlangıç numuneleriyle çalışılabileceğinden numunenin homojen olmamasından gelebilecek hatalar önlenmiş olur.

IV. Standartlarla, numune ortamını benzetmek kolaylaşır.

V. Bozucu etki gösteren ortam, uygun bir ortam ile yer değiştirdiğinde zemin girişimleri azalır.

VI. Seçimlilik artar.

En yaygın olarak kullanılan, eser element zenginleştirme yöntemleri arasında ekstraksiyon, uçurma ile zenginleştirme, birlikte çöktürme, iyon değiştirme, adsorpsiyon (aktif karbon üzerinde biriktirme) ve elektroanalitik zenginleştirme sayılabilir (Armağan, 2000).

2.2.1.1. Ekstraksiyon

Ekstraksiyon, uygun bir çözücü içinde çözünmüş maddelerin bir başka faz içerisine alınması işlemidir. Basit ve hızlı olması nedeni ile sıkça kullanılan bir yöntemdir. Özellikle çözelti analizlerinin yapıldığı AAS ile tayinlerde kullanılır. Eser element uygulamalarında kullanılan fazlardan birisi genelde su, diğeri ise su ile karışmayan organik çözücülerdir.

Eser element analizinde ekstraksiyon yöntemi iki şekilde uygulanır. Birincisinde, ana bileşenler ortamdan uzaklaştırılırken eser elementler sulu fazda bırakılır. Diğerinde ise sulu fazdaki eser elementler şelatları ya da değişik iyon kompleksleri şeklinde organik faza geçirilir. Bu yöntemlerden en yaygın olarak kullanılanı ise ikincisidir (Armağan, 2000).

2.2.1.2. Birlikte Çöktürme

Bu yöntemde büyük yüzey alanına sahip olan organik ve inorganik karakterli çökelek oluşturularak, eser elementlerin bu çökeleklerin üzerinde adsorplanmaları sağlanır. Çöktürme yönteminde, eser bileşenler tek başına ayrılabildiği gibi ana bileşenlerde ayrılabilir. Çökelme pH'sı denetlenerek seçimlilik sağlanır (Hazer, 2003).

Eser elementlerin birlikte çöktürme ile kantitatif olarak ayrılmasında, kollektör adı verilen taşıyıcılar kullanılır. Örnek çözeltisine, yeterli miktarda çökelek oluşmasını sağlayacak kadar taşıyıcı ilave edilmelidir. Bu çökeleğin oluşumu sırasında istenilen eser

elementler çözeltide çökelek üzerinde adsorplanırlar. Toplayıcı çökelekler organik ya da inorganik karakterli olabilir.

Taşıyıcının adsorplayıcı özelliğinden yararlanılarak eser metal iyonlarının hem ortam bileşenlerinden ayrılması, hem de deriştirilmesi sağlanır. Girişim yapabilecek iyonların adsorpsiyonunu engelleyebilmek için taşıyıcı miktarının fazla olmaması gerekir. 50-200 mL' lik örnek için 2-3 mg taşıyıcı kullanılır. Çöktürme işleminden sonra süzme işlemi ile çökelek çözeltiden ayrılır. Daha sonra uygun bir analiz tekniği kullanılarak analitlerin tayini gerçekleştirilir.

2.2.1.3. Uçurma

Uçurma ile zenginleştirme işlemi, kolay uçucu ve kolaylıkla uçucu bileşiklerine dönüştürülen bazı elementler için son derece uygundur. Maddelerin uçuculuklarına bağlıdır. Matriks ile eser element arasında uçuculuk farkının büyük olması gerekir. Uçurma ile ayırma, ya matriksin uçurulması ya da eser elementin uçurulması ile yapılır. Ancak inorganik eser analizinde metallerin uçurma ile zenginleştirilmeleri yaygın değildir.

2.2.1.4. İyon Değiştirme

Eser elementlerin zenginleştirilmesinde iyon değiştirme işlemi de geniş olarak uygulanmaktadır. İyon değiştirme işleminde, iyon değiştirici reçinelerden çözelti içerisinde bulunan eser düzeydeki metaller geçirilerek reçinelerde tutunmuş olan iyonlar daha küçük hacimdeki bir çözücü ile dışarı çıkarılarak deriştirilir.

İyon değiştirici reçineler olarak, çözelti ortamında çözülmeyen büyük moleküllü doğal ve yapay maddeler kullanılır. Bunlar, organik ve inorganik karakterli olabilir. Killer ve zeolitler eskiden beri bilinen inorganik iyon değiştiricilerdir. Zeolitler genel olarak $Na_2Al_2Si_4O_{12}$ formülü ile gösterilir ve yapılarında bulunan Na^+ iyonlarım Fe^{2+}, Mn^{2+} ve Mg^{2+} gibi iyonlarla değiştirme özelliğine sahiptirler. Organik iyon değiştiriciler katyonik ve

anyonik değiştiriciler olmak üzere ikiye ayrılır. Katyon değiştirici reçineler olarak sülfone edilmiş polistiren veya karboksil grubu içeren polimetakrilat, anyon değiştirici reçineler olarak kuaterner amonyum grubu içeren polistiren veya poliamin polistiren kullanılır (Armağan, 2000).

2.2.1.5. Elektroanalitik Zenginleştirme

Elektroliz yöntemi, eser metallerin çeşitli çözeltilerden ayrılmasında kullanılan bir yöntemdir. Elektrolit ve örneğin bileşimi, elektrot türü ve şekli, elektroliz hücresi ve diğer deneysel değişkenler bir elementin elektrolitik biriktirilmesine büyük ölçüde etki eder. Eser elementlerin zenginleştirilmesinde elektroliz yönteminin yanı sıra sıyırma yöntemleri de yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Armağan, 2000).

2.2.1.6.Adsorpsiyon

Bu yöntemde metal iyonların zenginleştirilmesi, geniş yüzey alanına ve adsorplama özelliğine sahip adsorban maddeler kullanılarak, çözeltide bulunan iyon ya da moleküllerin bu maddeler üzerinde biriktirilmesi ile gerçekleştirilir. Örneğin aktif karbon bu özelliğe sahip bir maddedir. Aktif karbonun bu özelliğinden yararlanılarak eser element iyonları ortam bileşenlerinden ayrılarak zenginleştirilir. Bu amaçla ağır metal iyonları şelatları haline getirilir ve şelatlar adsorplayıcı üzerinde tutulur. Şelatları halinde aktif karbon üzerinde tutunmuş olan bu metal iyonları karbon yüzeyinin asit ile bozundurulması ile geri kazanılır (Armağan, 2000).

2.3. Adsorpsiyon Teorisi

Adsorpsiyon, bir çözeltiden belirli maddeleri uzaklaştırmak amacıyla bu maddeleri tutabilecek özellikler gösteren adsorbent adı verilen maddelerin kullanılması işlemidir (Keskinler vd., 1994). Adsorpsiyon bir yüzey veya yüzey arakesiti üzerinde maddenin birikiminin ve derişiminin artması olarakta ifade edilebilir. Çoğu zaman bu iki durum aynı anda meydana geldiği için bu olaya genel olarak sorpsiyon adı verilir. Yüzeyde tutulan maddeye adsorplanan veya adsorbat, yüzeyinde tutulan maddeye de adsorban veya adsorbent denir.

Adsorbentler tarafından çözeltiden kirletici maddelerin adsorpsiyonunda birbirini izleyen üç aşama bulunmaktadır. İlk aşamada kirletici madde çözelti içerisinden yüzey sınır tabakasına (katı yüzeye) taşınır ve bu olay film difüzyonu olarak adlandırılır. Gözenek difüzyonu olarak adlandırılan ikinci aşamada ise kirletici madde difüze olarak adsorbent yüzeyindeki bağlanma noktalarına bağlanır. En son aşamada ise gözenek ve kapiler yüzeylerde bağlanma meydana gelmektedir.

Adsorbantın bir fazdan diğer fazın yüzeyinde birikecek şekilde hareketi, yüzey gerilimi adsorpsiyon arasındaki ilişki önemini ortaya koyar. Yüzey reaksiyonları faz veya yüzey sınır enerjisi olarak ortaya çıkar ve adsorpsiyonda değişime neden olacak şekilde etkilidir. Yüzeysel olaylarda sistemin özelliği yüzeye ve sınırlara bağlıdır. Adsorpsiyon kimyasal etkileşim sonucu yüksek sıcaklarda oluşur. Bağlar arası enerji ve bağların kuvveti yüksektir.

2.3.1. Adsorpsiyon Tipleri

Çözünmüş parçacıklar ile adsorplanan yüzey arasındaki çekim kuvvetlerinin türüne bağlı olarak fiziksel, kimyasal ve iyonik adsorpsiyon olmak üzere üç tip adsorpsiyon tanımlanmaktadır (Keskinler vd., 1994). Son yıllarda biyosorpsiyon da bir adsorpsiyon tipi olarak kabul edilmiştir.

2.3.1.1. Fiziksel Adsorpsiyon

Fiziksel adsorpsiyon Wan Der Walls kuvvetleri nedeniyle meydana geldiği için en önemli adsorpsiyon çeşidi arasındadır ve tersinir bir olaydır. Adsorbent ve çözünen arasındaki çekim kuvvetleri moleküler olduğu zaman, çözücü ve çözünen arasındaki çekim kuvvetinden daha fazla olacağından çözünen adsorbent maddenin yüzeyine adsorplanacaktır. Fiziksel adsorpsiyon çevre mühendisliği uygulamalarında yaygındır (Keskinler vd., 1994). Fiziksel adsorpsiyonda çoğunlukla tüm katılar adsorplayıcı, tüm sıvı ve gazlarda adsorplanan olabilirler. Fiziksel adssorpsiyonun ısısı düşüktür; en fazla 10 kkal/mol civarındadır. Aktivasyon enerjisi düşüktür ve bağlar zayıftır. Adsorpsiyon çok tabakalıdır.

2.3.1.2. Kimyasal Adsorpsiyon

Kimyasal adsorpsiyonda katı ve adsorplanacak çözünen arasında kimyasal bir reaksiyon oluşur ve reaksiyon genellikle tersinmez bir yapıdadır. Reaksiyon tek yönlüdür (Keskinler vd., 1994). Kimyasal adsorpsiyon tersinir değildir ancak yüksek sıcaklıklarda ısıtma işlemi ile molekül ayrılma sağlanabilir. Adsorpsiyon tek tabakalıdır. Yüzeyde moleküllerin bağlanacağı aktif noktalar bitince adsorpsiyon durur. Açığa çıkan aktivasyon enerjisi 10-50 kkal/mol' dür. Bazı katılar adsorplayıcı bazı sıvı ve gazlar da adsorplanan olabilmektedir, dolayısı ile fiziksel adsorpsiyona göre daha spesifiktir.

2.3.1.3. İyonik Adsorpsiyon

Çözeltideki iyonik karekterdeki adsorplananların elektrostatik kuvvetler ile adsorplayacak madde yüzeyindeki yüklü bölgelere çekilmesi sonucunda meydana gelir. Adsorbent ve adsorplananların iyonik güçleri yanında molekül büyüklüklerine göre adsorpsiyon olayı seçimli olarak gerçekleşir. Yüzeye tutulan iyonlara eş yüklü başka iyonların aynı anda yüzeyi terk etmesi sonucu ise iyon değişimi meydana gelir. Fiziksel, kimyasal ve iyonik adsorpsiyon bazen birlikte bazen de art arda meydana gelebilirler.

2.3.1.4. Biyolojik Adsorpsiyon (Biyosorpsiyon)

Biyosorpsiyon, inaktive edilmiş veya ölü durumda bulunan belli türdeki bazı biyokütlelerin ortamdaki ağır metalleri bağlayabilme özelliğidir. Biyokütle, bu özelliğini kimyasal bir madde, biyolojik kökenli bir iyon değiştirici gibi davranarak ortaya koyar. Biyosorpsiyondan sorumlu olan esas yapının, belli bazı alg, mantar, bakteri ve diğer biyokütlelerin hücre duvarları olduğu bulunmuştur.

2.3.2. Adsorpsiyon Prosesine Etki Eden Faktörler

Adsorpsiyon prosesini etkileyen faktörler arasında karıştırma, adsorbentin özellikleri (adsorbentin yüzey alanı, adsorbentin partikül büyüklüğü), adsorbatın (adsorbe olan madde) çözülebilirliği, adsorbat moleküllerinin boyutu, pH ve sıcaklık gibi gibi etmenler de vardır.

2.3.2.1. Karıştırma Hızı

Adsorpsiyon hızı sistemin karıştırma miktarına bağlı olarak ya film difüzyonu ya da por difüzyonu ile kontrol edilir. Eğer az bir karıştırma yapılırsa, tanecik etrafındaki sıvı film kalınlığı fazla olacak ve film difüzyonu hızı sınırlandıran etmen olacaktır. Yeterli bir karışım sağlanırsa, film difüzyon hızı, hızı sınırlandıran etmen olan por difüzyon noktasına doğru artar. Genelde por difüzyonu yüksek derecede karıştırılan kesikli sistemlerde hızı sınırlandıran faktördür.

2.3.2.2. Adsorbentin Özellikleri

Adsorbentin partikül boyutu ve yüzey alanı, adsorpsiyon prosesinin meydana geldiği hızı etkiler. Adsorpsiyon yüzeyle ilgili bir olaydır ve maksimum adsorpsiyon miktarı spesifik yüzey alanı ile doğru orantılıdır. Spesifik yüzey alanı toplam yüzey alanının adsorpsiyonda

kullanılabilir kısmı olarak tanımlanabilir. Yani belirli ağırlıktaki adsorbentin sağlayabileceği adsorpsiyon miktarı, adsorbentin küçük parçalara ayrılmış, gözenekli haline kıyasla daha büyüktür. Bir adsorbentin toplam adsorpsiyon kapasitesi, adsorbentin toplam yüzey alanı ile doğru orantılıdır.

2.3.2.3. Adsorbentin Partikül Boyutu

Adsorbentin partikül boyutu adsorpsiyon hızını etkilemektedir. Adsorpsiyon hızı partikül boyutu azaldıkça artar. Adsorbent boyutunun azalmasıyla kütle transfer direncinin, difüzyon yolu uzunluğunun azalması ve adsorpsiyon için uygun dış yüzeyin, yüzey alanının artması şeklinde ifade edilebilir.

2.3.2.4. Adsorbe Olan Maddenin (Adsorbatın) Çözülebilirliği

Adsorpsiyonun olabilmesi için, bir molekülün çözücüsünden ayrılabilmesi ve adsorbentin üzerine yapışabilmesi gerekmektedir. Çözülebilir bileşikler, çözücüler için kuvvetli bir çekiciliğe sahiptir. Bu yüzden çözülemez bileşiklerden daha zor adsorbe olurlar. Bununla birlikte zayıf bir şekilde çözünen birçok bileşik de kolay kolay adsorbe olmazlar. Ancak çok kolay çözünen bazı bileşiklerde bazen kolaylıkla adsorbe olabilirler.

2.3.2.5. Adsorbat Molekülünün Büyüklüğü

Moleküller adsorplanmak amacıyla adsorbentin gözeneklerine girdiği için, moleküler boyut adsorpsiyonda önemli bir rol oynar. Yapılan araştırmalar alifatik asitler aldehitler veya alkoller gibi bileşiklerle yapılan adsorpsiyonda, molekül boyutunun artmasıyla adsorpsiyonun arttığını göstermiştir. Bu kısmen adsorbent ve bir molekül arasındaki çekim kuvvetlerinin büyüklüğünün, molekül boyutunun gözenek boyutunun büyüklüğüne yaklaştıkça artmasıyla açıklanabilir.

Birçok atıksu farklı büyüklüklere sahip bileşiklerin bir karışımından meydana gelir. Bu durumda daha büyük boyutlu taneciklerin, daha küçük boyutlu taneciklerin aktif karbon gözenekleri içerisine girmelerini engellemeleri tehlikesi vardır. Bu olaya moleküler perdeleme denir. Bununla birlikte, hem moleküllerin hem de porların düzensiz şekilleri, bu tür bir engellemeyi önler. Küçük moleküllerin daha hareketli olması daha büyük hızda difüze olmalarını ve büyük moleküllerin giremeyeceği gözeneklere girmelerini sağlar.

2.3.2.6. pH

Adsorpsiyon prosesinin gerçekleştiği andaki pH, adsorpsiyonu önemli ölçüde etkiler. pH ortamdaki hidronyum ve hidroksil iyonlarının fonksiyonudur. Asidik pH' larda adsorbent yüzeyinin pozitif yüklenme ihtimali arttığından, yüzey negatif yüklü iyonların adsorpsiyonu için daha uygun hale gelmektedir. Yüksek pH' larda ise pozitif yüklü iyonların adsorpsiyonunun artması beklenir.

2.3.2.7. Sıcaklık

Sıcaklığın adsorpsiyon üzerindeki etkisi adsorpsiyon prosesinin ekzotermik veya endotermik oluşuna bağlı olarak değişir. Adsorpsiyon prosesinde sıcaklığın artmasıyla adsorplanan madde miktarı artıyorsa adsorpsiyon olayı endotermik, azalıyorsa ekzotermiktir (Keskinler vd., 1994).

2.4. Biyosorpsiyon

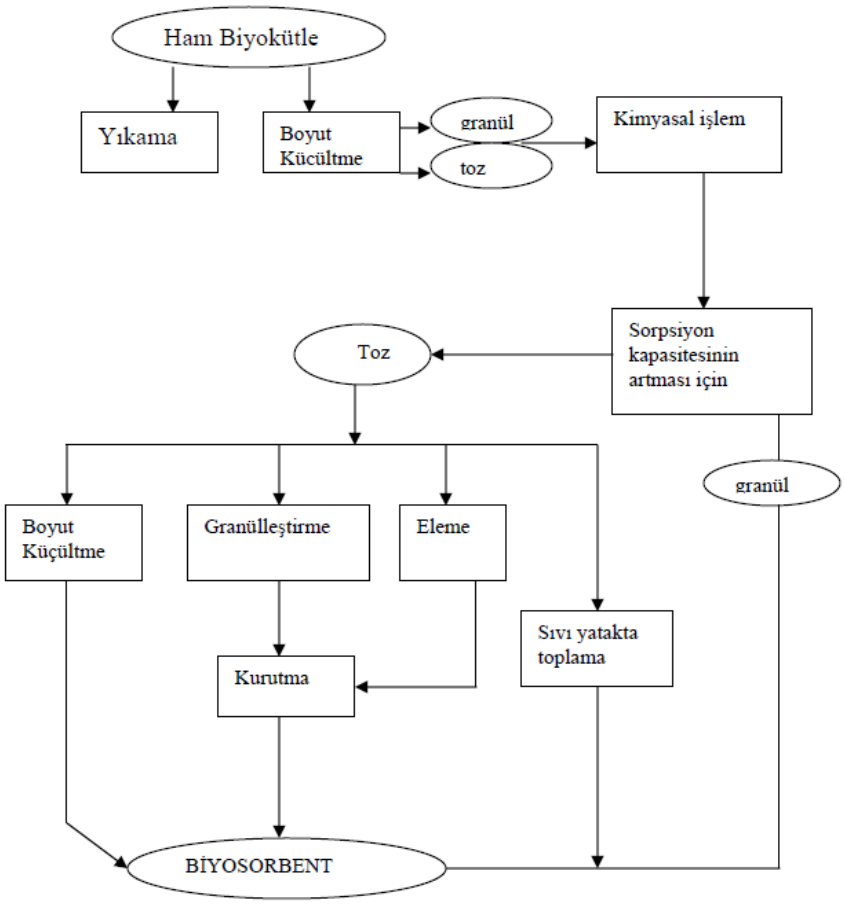
Biyosorpsiyon, biyokütle tarafından metal iyonlarının pasif emilimi veya metal iyonlarının tutunmasına verilen isimdir. Biyosorpsiyon mekanizmaları genellikle hücre yüzeyinde metal ile fonksiyonel gruplar arasındaki elektrostatik etkileşimler, iyon değişimi

gibi fizikokimyasal etkileşimlere dayanır (Özer vd., 2004). Protein, yağ ve polisakkarit gibi hücre duvarı bileşenleri ile karboksil, hidroksil, amin ve fosforil grubları içeren fonksiyonel grupların etkileşimi en sık karşılaşılan etkileşimlerdir (Dziwulska vd., 2004). Bağlanma süresince metabolizmik ve fiziksel çevrenin önemli etkisi vardır. Bu genellikle hızlı ve geri dönüşümlü bir aktivasyon için minimum enerji gerektirir. Biyolojik birikim için 63 kj/mol aktivasyon enerjisi gerekir (Kadukova ve Vircíkova, 2005).

2.4.1. Biyosorbent Eldesi

Metal iyonlarının tutulmasında kullanılan biyokütlelerin seçiminde kolay elde edilebilirlik önemli bir faktördür. Biyokütlenin doğada kolay bulunabilen hatta atık maddelerde bulunan türleri tercih edilmelidir.

Biyosorbentler herhangi bir öncelik olmaksızın ağır metalleri bağlayabilmesine rağmen bazıları sadece belli tip metalleri bağlayabilmektedir. 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 (Vieira ve Volesky, 2000). (Şekil 2.3)



Şekil 2.3 Biyokütlelerin biyosorbentlere dönüştürülmesi

2.4.2. Biyosorbentlerin Dış Yüzey Özellikleri

Bakteri hücre duvarı, kimyasal bileşikler içerir ve bu bileşikler metalleri pasif olarak tutabilir (Remacle, 1990; Vieira ve Volesky, 2000). Alg (Crist vd., 1981; Greene vd., 1987; Vieira ve Volesky, 2000) ve bakteri (Brierley, 1990; Mann, 1990; Vieira ve Volesky, 2000) gibi organizmalar veya biyopolimerler (Hunt, 1986; Macaskie ve Dean, 1990; Vieira ve Volesky, 2000) gibi moleküller tarafından metal bağlama ile biyosorpsiyona çok sayıda kimyasal grubun katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Bu gruplar; hidroksil, karbonil, karboksil, sülfidril, thioeter, sülfonat, amin, imin, amid, imidozol, fosfonat ve fosfodiester'dir (Vieira ve Volesky, 2000). Belli biyokütle ile belli bir metalin biyosorpsiyonu için herhangi bir grubun önemi şu faktörlere bağlıdır; biyosorbentteki bölge sayısı, bölgelerin ulaşılabilirliği, bölgenin kimyasal yapısı, bölge ve metal arasındaki çekim (bağlanma kuvveti) (Vieira ve Volesky, 2000).

Kovalent metal bağlama için, teorik olarak bölge mevcuttur. Verilen metalin hangi bölgeyi kullanacağı metalin bağ yapma kuvvetine ve konsantrasyonuna bağlıdır. Eğer metal iyon halindeyse elektrostatik metal bağlama bölgesi mevcuttur (Vieira ve Volesky, 2000).

2.4.3. Mikroorganizmaların Metalleri Tutma Mekanizması

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

Hücre metabolizmasına bağlılığına göre biyosorpsiyon mekanizması ikiye ayrılabilir.

- ♦. Metabolizmaya bağlı olan
- ♦. Metabolizmaya bağlı olmayan

Uzaklaştırılmış metalin bulunduğu yere bağlı olarak da biyosorpsiyon sınıflandırılabilir.

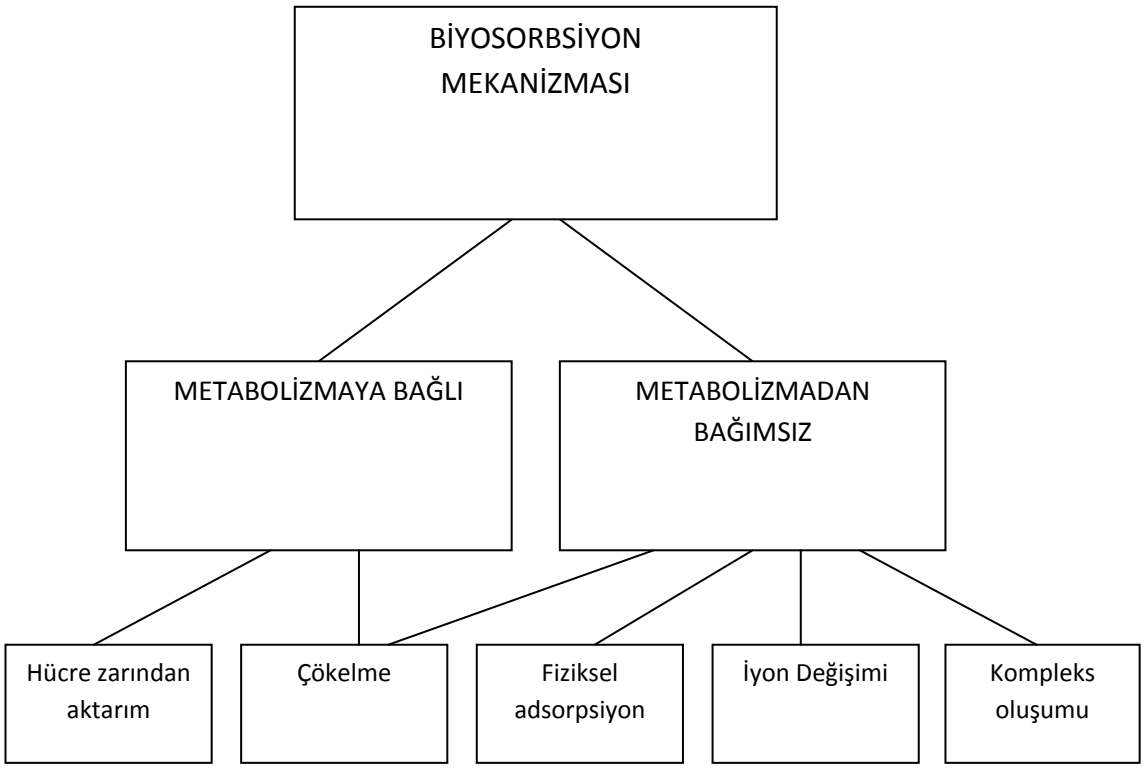
- ♦. Hücre dışı birikme/çökelme
- ♦. Hücre yüzeyi adsorpsiyonu/çökelme
- ♦. Hücre içi birikme

Çeşitli biyosorpsiyon mekanizmaları şekil 2.4 ve şekil 2.5’ de şematik olarak görülmektedir (Veglio ve Beolchini, 1997).

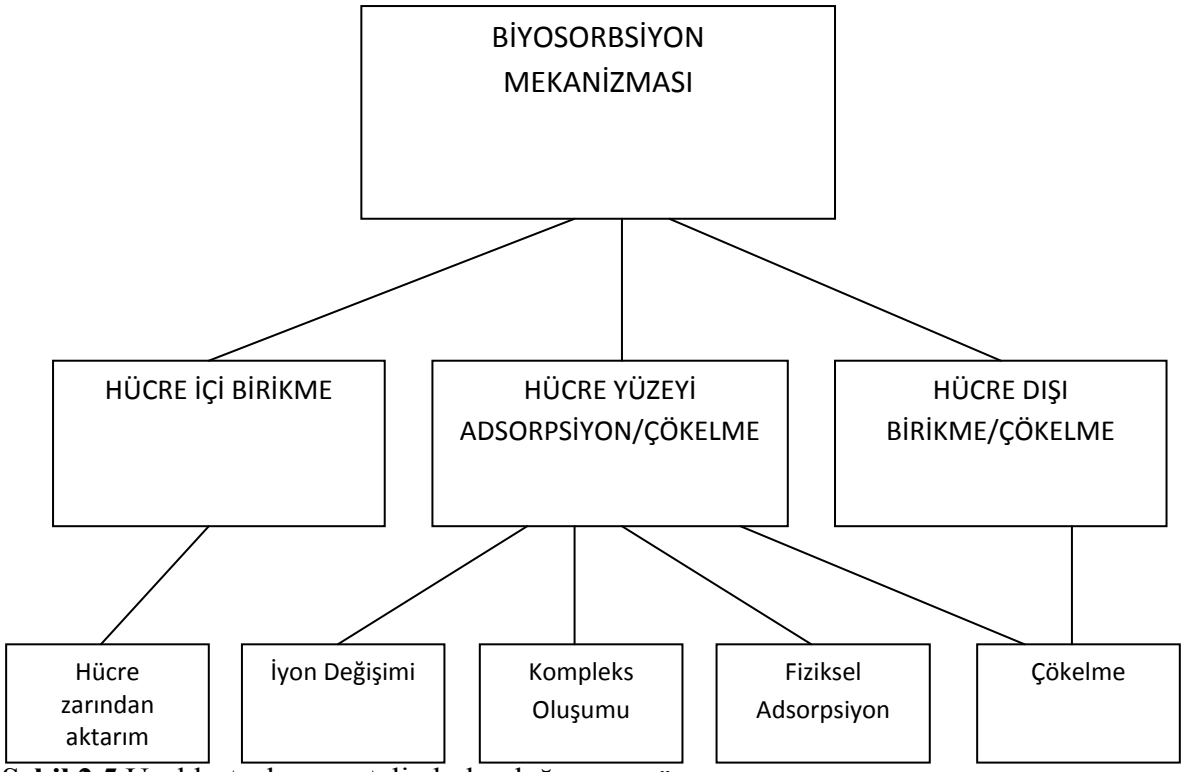
Metabolizmaya bağlı olan biyosorpsiyon tipinde hücre içi birikim söz konusudur ve biyosorpsiyonun bu çeşiti yalnız canlı hücrelerle gerçekleşir. Bu olay; toksik metallerin varlığında reaksiyon veren, mikroorganizmanın aktif savunma sistemi ile ilişkilidir. Biyosorpsiyon aniden gerçekleşen bir olay değildir,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

Metabolizmaya bağlı olmayan biyosorpsiyon çeşidinde ise metal ve hücre yüzeyinin fonksiyonel grupları arasında fizikokimyasal etkileşim vardır ve bu değişim fiziksel adsorpsiyon, iyon değişimi ve kompleks oluşumuna dayanmaktadır. Mikrobiyal biyokütlenin hücre duvarı; başlıca polisakkarit, protein ve lipitlerden oluşmaktadır. Bunlar, metal bağlama fonksiyonel grupları olan karboksilat, hidroksil, sülfat, fosfat ve amino gruplarını bolca

içermektedir. Bu çeşit biyosorpsiyon çabuk ve tersinirdir (Kuyucak ve Volesky, 1988). Bu özelliklere sahip olan biyokütle, iyon değiştirici reçinelerin veya aktif karbonun kimyasal karakteristiklerine sahiptir, bu durum da biyosorpsiyonun endüstriye uygulanmasında birçok avantaj sağlar. Çökelme halinin sınıflandırılması tek değildir. Mekanizma hücre metabolizmasına bağlı olabilir veya olmayabilir (Ercole vd, 1994). Toksik metal varlığında, şayet mikroorganizma çökelme prosesini destekleyen ürünler üretirse çökelme hücre metabolizmasına bağlı olabilir. Öte yandan çökelme işlemi, metal ile hücre yüzeyi arasındaki bir kimyasal etkileşimden sonra gerçekleşirse hücre metabolizmasından bağımsızdır (Veglio ve Beolchini, 1997).



Şekil 2.4 Hücre metabolizmasına göre



Şekil 2.5 Uzaklaştırılmış metalin bulunduğu yere göre

2.4.3.1. Hücre Zarından Aktarım

Yukarıda bahsedildiği gibi, bu olay hücre metabolizması ile ilişkilidir. Maalesef, yüksek konsantrasyonlarda toksik etki gösteren bazı metaller biyosorpsiyon araştırmalarına izin vermez. Mekanizmanın bu çeşidi hakkında çok az bilgi mevcuttur. Mikrobiyal hücre membranı boyunca ağır metal iletimi, metabolizma için gerekli olan potasyum, magnezyum ve sodyum iyonlarının taşınmasında kullanılan mekanizmanın aynısına sahiptir. Bunun sebebi organizmanın aynı yük ve iyonik yarıçaptaki ağır metal iyonlarının varlığını ayırt edememesinden kaynaklanır (Brierley, 1990).

Mekanizmanın bu çeşidi, metabolizmaya bağlı olmayan biyosorpsiyon olayı ile aynı zamanda gerçekleşir. Literatürde pek çok örnekleri bulunan canlı mikroorganizmalar ile yapılan biyosorpsiyon türü, iki basit adımdan oluşmaktadır.

Birincisi; hücre duvarına metabolizmadan bağımsız bağlanma, ikincisi; metabolizmaya bağlı hücre içi tutunmadır. Bu şekilde hücre içine metal iyonları, hücre zarından aktarım ile sağlanır (Costa, 1990; Gadd vd, 1988; Gourdon vd, 1990; Huang vd 1990; Nourbakhsh vd, 1994; Peng ve Koon, 1993).

2.4.3.2. Fiziksel Adsorpsiyon

Bu kategorideki olay van der waals kuvvetlerinin varlığı ile ilişkilidir (Crowell, 1966). Polikarpov 1966 yılında, deniz suyundaki radyoaktif elementlerin marina mikroorganizmaları tarafından sudan direk adsorpsiyonla tutulmasını incelemiştir (Tsezos ve Volesky, 1981). Tsezos ve Volesky ise *Rhizopus arrhizus* biyokütlesi tarafından uranyum ve toryumun biyosorpsiyonunu araştırmışlar ve burada hücre duvarı kitin yapısı içindeki fiziksel adsorpsiyon temel alınmıştır (Tsezos ve Volesky, 1982a; Tsezos ve Volesky, 1982b). Kuyucak ve Volesky; uranyum, kadmiyum, çinko, bakır ve kobaltın alg, mantar ve mayanın ölü biyokütleleri tarafından biyosorpsiyonunda hücre duvarı ve çözeltideki iyonlar arasındaki elektrostatik etkileşim sayesinde gerçekleştiğini belirtmişlerdir (Kuyucak ve Volesky, 1988).

2.4.3.3. İyon Değişimi

Mikroorganizmaların hücre duvarı, yapının temel blokları gibi polisakkaritler içerirler. Doğal polisakkaritlerin iyon değişim özellikleri detaylıca çalışılmıştır. İki değerli metal iyonları ile polisakkaritlerin zıt yüklü iyonlarının değişimi söz konusudur (Tsezos ve Volesky, 1981). Friis ve Myers, uranyum ve kurşunun *Streptomyces longwoodensis* ile biyosorpsiyonunda, bu metal iyonları ile sitoplazmik fraksiyonunda ve hücre duvarında var olan fosfodiester kalıntılarındaki zıt iyonlarla iyon değişimi sayesinde gerçekleştiği varsayımında bulunmuşlardır (Friis ve Myers-Keith, 1986).

2.4.3.4. Kompleks Oluşumu

Çözeltiden metal uzaklaştırılması aktif gruplar ile metal arasındaki etkileşimden sonra hücre yüzeyindeki kompleks oluşum nedeniyle gerçekleşmektedir. Metal iyonları ya tek dişli ligantlara ya da şelatlara bağlanırlar (Cabral, 1992). *Rhizopus arrhizus* ile toryum ve uranyum biyosorpsiyonunda mekanizma yukarıda bahsedildiği gibi sadece fiziksel adsorpsiyona bağlı

değildir, birde kitin hücre duvarı ağındaki azot ile metalin koordinasyon mekanizmasına da bağlıdır (Tsezos ve Volesky, 1981). Aksu ve arkadaşları *C. Vulgaris ve Z. Ramigera* tarafından bakır biyosorpsiyonunda, hücre duvarı polisakkaritlerinin karboksil ve amino grupları ile metal arasındaki koordinasyon bağları ve adsorpsiyon sayesinde gerçekleştiğini öne sürmüşlerdir (Aksu vd, 1992). *Pseudomonas syringae* tarafından civa, bakır, çinko kadmiyum, magnezyum ve kalsiyumun toplanmasında sadece kompleks oluşum mekanizması sorumludur (Cabral,1992).

2.4.3.5. Çökelme

Yukarıda bahsedildiği gibi çökelme, hem hücre metabolizmasına bağlı olabilir, hemde bağlı olmayabilir. İlk durumda, çözeltiden metal uzaklaştırılması mikroorganizmanın aktif savunma sistemi ile ilişkilidir. Toksik metal varlığında, mikroorganizmanın aktif savunma sistemi ile metal reaksiyona girerek çökelmeyi teşvik eden bileşikler oluştururlar. *Scott ve Palmer*, *Arthrobacter* ve *Pseudomonas* türleri tarafından çözeltiden kadmiyum eliminasyonunu, hücre yüzeyindeki kadmiyum çökeleğinin detoksifikasyon sistemi ile belirlemişlerdir (Scott ve Palmer, 1990). İkinci durumdaki çökelme hücre metabolizmasına bağlı değildir, metal ile hücre yüzeyi arasındaki kimyasal etkileşim sonucunda olabilir. Bu olay *Rhizopus arrhizus* ile uranyum biyosorpsiyonun son basamağıdır. Uranyum kitin kompleksinin oluşumundan yukarıda bahsedilmiştir. Bunu kompleksin hidrolizi ve hidroliz ürünlerinin (uranil hidroksit) hücre duvarında çökmesi izler (Tsezos ve Volesky,1982).

2.4.4. Mikroorganizmalarla Ağır Metal Adsorbsiyonunda Ölü Hücrelerin Kullanılmasının Avantajları ve Dezavantajları

Çoğalamayan mikroorganizmalar, ölü organizma olarak tanımlanır. Ölü ve yaşayan hücrelerin metal alabilme kapasitesi karşılaştırılmış, çoğu durumda organizmanın iyon adsorblama yeteneğinin, ölü durumda daha yüksek olduğu bulunmuştur. Ölü hücrelerde

karşılaşılan yüksek metal birikimlerine neden olarak hücre yüzeyinin yapısında meydana gelen değişimler gösterilmiştir. Ağır metal adsorbsiyonunda ölü veya canlı organizmalar kullanılmasına ilişkin, henüz doğruluğu kanıtlanmamış, bu yüzden spekülasyon yaratacak bazı yaklaşımlar vardır. Bu noktada biyosorpsiyon yönteminin avantaj ve dezavantajlarını belirlemekte fayda vardır (Yalçuk, 1999).

Mikroorganizmalarla ağır metal adsorbsiyonunda ölü hücreler kullanılmasının avantajları şu şekilde sıralanabilir (Çubukçu, 1998; Yalçuk, 1999, Ucun, 2001):

• Sistemdeki mikroorganizma üreme parametreleri elimine edilir, metalin mikroorganizma üzerindeki zehirlilik etkileri önemsiz hale gelir.

• Besleme akımı besin ortamı bileşenlerini içermez.

• Çıkış akımında kullanılmamış besin ortamı bileşenleri bulunmaz.

• Besin ortamının bileşenleriyle metal kompleksleşmesi problemi yoktur.

• Metallerle kompleksleşebilen metabolik ürün oluşumu söz konusu değildir.

• Proses fizyolojik sınırlamalardan bağımsızdır. Örneğin çoğu mikroorganizma zayıf asidik ya da nötr pH değerlerinde ürer. Buna karşın sadece kuvvetli asidik pH' larda adsorblanabilen bazı metaller vardır.

• Tutuklama tekniğinin seçimi, zehirlilik veya ısıl inaktivasyonla sınırlanmaz.

• Metal giderimi çok hızlı ve verimlidir ve mikroorganizma bir iyon değiştirici gibi davranır.

• Metal desorbe edilebilir ve geri kazanılabilir.

• Sistem matematiksel olarak tanımlanabilir.

Ölü hücre kullanımının avantajları yanında dezavantajları da vardır (Çubukçu, 1998; Yalçuk, 1999; Ucun, 2001):

1-) Hücre yüzeyi çok hızlı bir şekilde metalle doygun hale gelir. Yüzeyde metali tutan yerler olduğundan, daha ileri arıtım için metali desorbe etmek şarttır.

2-) Adsorbsiyon pH gibi etkilere karşı duyarlıdır.

3-) Ölü hücreler, çökmeyi kolaylaştıran, metalin değerliğini biyolojik değiştirme potansiyeline sahip değildir.

4-) Organometalik türleri, metabolik olarak parçalama yeteneğine sahip değildirler.

5-) Ağır metallerin zehirleme etkilerine karşı dirençli zincirler geliştirme potansiyelleri yoktur.

Ağır metal adsorbsiyonunda canlı hücreler kullanmanın sağladığı yararlar ise aşağıda sıralanmaktadır (Yalçuk, 1999):

1-) Metal hücrelerin içinde toplandığından sabit bir konumdadır ve pH değişimiyle spontane desorpsiyona daha az duyarlıdır.
2-) Bu yöntem kuvvetli bağlanmış kompleksler halinde metallerin artımında özellikle tercih edilir.
3-) Metabolik aktivite, metalin değerliğini değiştirmede veya organik maddelerle kompleks oluşturmuş metalleri gidermede etkili olabilir.
4-) Canlı hücreler kullanılması halinde adsorbsiyonda etkili olan zinciri geliştirmek ya da metalin zehirli etkisini tolere edebilmek için genetik müdahale potansiyeli vardır.

Canlı hücrelerle çalışmanın tercih edilmeyen yönleri ise şu şekildedir (Yalçuk, 1999):

a-) Ağır metallerin zehirlilik etkileri nedeniyle düşük metal konsantrasyonlarında çalışır. Mikroorganizma yapısındaki diğer bileşenler ve radyoaktif elementler de zehirleyici olabilir.
b-) Besin ortamı bileşenlerine gereksinim vardır.
c-) Atıkta metabolik ürünler yoktur.
d-) Tüketilmeyen besin ortamı bileşenleri de dış atımda yer alır.
e-) Sistem tanımlanamadığı için matematiksel modellemesi güçtür.

Yöntem, değişik biyolojik materyallerin metal bağlama kapasitelerine göre değişiklik gösterir. Alg, bakteri, mantar ve maya bu biyolojik materyallere örnek olarak verilebilir. Bu yöntemin sadece metal uzaklaştırılmasında değil aynı zamanda altın ve gümüş kaplamacılığında da kullanıldığı belirlenmiştir.

Mikrobiyal biyokütle düşük yoğunlukta, zayıf mekanik dayanımı olan yapılardır. Büyük hacimlerde sulu çözeltide biyokütle ile metalin birleşimi güç olacağından, katı/sıvı ayırma problemlerinden dolayı, bu prosesin birim işlemlerde uygulanabilirliği yoktur. Adsorbsiyon-desorpsiyon döngüsünde biyokütle kullanılması ile yapılan çalışmalara ekonomik açıdan daha çok yer ayrılmaktadır. Üretilen biyokütle yerine atık biyokütle kullanılması proses ekonomisine katkıda bulunur. Adsorblanan materyale mümkün olabilecek en az zararı vererek bu materyalin yeniden kullanımına izin verilebilir olmalıdır (Yalçuk, 1999).

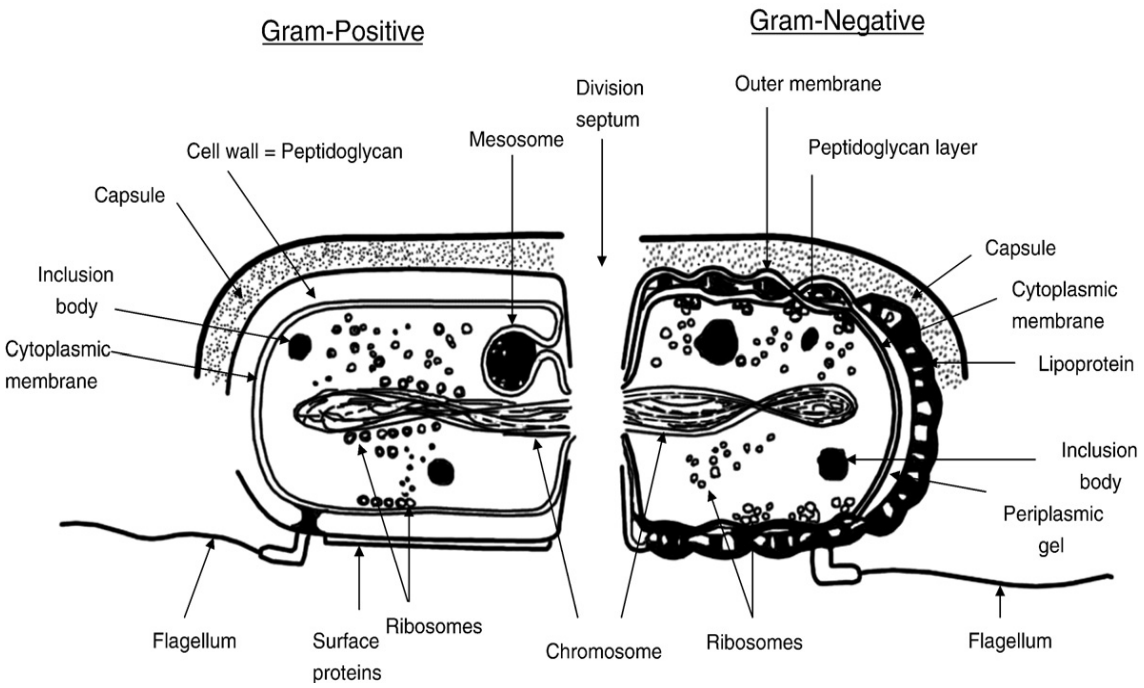
2.4.5. Biyosorbent Olarak Bakterilerin Kullanılması ve Bakterilerin Genel Yapıları

Bakterilerin basit bir yapısı vardır. Bakteriler yaygın olarak üç formda bulunurlar. Bunlar; küre biçiminde olanlar (koküs), sili bakteriler (basillus) ve spiral formda olan (spirilla) bakterileridir. Üç farklı formları olmalarına rağmen bakteriler genetik yapılarındaki farklılıklarından dolayı büyük oranda çeşitlilik gösterirler. Örneğin gram negatif bakterisi olan *Escherichia coli* 1.1-1.5 μm genişliğinde olup boyu 2.0-6.0 μm uzunluğundadır. Bakterilerin boyutlarının küçük olması biyolojik proseslerde hızlı bir etki göstermeleri açısından önemlidir.

Bakterilerin hücre çekirdeği yoktur fakat hücre duvarı vardır (Salton, 1964). Bakterilerin hücre duvarı hücrenin yapısal bütünlüğünü sağlar. Hücrede stoplazmik yapının dışında yerleşik halde bulunan peptidoglikan (poli-*N*-asetilglukozamin ve *N*-asetilmuramik asit) varlığı nedeniyle diğer tüm organizmalardan farklılık gösterir (Rogers vd., 1980). Peptidoglikan yapı, bakterinin hücre duvarının rijitliğinden ve hücre şeklinin belirlenmesinden sorumludur (Kolenbrander ve Ensign, 1968). Ayrıca bu yapı nispeden gözenekli ve küçük yüzeyinden dolayı bir sızdırmazlık bariyeri görevi de görür. Tüm bakterilerin hücre duvarları özdeş değildir. Bundan dolayı hücre duvarı yapısının farklı olması bakteri türlerinin farklılaşmasında önemli bir faktördür. Buna göre bakterilerin iki genel türünden biri olan gram-pozitif bakterilerinin aminoasit köprülerle bağlı kalın bir peptidoglikan tabakası vardır. Çapraz bağlı peptidoglikan molekülleri hücreyi ızgara şeklinde kaplayan bir ağ oluştururlar. Gram-pozitif bakterisinin hücre duvarında polialkoller gömülü olarak bulunur. Polialkoller teikoik asitleri ve lipoteikoik asit türlerini içerir. Lipoteikoik asitler ile stoplazmik membran arasında kovalent bağlar mevcuttur. Ayrıca Lipoteikoikler stoplazmik membrana peptidoglikan yapıyı bağlamakla sorumludur. Teikoik asitler, monomerleri arasında fosfodiester bağlar içermelerinden dolayı gram-pozitif bakterilerin hücre duvarlarına genel bir pozitif yük verirler (Sonnenfeld vd., 1985). Genel olarak gram-pozitif bakterilerinin hücre duvarlarının %90' ı peptidoglikan yapıdan oluşur.

Gram-pozitif bakterilerinin aksine gram-negatif bakterilerinin hücre duvarları çok incedir ve sadece %10 ile %20 oranında peptidoglikan yapıdan meydana gelir (Kolenbrander ve Ensign, 1968; Beveridge, 1999). Buna ilaveten hücre duvarlarında fosfolipid ve

lipopolisakkaritlerden oluşan ek bir dış zar bulunur (Sheu ve Freese, 1973). Şekil 2.6' da gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin yapısı görülmektedir. Lipopolisakkaritler doğaları gereği gram-negatif bakterilerin hücre duvarlarında genel bir negatif yük oluştururlar. Sherbert, 1978 yılındaki çalışmasında peptidoglikan yapıdaki anyonik fonksiyonel grupların, gram-pozitif bakterilerindeki teikoik asitlerin, gram-negatif bakterilerindeki fosfolipitlerin ve lipopolisakkaritlerin bakteri hücre duvarın anyonik karakterde olmasında ve hücre duvarına metal bağlama kabiliyetinden sorumlu olduklarını göstermiştir (Sherbert, 1978). Ekstrasülüler polisakkaritler de metal bağlama yeteneğine sahiptir (McLean vd., 1992). Ancak bu yapılar bakteri türlerine ve büyüme koşullarına bağlıdır.



Şekil 2.6 Gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin yapısı

2.4.6. Bakteriyal Biyosorpsiyonun Tarihi

1980'li yılların başlarında metalik elementleri toplamak için bazı mikroorganizmaların yetenekli olduğu görüldü. Rapor edilen sayısız araştırmalar bu konunun toksikolojik açıdan önemi üzerinde durmaktaydı, çünkü canlı hücrelerin aktif metabolizması nedeniyle bu metallerin yiyecek zinciri üzerinde birikmesi ve mikrobiyal hücrenin metabolik aktivitesi üzerine etkisiyle metallerin birikmesinden kaynaklandığı görülmüştür (Volesky, 1987). Ayrıca, daha sonraki araştırmalar göstermiştirki, inaktif/ölü mikrobial biyokütle, çeşitli

fizikokimyasal mekanizmalar yoluyla da pasif olarak metal iyonlarını bağlayabilir. Bu yeni tespitle, biyosorpsiyon üzerine yapılan çalışma metallerin/boyaların uzaklaştırılması için amaçlanmış olan farklı orjinli sayısız biyosorbentle aktif hale getirilmiştir. Araştırmacılar şunu açıklamaktadır ki, biyosorpsiyon sadece biyokütlenin tipine veya kimyasal kompozisyonuna bağlı değil ayrıca dış fizikokimyasal faktörlere ve çözelti kimyasına da bağlıdır. Çoğu araştırmacı biyosorpsiyon için mümkün mekanizmayı iyon değişimi, kompleksleşme, koordinasyon, adsorpsiyon, elektrostatik etkileşim, şelatlaşma ve mikropresipitation (mikroçökelme) olaylarından sadece biri ya da bu olayların kombinasyonu olarak açıklamaktadır (Veglio and Beolchini, 1997; Volesky and Schiewer, 1999).

Metal hidroksit ve diğer metal-ligand komplekslerinin oluşumu yüksek pH' ta sorblanan metal iyonlarının miktarını önemli ölçüde azaltır. Ayrıca, biyosorpsiyon mekanizması çoğu çalışmada kabul edilmemiş veya tartışılmamıştır, bununla birlikte bu durumda genelleme mümkün değildir. Biyosorpsiyonun kapsamı sadece metal iyonlarının tipine bağlı değildir, aynı zamanda hücresel çeşitlilikten dolayı bakteriyel genlere de bağlıdır. Çok kısa temas süresi genellikle metal-bakteriyal biyokütle durgun haline (steady state) ulaşmak için yeterlidir. Kütle transfer resistansının ihmal edilebildiği yerde, biyokütle, saf toz veya yaş hücre formunda kullanıldığından dolayıdır. Atık su muamele sistemlerinin tasarımı için, bakteriyal biyokütle ile gözlemlenen hızlı kinetikler avantajlı durum sergiler.

Boya biyosorpsiyonunun ilk çalışmalarından önemlileri fungal biyokütleler ve diğer düşük fiyatlı adsorbentlerin (Fu and Viraraghavan, 2001; Crini, 2006) kullanımı üzerine odaklanmaktadır. Aynı zamanda çoğu araştırma, bakterilerin biyodegradasyonu/ dekolorizasyonu üzerine odaklanmıştır (Forgacs et al. 2004; Pandey et al. 2007). C.glutamicum kuru ağırlığının 0.1-0.4 katı aralığında boya kaldırmasıyla, reaktif boyaların biyosorpsiyonunda iyi performans göstermektedir.

2.4.7. Bakteri Yüzeyinin Karakterizasyonu

Bakteriyal biyokütlerin ve biyosorpsiyon mekanizmasının karakterizasyonu farklı metodlarla açıklanabilir. Bunlar;

1-) Potansiyometrik titrasyon (Texier vd., 2000; Yee ve Fein, 2001; Phoenix vd., 2002),

2-) FT-IR (fourier transform infrared) (Beveridge ve Murray, 1980; Jiang vd., 2004; Vannela ve Verma, 2006),

3-) X-ray difraksiyonu (Carito vd., 1967; Lopez vd., 2000; Kelly vd., 2002; Kazy vd., 2006),

4-) Taramalı elektron mikroskobu (Tunali vd., 2006; Lu vd., 2006; Vijayaraghavan vd., 2007),

5-) Transmission elektron mikroskobu (Mullen vd., 1989; Kazy vd., 2006; Vannela ve Verma, 2006).

Potansiyometrik titrasyon bağlayıcık sağlayan bölgelerin sayısının ve tiplerinin belirlenmesine yardımcı olur. Yee ve Fein 2001 yılında bu yöntemi kullanarak gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerin pka değerlerini ve bağlayıcılık sağlayan bölgelerin sayısını belirlemişlerdir.

FT-IR kullanılarak bakterilerin bağlayıcı bölgelerinin yapısı ve biyosorpsiyon boyunca bu bölgelerin tutma miktarları ölçülebilir. Vannela ve Verma 2006 yılında yapmış oldukları çalışmalarında FT-IR kullanarak *Spirulina platensis* bakterisine tutturulmuş olan Cu^{2+} iyonunu gözlemlemişlerdir.

Bu analiz yöntemleri arasında en çok kullanılan yöntem SEM (Taramalı elektron mikroskobu) mikrografının alınması yöntemidir.

Bu yöntemde biyosorpsiyondan önce ve sonra hücre yüzeyinin görüntüsü alınır. Lu ve arkadaşları 2006 yılında *Enterobacter sp*. bakterilerinde metal iyonlarının hücre yüzeyinde tutunmalarını ve bu metallerin yüzeye verdiği hasarı SEM görüntüleri yardımıyla gözlemlemişlerdir.

2.4.8. Bakteriyal Biyosorpsiyon Mekanizması

Bakterilerin hücre duvarı metal iyonlarının bakteri ile ilk temas ettikleri alandır. Metal iyonları hücre duvarının ya içinde ya da yüzeyinde tutunurlar (Beveridge ve Murray, 1976; Doyle vd., 1980). Biyosorpsiyon mekanizmasında hücre duvarında bulunan kimyasal fonksiyonel gruplar metal iyonlarının hücre duvarında tutunmalarında hayati rol oynarlar. Hücre duvarının doğal bileşeninde fosfanat veya fosforik asit grupları, amin grupları, hidroksil grupları, karboksil grupları gibi çeşitli fonksiyonel gruplar bulunur (Doyle vd., 1980; Van derWal vd., 1997).

Karboksil grupları negatif karakterlerinden ve yapıda bolca bulunmalarından dolayı metal katyonlarının bağlanmasında aktif görev alırlar. Çözelti ortamında bulunan birçok boyar katyonlar da karboksil veya diğer negatif yüklü fonksiyonel gruplara ilgi duyarlar. Golab ve Breitenbach 1995 yılında Streptomyces *pilosus* bakterisinin peptidoglikan yapıda bulunan karboksil gruplarının bakırın bağlanmasından sorumlu olduklarını göstermiştirler.

Amin grupları hidrojen bağı veya elektrostatik etkileşim yoluyla sadece katyonik metal şelatlarının değil anyonik metal türlerinde hücre duvarında adsorplanmasını sağlarlar. Kang ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada amin gruplarının pH 3.0' te protonlandığını ve bu gruplara negatif yüklü kromat iyonlarının elektrostatik etkileşimle bağlandıklarını gözlemlemişlerdir.

Bu bağlanma mekanizmasını sadece bakterilerin yüzey kimyası etkilemez. Metallerin yüksek pH değerlerinde hidroksillenmeleri de etkiler. Lopez ve arkadaşları 2000 yılında yapmış oldukları çalışmalarında farklı pH aralıklarında nikel çözeltisi hazırlamışlar ve nikelin bakterinin hücre duvarında adsoplanmasını incelemişlerdir.

Deney sonucunda 1.0 ve 7.0 pH aralığında hazırlanan nikel çözeltilerinde Ni^{2+} iyonunun %90 verimle tutunduğu fakat pH 9.0' da %68 verimle tutunduğunu gözlemlemişlerdir.

2.4.9. Biyosorpsiyonu Etkileyen Faktörler

2.4.9.1. Çevresel Etkiler

Metal iyonlarının biyokütle üzerinde tutunmaları birçok çevresel faktör tarafından etkilenir. Bu faktörlerin en etkili olanı metallerin tutulduğu çözeltinin pH değeridir. Diğer faktörler; çözeltinin sıcaklığı, karıştırma hızı, biyokütle miktarı ve iyon rekabetidir.

2.4.9.1.1 pH Etkisi

Biyosorpsiyon prosesinde en önemli çevresel faktör çözeltinin pH değeridir. Bu faktörün sadece bağları koparma etkisi yoktur, bunun yanında hedef metalin organik ve/veya inorganik ligantlar ile kompleksleşmesini sağlar (Fiol vd., 2006). Metallerin başarılı bir şekilde biyosorpsiyonlanmaları genellikle pH 3.0 ile pH 7.0 arasında meydana gelir. Vianna ve arkadaşları 2000 yılında yapmış oldukları çalışmada bakır, kadmiyum ve çinko için maksimum geri aldıkları pH değerini 4.5 olarak bulmuşlar ve pH 3.5 veya 2.5' e düşürüldüğünde geri alımda önemli bir azalma gözlemlemişlerdir. Bu etki biyosorpsiyon reaksiyonlarında negatif yüklü fonksiyonel gruplar ile metal katyonlarının etkileşmelerine yol açmaktadır.

Biyosorpsiyon proseslerinde metal iyonları spesifik pH değerlerindeki davranışlarına göre sınıflandırılmaktadır (Madrid ve Camara, 1997). Birinci sınıf metaller; Al^{3+}, Cu^{2+}, Cr^{3+}, Co^{2+}, Fe^{3+}, Ni^{2+}, Pb^{2+}, UO_2^{2+} ve Zn^{2+}' dir. Bu sınıftaki metaller nötrale yakın pH değerlerinde güçlü bir bağlanma gösterirler. Ancak pH < 2.0 olduğunda kolaylıkla ayrılırlar veya bağlanmazlar. İkinci sınıf metaller; $PtCl_4^{2-}$, CrO_4^{2-} ve SeO_4^{2-}' dir. Bu sınıftaki metaller birinci sınıf metallerin tersi bir davranış sergilerler. Düşük pH değerlerinde güçlü bir bağlanma gösterirler. Fakat pH > 5.0 olduğu durumlarda bu bağlanma zayıflar. Üçüncü sınıf metaller; Ag^{+}, Hg^{+} ve $AuCl_4^{-}$' dir. Bu sınıftaki metaller tüm metaller içinde en güçlü bağlanan sınıftır. Bunların özellikleri bağımsız pH değerlerinde bağlanma gösterebilmeleridir (Madrid and Camara, 1997).

Çoğu metal çözelti ortamında 2. ve 3. sınıf metallerin özelliklerini gösterirler. Niu ve Volesky 2003 yılında yapmış oldukları çalışmada yengeç kabuklarında iyonik halde bulunan altın, selenit, kromat ve vanadat' ın optimum pH değerlerini belirlemişlerdir. Bu pH değerleri altın için pH 3.4, selenyum için pH 3.0, kromat için pH 2.0 ve vanadyum için pH 2.5 olarak bulunmuştur.

Düşük pH değerlerinde hücre duvarında bulunan ligandlar yüksek protasyona uğrarlar ve bunun sonucunda yüzey pozitif yüklenir. Benzer şekilde, hücre duvarında bulunan negatif yükleyici fonksiyonel gruplar yüzeyi negatif yüklerler (Parsons vd., 2003).

2.4.9.1.2. Sıcaklık Etkisi

Sıcaklık biyosorpsiyonun gerçekleştiği reaksiyonlarda önemli bir parametredir ve teorik olarak sıcaklık arttıkça biyosorpsiyon azalmaktadır ve biyosorpsiyonunun ilk anlarında biyokütleye bağlanan iyonlar artan sıcaklık nedeniyle tekrar biyokütleden salınma eğilimindedirler (Horsfall ve Spiff, 2005). Mungasavalli ve arkadaşlarının 2007 yılında yapmış oldukları çalışmada ön işleme maruz bırakılmış *Aspergillus niger* biyokütlesi ile gerçekleştirdikleri Cr biyosorpsiyonunun 5-35 °C arasında artan sıcaklık ile Cr gideriminin azaldığını ve bu nedenle gerçekleşen reaksiyonunun ekzotermik olduğunu belirtmişlerdir (Mungasavalli vd., 2007). Öte yandan Deng ve arkadaşları. Benzer sıcaklık aralıklarında gerçekleştirdikleri çalışmada sıcaklık artısı ile biyosorpsiyonun arttığını ve gerçekleşen reaksiyonun endotermik olduğunu belirtmişlerdir (Deng vd., 2007).

2.4.9.1.3. Karıştırma Hızı

Ağır metal biyosorpsiyonuna etki eden diğer bir faktör ise prosesin gerçekleştiği ortamdaki karıştırma hızıdır. Ahmad ve arkadaşları sentetik kauçuk ham maddesi tozu üzerine palmiye yağı adsorpsiyonunu inceledikleri çalışmalarında karıştırma hızının artması ile yağ adsorpsiyonu hızının ve yağ gideriminin arttığını belirtmişlerdir (Ahmad vd., (2005). Karıştırma hızının artması ile adsorpsiyon hızını yavaslatan yüzey film kalınlığında azalma meydana geldiğini ve böylelikle yağın partikül yüzeyine daha kolay ulastığını ifade etmistir.

2.4.9.1.4. Biyokütle Miktarı

Biyosorpsiyon proseslerine etki eden diğer önemli faktörlerden bir tanesi de biyokütle miktarıdır. Genel bir kural olarak sabit bir metal konsantrasyonunda biyosorpsiyon proseslerinin gerçekleştiği çözelti ortamındaki biyokütle miktarının artması ile biyosorpsiyon verimi artmaktadır. Başlangıç konsantrasyonu sabit iken çözeltide kalan iyon konsantrasyonunun azalması ve biyokütle miktarının artması ile biyosorpsiyon kapasitesi azalmaktadır. Yu ve arkadaşları akçaağaç talaşı ile gerçekleştirdikleri Cr (VI) giderimi çalışmalarında biyokütle miktarı artışı ile biyosorpsiyon veriminin artmasının sebebini, daha yüksek biyokütle miktarlarında iyonlar açısından daha büyük bağlanma bölgeleri veya yüzey alanı oluşması şeklinde ifade etmişlerdir (Yu vd., 2007).

2.4.9.1.5. İyon Rekabeti

Biyosorpsiyonun endüstriyel koşullara uygulanmasında önemli derecede zorlayıcı bir durum vardır. Bu zorlayıcı durum biyokütlenin atık sulardaki diğer metallere karşı gösterdiği davranıştır. Bu davranış genellikle metal iyonlarının biyosorbentin bağlayıcı özellik gösteren yerlerine olan düşük ilgilerinden veya biyosorbentin bağlama özelliği gösteren yerlerinin metallere karşı spesifik olmasından kaynaklanmaktadır. Tsezos ve arkadaşlarına göre Pearson'un zayıf asit zayıf baz ve kuvvetli asit kuvvetli baz teorisi metallerin derecelendirilmesi ile ilgilidir (Tsezos vd.,1996). Buna kısaca HSAB denilmektedir. HSAB teorisi basitçe şöyle ifade edilir; kuvvetli asitler, kuvvetli bazları; zayıf asitler, zayıf bazları tercih ederler (Pearson, 1968). Bu teorinin biyosorpsiyonla olan asıl ilişkisi atık sularda aynı yükteki metallerin göstermiş oldukları bağlanma bölgelerine olan ilgileridir.

2.4.10. Biyokütlelerin İmmobilizasyonları

Katı destek üzerine biyokütlenin immobilizasyonu, kimya mühendisliğinde kullanılacak numune için gerekli olan boyut, mekanik kuvvet, sertlik ve gözeneklilik sağlar.

Biyokütlenin immobilizasyonu için literatürde çeşitli teknikler vardır (Veglio ve Beolchini, 1997).

2.4.10.1. İnert Destek Üzerine Adsorpsiyon

Destek materyaline, başlangıç kültürü ile aşılama ve sterilazyondan sonra fazla mayalayıcı eklenir ve devamlı kültürün içinde destek maddesi üzerinde mikroorganizma film tabakası oluşana kadar kalır (Veglio ve Beolchini, 1997).

2.4.10.2. Polimerik Matriks Üzerine Tutunma

Kalsiyum alginat, poliakrilamit, polisülfon, polietilenimin, polihidroksi etilmetakrilat kullanılan polimerlerdir. Kalsiyum alginat ve poliakrilamit immobilizasyonundan oluşan materyaller jel parçacıklardan oluşmaktadır. Polisülfon ve polietileniminden oluşan materyallerin ise en kuvvetlisi olduğu kanıtlanmıştır.

2.4.10.3.Taşıyıcı Bileşiklere Kovalent Bağlanma

En yaygın taşıyıcı bileşik silika jeldir. Bu materyal jel parçacıklardan oluşur. Bu teknik alg immobilizasyonu içerisinde en önemlisidir.

2.4.10.4. Bağlayıcılar ile Tutunma

Bağlayıcıların eklenmesi kararlı hücre agregatlarının oluşmasını sağlar. Bu teknik en fazla alglerin immobilizasyonunda kullanılır. En yaygın kullanılan bağlayıcılar; formaldehit, glutarik dialdehit, divinilsülfon ve formaldehit-üre karışımlarıdır.

2.4.11. Biyosorbe Edilen Metal İyonlarının Yıkanması, Geri Kazanılması ve Biyokütlenin Tekrar Kullanımı

Biyokütlenin ekonomikliği belirlenirken, tutulan metalin geri kazanımı ve yıkanan biyokütlenin tekrar kullanılabilirliği göz önünde bulundurulur. Tekrar kullanım biyosorpsiyon prosesinin maliyetini oldukça düşürebilir. Biyosorpsiyon üzerinde yapılan çalışmaların önemli bir bölümü yıkama çözeltilerine yöneliktir. Yıkama çözeltilerinin maliyeti ve desorpsiyondaki minimum kullanım periyodu oldukça önemlidir (Brierley,1990). Damıtık su ile yapılan geri yıkama işleminin verimi düşüktür (Kapoor vd, 1999). Genelde biyokütleden metal iyonlarının geri yıkanması işleminde kullanılan çözeltiler HCl, ve HNO_3 gibi mineral asitler, EDTA gibi jelatinleşen çözeltiler içeren kompleks çözeltiler ve karbonat, bikarbonat ve klorit anyonları içeren bileşiklerdir (Zhang vd, 1998). EDTA ve HCl, bağlı metallerin geri kazanılmasında etkin yıkayıcılardır.

Penicillium biyokütlesinde adsorbe edilmiş uranyumun alkali karbonatlarla yıkanması sonucu, tutulan miktarın %94-99' u biyokütleden geri yıkanmıştır. Aynı çalışma EDTA ile tekrarlanmış ve uranyumun %61' i geri kazanılabilmiştir. Yıkanan biyokütle tekrar kullanılmış ve adsorplama özelliğinden hiçbir şey kaybetmediği gözlenmiştir (Matheickal vd., 1991). Lewis ve Kiff, tutukladıkları mantar biyokütlesi ile kadmiyumu kolon çalışması ile biyosorbe etmişler ve daha sonra kolonu 0.1 M HCl ile geri yıkamışlardır. Sonuçta bağlı metalin %95' inden fazlasını uzaklaştırmıştır (Lewis ve Kiff, 1998).

Biyokütle daha sonra deiyonize su ile durulandıktan sonra altı kez daha kullanılmış ve altıncı kullanımda başlangıçtaki biyosorpsiyon kapasitesinin %85' i gerçekleşmiştir. Matheickal ve arkadaşları EDTA ve HCl çözeltilerini ayrı ayrı kullanarak *Genoderma lucidum.*dan bakırın hemen hemen tamamını geri kazanmıştır (Matheickal vd., 1991). Burada desorpsiyon mekanizması şu şekilde açıklanmıştır: HCl ile geri yıkamada yüksek konsantrasyona sahip olan hidrojen iyonları aktif bölgelerden bakır iyonlarını çıkarır ve onların yerine fonksiyonel gruplara bağlanır.

Bu şekilde bakır iyonları biyokütleden ayrılır. EDTA ile desorpsiyonda ise EDTA bakır ile güçlü kompleksler oluşturur. Bakır iyonları için EDTA ve biyomas arasında muhtemelen bir rekabet vardır. EDTA ve HNO_3, HCl gibi mineral asitler *Rhizopus*

nigricans.dan metal iyonlarının desorpsiyonunda etkin yıkama sağlarlar. Bu yıkamada 2 g/l lik katı/yıkama çözeltisi oranı ve 0.5 M konsantrasyonunda geri yıkayıcı kullanılmıştır (Zhang vd, 1998). *Mucor meihi*.den kromu yıkama sırasında NaOH ve H_2SO_4 ayrı ayrı ve birlikte kullanıldılar. Yıkamada 10 ve 20 katı/yıkama çözeltisi oranı uygulanmıştır. Asit ve bazın birlikte kullanımı ile %100 geri kazanım gerçekleştirilmiştir. *A. Niger*.den metal iyonlarının geri kazanımın da 0.05 M nitrik asit etkili olmuştur. Yıkama sonrası biyolojik kütle 0.1 M Ca, Mg, K içeren çözeltiler ile yenilenme sonunda biyomasın metal giderim kapasitesinin aynı kaldığı tespit edilmiştir (Kapoor ve Viraraghavan, 1997).

2.4.12. Biyosorpsiyonun Geleceği

Biyokütle hem boyaların hemde metal iyonlarının ayrılması için verimli ve potansiyel bir biyosorbent sınıfıdır. Maalesef, mikrobiyal biyokütlenin zayıf seçicilikleri gibi yeniden kullanımındaki farklılık gerçek koşullar altında uygulamalara engel olur. Atık su muamelesi için biyosorpsiyonun ticarileştirilmesinde bazı denemeler yapılmasına rağmen, bu işlemin son on yılda eser düzeydeki araştırmalardan daha çok olduğu düşünülmektedir. Gerçek durumlar için biyosorpsiyon teknolojisinin başarılı uygulamaları için gerekli olan önemli değerleri içerir, bunlar aşağıdakilerle sınırlandırılmaz:

►Yeterli derecede yüksek biyosorpsiyon kapasitesi ve seçiciliğiyle çoğu ümit verici biyokütlenin taranması ve seçimi.

►pH, sıcaklık, iyonik şiddet ve yardımcı iyon etkisinin optimizasyonunu içeren maximum biyosorpsiyon koşullarının optimizasyonu

►Biyokütlenin mekanik şiddetini incelemek ve yeniden kullanmak için yeterli değilse, uygun immobilizasyon veya diğer kimyasal metotlarla dayanıklılığını arttırmak

►İşlemin farklı modlarında biyosorbentin performansını test etmek

►Gerçek endüstriyel atık sularla kullanımı için biyosorbentin davranışını incelemek ve eş zamanlı olarak spesifik kirlilik bölgesindeki biyosorpsiyon üstündeki su kalitesinin etkisini analiz etmek

Bunun aksine, bu tekniğin onaylanmış geleneksel tekniklerle yer değiştirmesi olasıdır. Bununla birlikte, uygun maliyete ek olarak, biyosorpsiyon büyük bir potansiyele sahiptir. Aynı zamanda biyosorbentlerin yüzlercesi çeşitli kirliliklere bağlanabilir. Biyosorpsiyon için uygun mekanizmanın anlaşılabilmesi için çeşitli biyomateryallerle çeşitli araştırmalar gerçekleştirilmiştir. Bununla birlikte, devam eden araştırmalar arasında, özellikle pilot ve full-ölçekli biyosorpsiyon üzerinde, son günlerde kullanılan teknolojiden daha yararlı ve etkili biyosorpsiyon teknolojisiyle durum yakın gelecekte değişecektir.

2.5. AKIŞ ENJEKSİYON

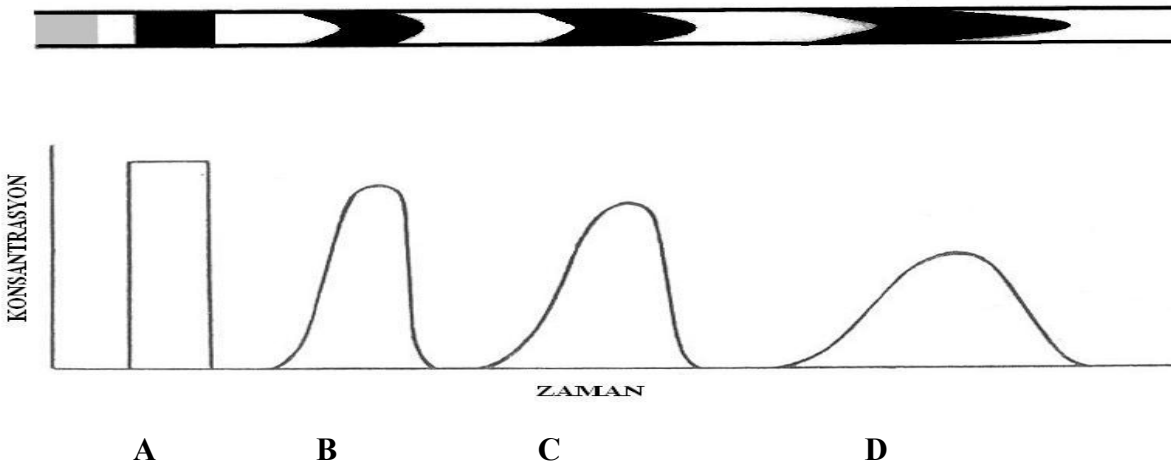
Akış enjeksiyon yöntemleri şu andaki kullanılan şekliyle, ilk olarak 1970' li yılların ortalarında Danimarka'dan Ruzicka ve Hansen, A.B.D.'den ise Stewart tarafından geliştirilmiştir. Akış-enjeksiyon yöntemleri, 1960' lı ve 1970' lı yıllarda tıbbi teşhis amacıyla kan ve idrardaki türlerin otomatik ve rutin tayinleri için klinik laboratuarlarda yaygın bir şekilde kullanılan, kesikli-akış işlemlerinden yararlanılarak geliştirilmiştir. A.B.D.' de tek bir firma tarafından üretilen kesikli-akış sistemlerinde, numuneler sistem içinden bir dedektöre birbirine yakın hava kabarcıkları içeren akan sulu bir çözelti ile taşınmaktaydı. Hava kabarcıklarının amacı, aşırı numune dağılımını önlemek, numune ve reaktiflerin türbülent akımla karışma derecesini arttırmak ve numuneler arasındaki karşılıklı kirlenmenin önüne geçmek amacıyla akış yollarının çeperlerini temizlemekti. Ancak, şu andaki akış analiz sistemini geliştirenler, aşırı dağılmayı ve karşılıklı kirlenmeyi neredeyse tamamen ortadan kaldıracak şekilde, hava kabarcığı bulundurmayan ve numune ile reaktiflerin birbiriyle kolayca karışmasını sağlayan uygun şekilde tasarlanmış sistemleri bulmuşlardır. Hava kabarcığının olmamasıyla yüksek analiz hızları, çok daha hızlı açma ve kapama süreleri, iyi cevap süreleri elde edilmiştir (Skoog vd., 1997)**.** Akış-enjeksiyon sisteminin gelişmesi ve üzerinde yapılan çalışmalarla beraber 1992 yılında Fang yeni ve kısa bir tanım ortaya çıkarmıştır. Fang' a göre akış enjeksiyon; numune ve reaktifin uygun bir şekilde akış sistemi içinde termodinamik şartlar altında karışmasıyla yürütülen bir analiz tekniğidir (Fang, 1995).

Eğer akış-enjeksiyon için genel avantajları özetlersek; hassaslık, seçicilik, ekonomi ve uygulanabilirlik diyebiliriz. Hassaslık, on-line dilüsyon ve önzenginleştirme ile analitik aralığın genişlemesidir. Seçicilik ile on-line matriks ayırma diyebiliriz. Ekonomi ile düşük numune ve reaktif tüketimi elde edilir. Uygulanabilirlik, ultra-eser elementlerin dahi kapalı bir sistemle analiz edilebilmesidir.

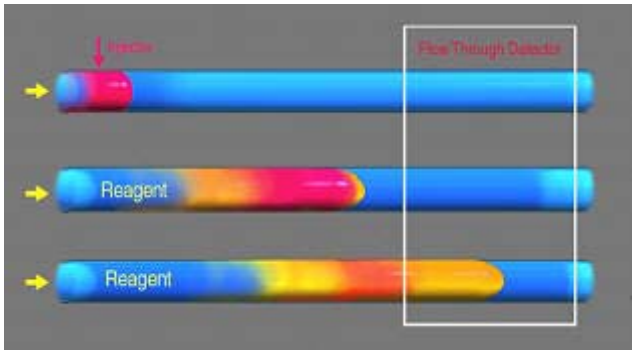
2.5.1.Temel Prensipler

Ruzika ve Hansen tarafından akış enjeksiyon prensipte 3 noktayla ilişkilendirilmiştir; numune enjeksiyonu, enjekte edilen sıvının kontrollü dağılımı, enjeksiyon noktasından dedektöre kadar olan kontroldür.

Numune alma valfi yardımıyla enjeksiyon işlemi yapılır yapılmaz, akış enjeksiyon cihazındaki numune bölgesi**,** Şekilde 2.7.A' da gösterilen dikdörtgen derişim profiline sahip olur. Numunenin boru içindeki hareketi sırasında band genişlemesi veya dağılma olayı meydana gelir. Sonuçta oluşan bölgenin şekli iki olay tarafından belirlenir. Bunlardan birincisi, konveksiyon olayıdır ve borunun merkezindeki akışın boru çeperindeki akışa göre daha hızlı olduğu laminer akışta bu olay artar; böylece Şekil 2.7.B de görüldüğü gibi, önden bakıldığında parabol şeklinde ve yandan bakıldığında çarpık şekilli bir bölge meydana gelir. Temelde iki türlü difüzyon meydana gelebilir. Bunlar; radyal veya akış yönüne dik doğrultudaki difüzyon ve akış yönüne paralel difüzyondur. Görüldüğü gibi, bunlardan ikincisi dar borularda önemsizken, radyal difüzyon bu şatlarda daima önemlidir. Gerçekte, düşük akış hızlarında bu durum dağılma olayının ana kaynağı olabilir. Bu gibi şartlar mevcut olduğunda, Şekil 2.7. D de görüldüğü gibi, simetrik dağılma elde edilir. Gerçekte, akış enjeksiyon analizleri genellikle, konveksiyon ve radyal difüzyonun meydana geldiği her iki dağılma şartlarında gerçekleştirilir; bunun sonucunda Şekil 2.7. C de görülene benzer pikler elde edilir. Burada çeperlerden merkeze doğru oluşan radyal dağılmanın, çeperlerindeki analitin temizlenmesi açısından önemli bir görevi vardır ve böylece numuneler arasındaki karşılıklı kirlenme olayı ortadan kalkmış olur (Skoog vd., 1997)**.**



Şekil 2.7 Akış-enjeksiyon analizinde numunenin aldığı yol



Şekil 2.8 Akış-enjeksiyon analizinde numunenin aldığı yol üç boyutlu gösterim

2.5.1.1. Dağılma

Dağılma (D) aşağıdaki bağıntı yardımıyla açıklanır;
D=Co/C' dir. Burada,

Co enjekte edilen numunenin analit derişimi ve C dedektördeki pik derişimidir. Dağılma, bilinen Co derişimin de bir boya çözeltisinin enjekte edilmesi ve daha sonra bu çözeltinin akış hücresi içindeki absorbansının ölçülmesi ile kolaylıkla ölçülebilir. Kalibrasyondan sonra, Beer yasasından C hesaplanır.

Dağılma, birbiriyle ilişkili ve kontrol edilebilen üç değişken tarafından etkilenir. Bunlar;

i) Enjekte edilen numune hacmi,

ii) Taşıyıcı sistemin akış-hızı,

iii) On-line olarak kullanılan reaktiflerin ve taşıyıcı sistemin geometrik şekilleri ve konfirasyonları.

Enjekte edilen sıvının hacmi çoğu durum için dağılımı etkileyen önemli faktörlerdendir. Diğer parametreler uygun olduğunda enjekte edilen sıvı aynı dağılım prosesine sahiptir.

Akış-enjeksiyon ile ilgili ilk deneyimlerde dağılımın akış-hızının düşmesiyle azaldığına dair tespitler vardır. Deneysel olarak uygun bir cihaz kullanıldığında dağılımın aslında 1.6-4.0 mL/dak arasındaki değişik akış-hızlarından çok az olarak etkilendiği gösterilmiştir. Taşıyıcı ile akış sistemi arasındaki akış-hızı oranının etkisi dağılımında açık bir şekilde bellidir ve dilusyon etkisi belki de orandan dolayı önceden tahmin edilebilir (Fang, 1995).

Sıcaklık ve viskozite gibi diğer faktörler de dağılım etkiler. Ayrıca dağılma; tüp uzunluğunun ve çapının artmasıyla, dedektör hacminin artmasıyla da artar (Alfredo, 1999)**.** Bu faktörler çok değişik durumlar uygulama sırasında meydana gelse de çok nadir olarak göz önünde bulundurulur. Yani bu faktörlerin etkisi dağılımın kontrolünde pek gözlenmez.

2.5.2. Cihaz

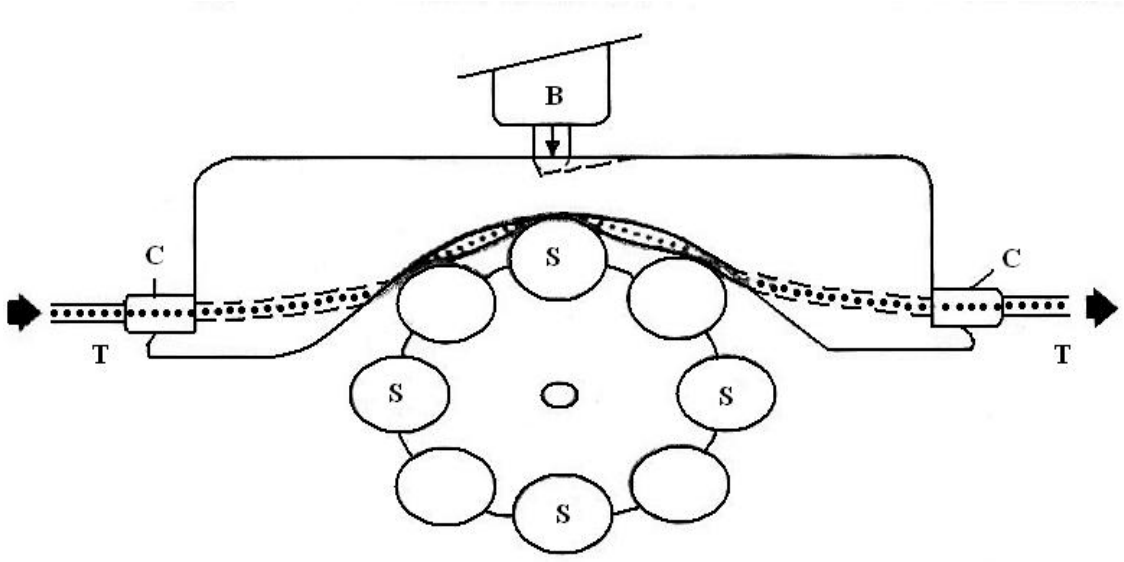
Akış-enjeksiyonda kullanılan sistemler temel olarak üç önemli kısımdan meydana gelir. Bunlar örneklemenin yapıldığı enjeksiyon valfleri, itme kuvvetinin oluşturulduğu peristaltik pompa ve bağlantı tüplerinden oluşur. Tabi ki günümüzde bu sistemler artık çok ilerlemiş ve daha hassas ve seçici analizlerin gerçekleştirilebilmesi yani zenginleştirme ve ayırma işlemlerinin yeterince meydana gelmesi veya yakma işlemlerinin kusursuzca gerçekleşmesi için aparatlar da bağlanmaktadır

2.5.2.1. Peristaltik Pompalar

On-line sistemlerde kararlı ve sürekli sıvı akısının sağlanması en basit ve gerekli şarttır. Kullanılacak sıvı yürütücü cihazların bazı özellikleri aşağı belirtilmiştir:

1-) Kısa veya uzun süreli tekrarlanabilirlik akış hızı sağlamalıdır.
2-) Çok kanallı olmalıdır.
3-) Her bir kanal için kolay ayarlanabilir akış hızına sahip olmalıdır.
4-) Korozif reaktif ve çözücülerden etkilenmemelidir.

Peristaltik pompalar çok yönlü itme kuvveti sağlayan aletlerdir. Şüphesiz çok sıklıkla sadece akış-enjeksiyon analizinde değil diğer sürekli-akış analiz sistemlerinde de kullanılmaktadır. Şekil 2.9' da tipik peristaltik pompa çeşitli bileşenleriyle beraber gösterilmiştir. Böyle pompaların çok yönlü kullanılmalarının altında paralel pompa tüpleri sayesinde çok kanallı özellik sunmaları yatmaktadır. Bunların dezavantajları yüksek titreşimlerinin olması, uzun sürede akış-oranının kararsızlığı, pompa tüpleriyle ilgili olarak 300 saatlik çalışma süresine sahip olmaları ve çoğu organik çözücüye kuvvetli asitlere olan dirençleridir. Lakin bütün bu olumsuzluklara rağmen pompalar düzenli kullanıldıklarında kabul edilebilir bir performans ortaya koyabilirler.



Şekil 2.9 Peristaltik Pompa. B:sıkıştırma noktası, C: tüp uçları, S: silindir, T: tüp

Peristaltik pompaların performansı çoğunlukla onların doğru kullanımına bağlıdır. İtme kuvveti sağlayan bir alet akış-enjeksiyon analizinin kalbi olarak görüldüğünden onun doğru kullanımı bütün sistemin performansı açısından birinci derecede önceliğe sahiptir. Ama maalesef çok sık olarak peristaltik pompanın düzenli kullanımına önem verilmemektedir. Genel olarak peristaltik pompayı kullanırken şunlara dikkat edilmelidir;

a-) İyi bir performans sağlanabilmesi için tüplere uygun basınç sağlanmalıdır. Bunun için sıkıştırma ayarı silindirlerin üzerinde iyi yapılmalıdır.

b-) Pompa tüpleri uzun ömürlü olabilmeleri ve yumuşak bir işlem gerçekleştirebilmeleri için küçük miktarda silikon bir yağla yağlanmalıdır.

c-) Yeni ve kullanılmış pompa tüpleri veya çeşitli marka ve maddelerden yapılmış pompa tüpleri silindirlerde beraber kullanılmamalıdır. Böyle bir kullanım basıncın sağlıklı bir şekilde kontrolünü gerçekleştiremez.

d-) Ticari pompa tüplerinde renk kodlarına dikkat edilmelidir.

e-) Bazı çözeltiler için uygun pompa tüpü çeşitleri kullanılmalıdır. PVC (Tygon) tüpler bazı organik çözeltiler için yeterli olmayabilir. Bunun için Solvaflex, Verdoprene, Marprene, Viton gibi geniş çözücü aralığındaki tüpler tercih edilmelidir (Fang, 1995).

Bu özelliklerden çoğuna sahip en gelişmiş sıvı sürücü cihaz Peristaltik pompalardır. Şekilden de anlaşıldığı gibi diğer pompa sistemlerinden Peristaltik pompaların en ayırıcı özelliği çözelti ile pompa aksamının herhangi bir kısmı temas etmemektedir.

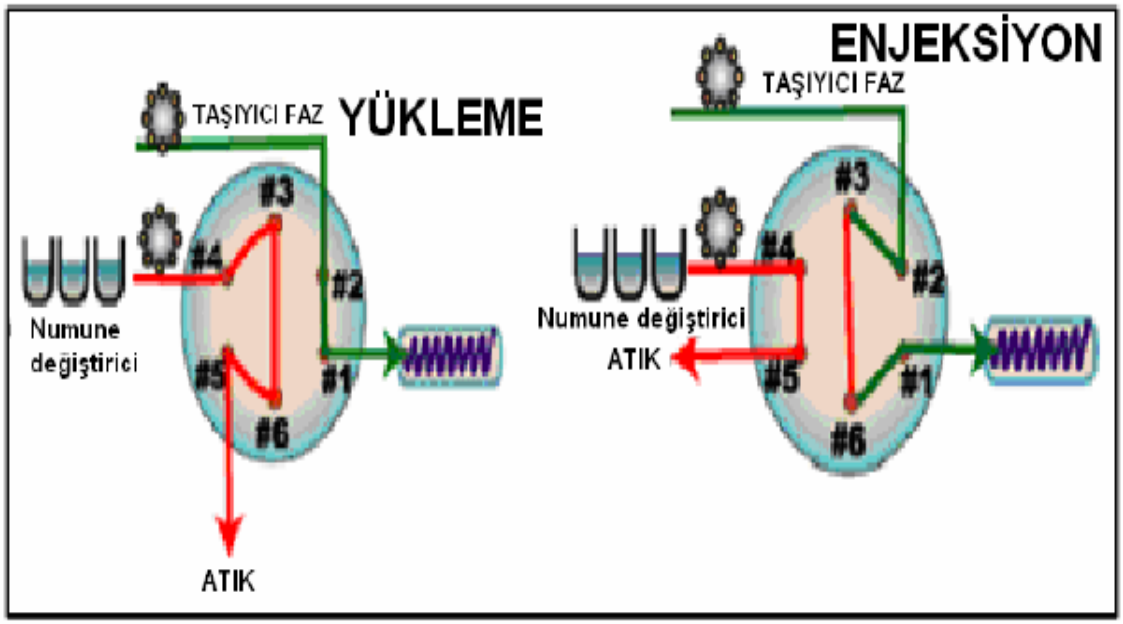
2.5.2.2. Enjeksiyon Valfi

Numune enjeksiyonu akış-enjeksiyon analizinin köşe taşlarından olduğundan metodun gelişimi sırasında bu bileşene büyük önem verilmiştir. Akış-enjeksiyon analizinde kullanılan enjektörler çeşit ve performans bakımından HPLC' de bulunan enjektörlere benzemektedir. Enjeksiyon valfinin temel görevi, hareketli bir taşıyıcı akış içinde numunenin belirli bir hacminin kayıp olmadan sisteme girişinin sağlanmasıdır. Fakat bu işlem zamanla reaktifin numuneye enjeksiyonu, kolon kullanarak önzenginleştirmenin yapılması ve taşıyıcı tüpler ile akış yönünün değiştirilmesi gibi diğer görevler için geliştirilmiştir. Bugün, enjeksiyon valfleri

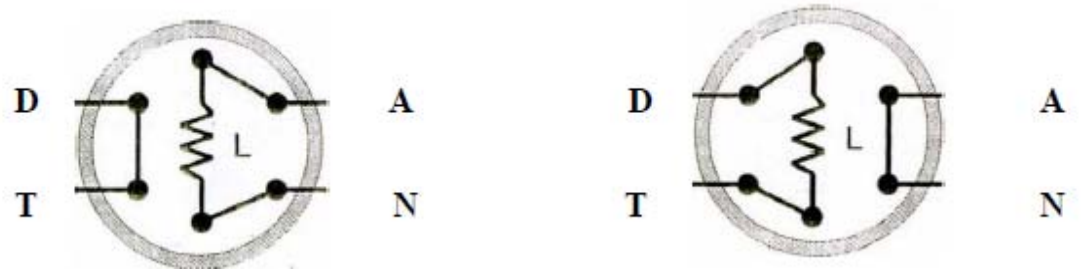
akış-enjeksiyon atomik absorpsiyon spektrometresinde çok fonksiyonlu, otomasyonun sağlandığı ve çözücü desteği gibi rutin amaçlar için kullanılır.

Başarılı bir analiz için, numune çözeltisinin bir puls veya bir sıvı damlası oluşturacak şekilde hızla enjekte edilmesi önemlidir; ayrıca enjeksiyonlar taşıyıcı akımın düzenini bozmamalıdır.

Akış-enjeksiyon analizinde genellikle 6 ve 8 uçlu döner valfler kullanılır. 6 uçlu döner valflerin dizaynı Şekil 2.10' da gösterilmiştir.



Şekil 2.10 Akış enjeksiyon valflerinin gösterimi



Şekil 2.11 6 uçlu döner valf. D: dedektör, T: tüp, L:yükleme, A:atık, N: numune girişi

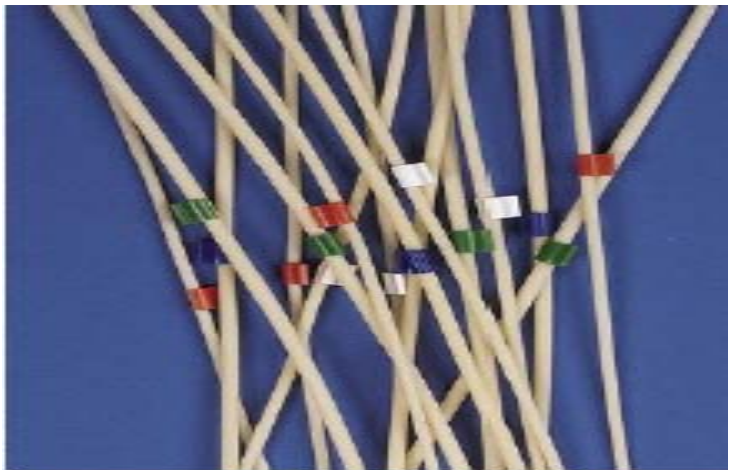
Burada döndürücünün üstünde 6 uç vardır. Bunlar numune girişinin olduğu çıkış, atık çıkışı, dedektöre giden kısım, taşıyıcı kısım ve numunenin iki uç arasında taşındığı kısımdır.

Enjeksiyon valfini kullanarak istenilen kısım aktif hale getirilirek işlem yapılır. Akış-enjeksiyon atomik absorpsiyon spektrometresinde valfler basit amaçlar için kullanılabilir fakat on-line ayırma ve zenginleştirme gibi çok amaçlı işlemler için yeterli olmayabilir (Fang, 1995).

2.5.2.3. Taşıyıcı boru ve Bağlantılar

Akış-enjeksiyon analiz sisteminde taşıyıcı borular değişik bileşenler arasındaki bağlantıyı sağladığından dolayı temel bir görevi vardır. Akış-enjeksiyon analiz sisteminde kullanılan taşıyıcı borular Şekil 2.12' de gösterilmiştir.

Genellikle akış-enjeksiyonda çözelti, akışkanın plastik borular içinde silindirlerle sıkıştırıldığı bir peristaltik pompayla sistem boyunca taşınır. Piyasada bugün çok çeşitli boyutlarda boru çeşitleri vardır. PTFE tüpleri 0.35-1.0 mm i.d.' ye sahip olup, inert ve yarı saydam özelliklerinden dolayı sık kullanılırlar. Tüp duvarlarının sağlam olabilmeleri için 0.5 mm' den daha ince olmamalıdırlar. Çoğu analiz için 0.5-0.7 mm i.d.' ye sahip tüpler tavsiye edilir. Bu boyutlar boru içinde oluşabilecek içi direnci en aza indirmek için yeterlidir. 1 mm' den daha büyük tüpler yüksek dilüsyon faktörleri veya gaz geçen sistemlerde kullanılırlar. Tüp boyutları sistemin kusursuz çalışması ve numunenin dağılımının gerçekleşmesi için diğer bileşenlerle uygun olmalıdır.



Şekil 2.12 Akış-enjeksiyon analiz sisteminde kullanılan taşıyıcı borular

Sıvı akışı, 0.35-1.5 mm iç çapa sahip polimer tüp borularla içinde sıvının geçişiyle gerçekleştirilir. Bu tüp borular inert ve saydamdır. Tüp boru duvarları 0.5 mm' den daha ince olmalıdır. Ayrıca iç çapları 0.35 mm' den küçük olmalıdır. Aksi taktirde süspansiyon halindeki örneklerle çalışılırken tıkanabilirler. Daha büyük çaplı tüp borular özellikle hidrür oluşturmalı AAS' de yüksek seyrelme işlemleri ve borularda gaz oluşturmaları sebebiyle kullanılmaktadır. Kapiler boruların birbirlerine eklenmesi veya boru çıkış ve girişlerinin ilgili alet kısımlarına bağlanmasında da özel bağlantılar kullanılır.

2.6. Nanopartiküller

Nanopartiküller, büyüklükleri 1 nm ile 100 nm arasında değişen metal oksit molekülleri veya atom kümeleridir. Nanopartiküllerin doymamış atomları diğer atomlarla güçlü bir bağ oluşturabilir. Bu yüzden nanopartiküllerin metal iyonlarını büyük oranda adsorplama kapasiteleri vardır.

Al_2O_3, TiO_2, ZrO_2, CeO_2 ve SiO_2 gibi nano boyuttaki metal oksitleri diğer yüzeylere güçlü kimyasal bağlarla tutunma özelliği sergilerler. Bu tutunma özelliklerinden dolayı adsorban madde olarak kullanılabilirler. Ayrıca reaktifler bu nanopartiküllerle kaplandıklarında üzerlerindeki bağlayıcı grupları arttırırlar. Böylece hem metal iyonlarının değişim mekanizmalarına katkı sağlarlar hem de bağlanan metal iyonlarının sayısını arttırırlar.

Organik maddeler ile nano boyuttaki adsorpsiyon malzemelerinin modifikasyonu onların seçiciliğini arttırabilir. Bu modifikasyon iki farklı yolla yapılır:

1) nano boyuttaki oksitlere şelat ligantlarının bağlanması

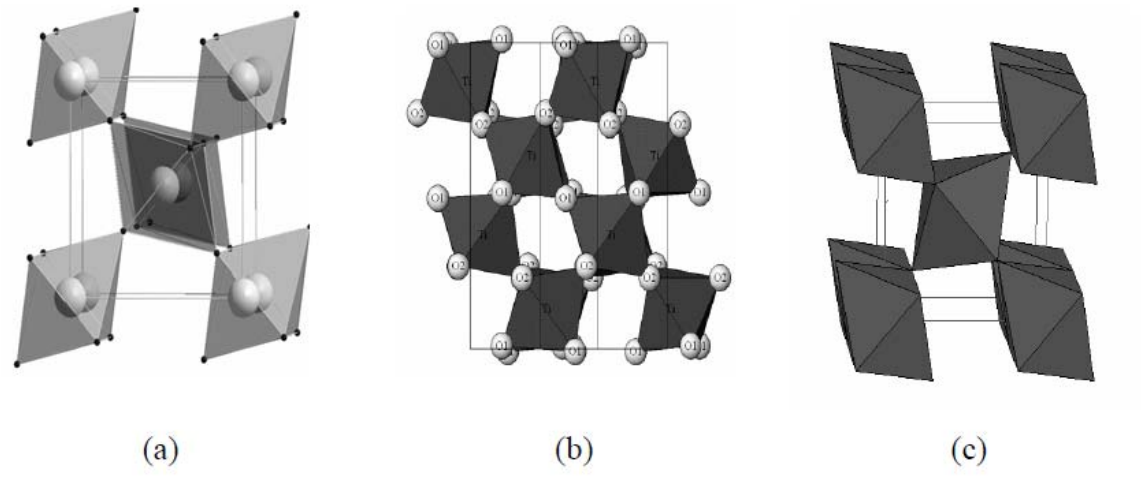
2) bağlayıcı özelliği olan katı makriks ile özel moleküller içeren çözelti yardımıyla şelat ligantlarının fiziksel olarak bağlanması.

Fiziksel bağlanma basittir ve pratik uygulamalarda kullanılır. Ancak kimyasal bağlanma, yüzey ile ligantlar arasında kovalent bağlanma sağladığı için kolon uygulamalarında yüksek bir kullanım ömrü sunar (Lian vd., 2005)

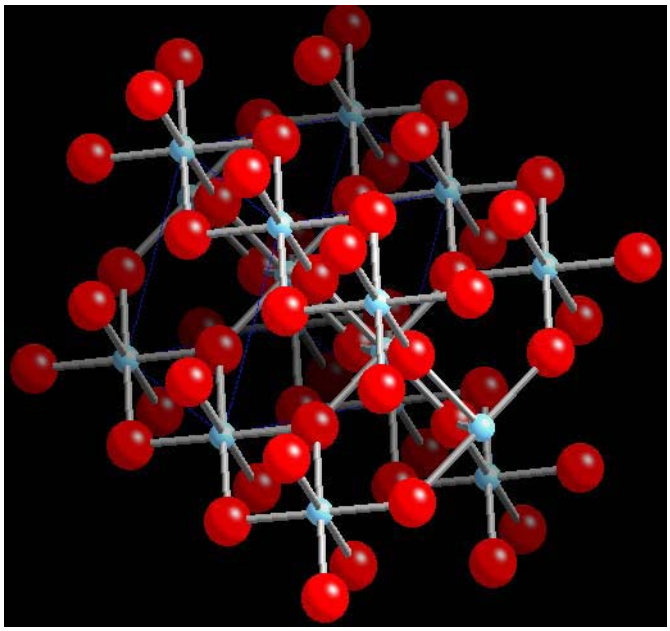
2.6.1. Titanyum Dioksit (TiO_2) Nanopartikülü ve Genel Özellikleri

TiO_2, nano boyutta iyi bir tanecik yüzeyine sahip olduğundan farklı yüzeylere kolayca bağlanabilir. Buhar verme, piroliz gibi kimyasal tekniklerle TiO_2 ile kaplanmış destek yüzeyleri hazırlanabilir.

TiO_2 üç farklı polimorfik yapıda bulunur. Anataz tetragonal, brokit ortorombik, rutil tetragonal yapıda bulunur. Bu üç yapı birbirinden farklıdır. Bu nedenle bu yapıların oktahedral zincirlerindeki bükülmeler farklılık gösterir. Üç faz arasındaki Gibbs serbest enerjileri küçük farklılıklar gösterir (4-20 kJ/mol). Tanecik boyutunun yüzey-enerji etkileri nedeniyle yeterli düşük değerlere ulaştığında faz kararlılığının değiştiği görülür. Eğer üç kristalin tanecik boyutu eşit ise anatazın boyutları 11 nm' den daha düşük, brokit 11-35 nm arasında, rutil 35 nm' den daha büyük olduğunda termodinamik olarak en kararlı yapılara sahiptirler (San, 1997). Şekil 2.13' de anataz, rutil ve brokitin kristal yapıları, Şekil 2.14' de ise bir TiO_2 molekülünün model kristal yapısı gösterilmiştir.



Şekil 2.13 (a) Rutil (b) Brokit (c) Anataz



Şekil 2.14 Bir TiO_2 molekülünün model kristal yapısı

Anatazın rutile dönüşüm entalpisi oldukça düşüktür. Literatürden elde edilen verilere göre bu aralık -1.3 ile -0.6 ± 0.8 kJ/mol dür. Kinetik olarak anataz daha kararlıdır ve oda sıcaklığında anatazın rutile dönüşümü söz konusu değildir. Monotropik anataz rutil dönüşümü hem mekaniksel hem de uygulamalı olarak çalışılmıştır. Bu dönüşüm sıcaklık veya basınç artışı ile gerçekleştirilebilir.

2.6.2. Titanyum Dioksit (TiO_2) in Genel Kullanım Alanları

20.yy' nin başlarında beyaz boya için pigment olarak zehirli kurşun oksitlerin yerine kullanılmaya başlaması endüstriyel önemini arttırmıştır. Titanyum dioksitin yıllık üretimi 4 milyon tondan fazladır (Natura vd., 1998). TiO_2 boya (toplam üretimin %51'i), plastik (%19), kağıt (%17) endüstrileri başta olmak üzere pek çok alanda kullanılır. Zararsız olması nedeniyle gıda, deri, eczacılık, kozmetik (UV korumalı güneş kremleri v.b. ürünlerde) sektörlerinde ve değişik titanat pigmentleri yapımında kullanılır.

Titanyum dioksitin kimyasal maddelere dayanıklılığı çok fazladır, toksik özelliği yoktur, maliyeti düşüktür ve daha birçok olumlu özellikleriyle kullanımı gittikçe artmaktadır.

Işığı çok iyi kırma özelliği nedeniyle silikonlu güneş pillerinde, yansımayı engellemesi nedeniyle de ince-film optik aletlerde kullanılır. Gaz sensörü olarak (elektrik iletkenliğinden dolayı) yüksek sıcaklıklarda oksijen ve CO konsantrasyonlarının, aynı zamanda CO/O_2 ve CO/CH_4 oranlarının belirlenmesinde kullanımı oldukça başarılıdır. TiO_2 insan vücuduyla da uyumlu bir maddedir, bu nedenle biomalzeme (kemik bileşeni ve mekanik destekleyici) olarak kullanılır.

2.7. Atomik Absorpsiyon

2.7.1. Atomik Spektroskopi

Işığın renklerinin dalga boylarına göre dizilişi anlamında kullanılmış olan "spektrum" kelimesi, 1686 yılında, Newton' in bir prizmadan geçen güneş ışığının renklere ayrıldığını gözlemesi ile bilim diline girmiştir. Önce 1802 yılında Wollaston' un, daha sonra da Fraunhofer'in güneş ışığı spektrumun da bazı karanlık çizgiler gözlemeleri spektroskopinin başlangıcı olarak alınabilirse de, bilimsel olarak bu çizgileri 1859-1860 yıllarında Kirschoff un, alev çalışmalarını esas alarak açıklaması ile başlatmak ta mümkündür (Lajunen, 1992). Atomik spektroskopi, atomik haldeki elementlere ait uyarılmış atomların ışın yaymasına veya temel haldeki atomların ışın absorpsiyonuna dayanmaktadır. Uyarılmış atom ve iyonlardan yayılan ışının dalga boyunun, elemente özgü olması ve yayılan ışın şiddetinin elementin derişimine bağlı olmasını esas alan atomik spektroskopik yönteme atomik emisyon spektroskopisi denir. Temel haldeki element atomlarının, kendilerine özgü dalga boylarında ışın absorplamalarına dayanan atomik spektroskopik yönteme de atomik absorpsiyon spektroskopisi denir. Atomik spektroskopi teknikleri içerisinde atomik absorpsiyon spektroskopisi (AAS), 1950' lerden beri seçiciliği, basitliği ve kolaylığından dolayı en yaygın kullanılan tekniklerden biridir. AAS jeolojik, biyolojik, metalurjik, cam, çimento, yağ, sediment, farmakolojik ve atmosferik örneklerdeki eser metal analizlerinde sıklıkla kullanılmaktadır.

2.7.2. Atomik Absorpsiyon Spektroskopisi

Atomik absorpsiyon spektroskopisi, ışığın gaz halindeki atomlar tarafından absorpsiyonunun ölçülmesi ilkesine dayanır. Işığı absorplayan atomlar, temel enerji düzeyinden kararsız uyarılmış enerji düzeylerine geçerler ve absorpsiyon miktarı, temel düzeydeki atom sayısına bağlıdır.

Atomik absorpsiyon spektroskopisi ile nicel analiz, Beer-Lambert yasasına dayanır, yani ortama gelen ışıma şiddetinin, I_0, ortamdan çıkan ışıma şiddetine, I, oranının logaritması olarak tanımlanan absorbans, A, ilgilenilen elementin derişimiyle doğru orantılıdır (Skoog vd., 1997).

$A = \log I_0/I = k.c.d$

Burada;

A: Absorbans

I_0: Gelen ışığın şiddeti

I: Çıkan ışığın şiddeti

k: Absorpsiyon katsayısı

d: Absorpsiyon tabakasının kalınlığı

c: Absorplanan maddenin konsantrasyonunu gösterir.

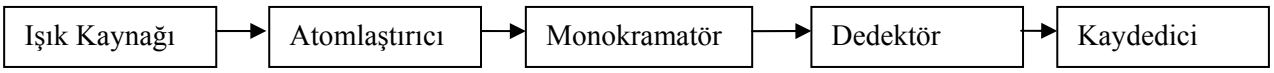
Atomik türlerin spektroskopik tayini, ancak tek atomların veya element iyonlarının birbirlerinden iyice ayrılmış bulunduğu gaz ortamında yapılabilir. Dolayısıyla, tüm atomik spektroskopik işlemler için ilk basamak atomlaştırmadır. Bu süreç sırasında numune, atomik bir gaz oluşturacak şekilde buharlaştırılır ve parçalanır. Metodun duyarlılık, kesinlik ve doğruluk gibi nitelikleri, büyük ölçüde atomlaştırma basamağının verimliliği ve tekrarlanabilirliğine bağımlıdır; dolayısıyla atomlaştırma, atomik spektroskopide en önemli basamaktır (Skoog vd., 1999).

2.7.3. Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi

Prensipte, bütün elementler atomik absorpsiyon spektroskopisi ile tayin edilebilir. Çünkü her atom uyarılmış hale getirilebilir. Atomik absorpsiyon spektroskopisi, çözelti

halindeki numunelerde bulunan elementlerin analizine dayanan bir metot olup, 67 kadar elementi birkaç ppmden (alev atomlaştırma) birkaç ppb (elektrotermal atomlaşma) düzeyine kadar tespit edebilir (Zeev, 1994).

Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinin en önemli bileşenleri, analiz elementinin absorplayacağı ışımayı yayan ışık kaynağı, örnek çözeltisinin atomik buhar haline getirildiği atomlaştırıcı, çalışılan dalgaboyunun diğer dalgaboylarından ayrıldığı monokromatör ve ışık şiddetinin ölçüldüğü dedektördür (Şekil 2.15) (Skoog vd., 1997).



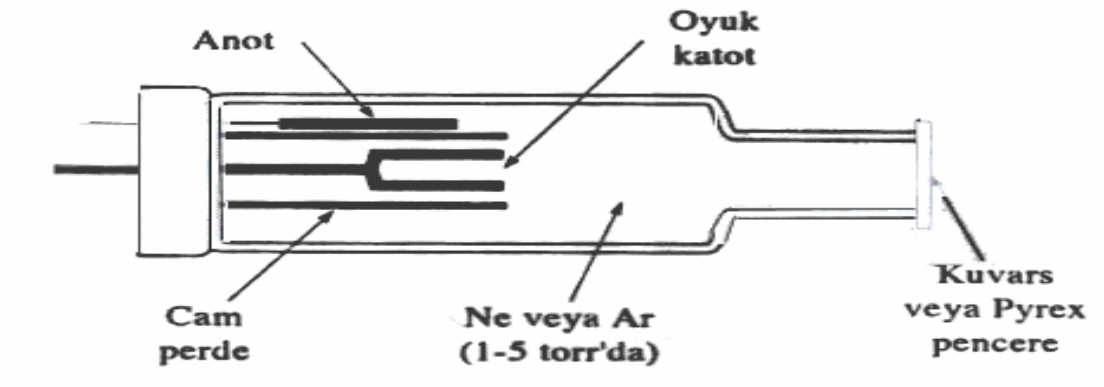
Şekil 2.15 Atomik absorpsiyon spektrofotometresinin bileşenleri

2.7.3.1. Işık Kaynakları

Atomik absorpsiyon ölçümlerinde emisyon çizgi genişliğinin, absorpsiyon çizgi genişliğinden dar olması önemlidir. Aksi takdirde düşük absorbans değerleri hassasiyette azalmalara neden olacaktır. Atomik absorpsiyon cihazlarında kullanılan çok önemli ışık kaynakları; oyuk katot lambalar, elektrotsuz boşalım lambalarıdır. Diğer kullanılan kaynaklar; lazerler, analitik plazmalar ve normal sürekli kaynaklardır (döteryum, ksenon ark lambaları) (Lauri ve Lajunen, 1992).

2.7.3.1.1. Oyuk Katot Lambaları

Atomik absorpsiyonda en yaygın kullanılan ışık kaynağıdır. Oyuk katot lambası düsük basınçta inert bir gazla doldurulmuş bir katot ve anot içeren cam bir silindirdir. (Şekil 2.16) Katot incelenen elementin çok saf metalinden veya o elementi içeren bir alaşımdan yapılmıştır. Anot ise nikel, tungsten gibi metallerden yapılmıştır.



Şekil 2.16 Oyuk katot lambası

Bir oyuk katot lambada meydana gelen olaylar sırasıyla şu şekildedir:

1-) Anot ve katot arasında 100-400 V voltaj uygulanır. Katotdan salınan yüksek enerjili elektronlar çarpışma sonucu içeride dolan gazı iyonize ederler.

$Ar + e^- = Ar + 2e^-$

2-) Pozitif yüklenmiş argon veya neon iyonları katoda hızlandırılır ve hızlı bir şekilde çarparak metal atomları onun yüzeyinden saçılır.

3-) Buhar haline gelmiş metal atomları elektronlar veya iyonların çarpması ile uyarılır.

$M(g) \rightarrow M^*(g)$

4-) Uyarılmış metal atomları temel hale dönerler ve dolan gazın emisyon spektrumu ile beraber karakteristik atomik emisyon spektrumunu yayarlar. Oyuk katot lambanın ömrü genelde katot maddenin saflığına ve dolan gazın tüketimine bağlıdır. Dolan gazın azalması uygulanan akım ve voltaja bağlıdır. Modern katot lambalarda elektrotlar seramik maddeler ve mikalardan yapılarak enerji kaybı en aza indirilmeye çalışılır (Lauri ve Lajunen, 1992).

Atomik absorpsiyon spektroskopisi ile analizlerin en önemli dezavantajı, her element için ayrı bir oyuk katot lambası kullanımını gerektirmesidir. Bu nedenle çok elementli oyuk katot lambaların geliştirilmesi düşünülmüştür. Bu lambalarda katot, incelenecek elementleri içeren alaşımlardan, metalik bileşiklerden veya toz haline getirilmiş metal karışımlardan yapılır. Çok elementli lambalarda ortaya çıkan en önemli sorun, özellikle üçten fazla element içeren lambalarda, lambanın emisyon şiddetinin azalması ve bunun sonucu olarak gözlenebilme sınırının büyümesidir (Skoog vd., 1997).

2.7.3.1.2. Yüksek Işımalı Lambalar

Yüksek ışımalı lambalarda standart oyuk katot yanında bir çift de yardımcı elektrot vardır. Yardımcı elektrotlardan ikinci bir akım geçirilerek oluşturulan atom bulutunda ilk boşalımda uyarılmayan atomlar da uyarılır. Böylece ışık şiddetinde artış görülür. Yüksek ışımalı lambalar, yapılarının karmaşıklığı, ikinci bir güç kaynağı gerektirmesi, emisyonun kararlı hale gelmesi için uzun süre beklenmesi nedeniyle fazla tercih edilmemektedir.

2.7.3.1.3. Buhar Boşalım Lambaları

Buhar boşalım lambaları incelenen elementi içeren bir buhardan elektrik akımı geçirilmesiyle emisyon yaparlar.

2.7.3.1.4. Elektrotsuz Boşalım Lambaları

Elektrotsuz boşalım lambalarında tayin edilecek element yüksek frekans sarımlarına sıkıca yerleştirilmiş ve yalıtılmış bir ceket içinde bulunan kuvartz bir tüp içine doldurulmuştur. Bu lambaların ışık şiddeti yüksek, ısınma süresi kısa ve kararlılığı iyidir. As, Se ve Sb gibi uçucu ve kısa dalgaboylarında (< 200 nm) absospsiyon ve emisyon yapabilen elementler için geliştirilmişlerdir

2.7.3.2. Monokromatörler

Monokromatörün ana görevi ölçüm çizgisini kotod materyalin emisyon çizgilerinden ve inert gazın çizgilerinden ayırmaktır. Ayırma prizmanın veya karşılayıcının büyüklüğüne ve dağılım karakterine, spektrometrenin optik sistemiyle ve monokromatörün slit genişliğiyle yakından ilgilidir. Bir monokromatörün ayırım gücü ise onun yakın absorpsiyon bandlarının veya yakın iki spektral bandın ayırım yeteneğine bağlıdır. Monokromatör iki slitten (bir giriş, bir çıkış) ve dağıtıcı bileşenden (bir prizma ve karşılayıcı) oluşur. Bir cihazın kalitesi spektrometrik tekniklerde (UV-Visible veya Plazma-AES gibi) büyük ölçüde monokromatörün niteliğine veya onun spektral band genişliğine bağlıdır. Ama atomik

spektroskopide rutin analizler için küçük slit aralığının kullanılmasına gerek yoktur (Lauri ve Lajunen, 1992).

2.7.3.3. Dedektörler

Atomik absorpsiyon spektrofotometrelerinde ışık sinyalinin elektrik sinyaline dönüştürülmesi için fotoçoğaltıcılar kullanılır. Bu dedektörlerde fotokatot yüzeyinde foton çarpması ile fırlatılan elektronlar diot denilen yüzeylere doğru elektriksel alanda hızlandırılır ve dioda çarpan her bir elektron, diot yüzeyinden birkaç elektron daha koparır. Böylece sayıları giderek artan elektronlar en sonunda bir anotta toplanarak elektrik akımına çevrilir. Bir dedektörün ışığa karşı duyarlı olması, ışık 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 çoğaltılması istenir (Welz, 1985).

2.7.3.4. Atomlaşma

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde ışık kaynağından gelen ışık bir atomlaştırıcıdan geçer ve analitin serbest atomları tarafından bu ışığın bir kısmı absorbe edilir. Atomlaştırıcının ana görevi numunede bulunan iyon veya moleküllerden analiz edilecek elementin temel haldeki atomlarını üretmektir. Atomik absorpsiyonda bu çok zor ve kritik basamaktır. Tayinin hassasiyeti direkt olarak analiz elementinin atomlaşma derecesine bağlıdır ki bu da zaten atomlaştırıcının verimliliğine dayanır.

Atomik absorpsiyon spektroskopisinde uzun zamanlardır ve geniş olarak kullanım alanı bulan alev atomlaştırma tekniği; numune çözeltisinin spray halinde aleve gönderilmesidir. Elektrotermal teknikler (grafit fırın), hidrit ve soğuk buhar da yarı-alev teknikleri arasında olup önemli atomlaşma tekniklerindendir (Lauri ve Lajunen, 1992).

2.7.3.4.1. Alev Atomlaşma

Alev atomlaşma sisteminin amacı serbest analit atomlarının üretilerek, karakteristik dalga boyu üreten ışık kaynağı altında uyarılmış hale getirmektir. Sistem bir nebulizer

(sisleştirici), bir spray odası, bir burner (alevleştirici) ve bir alevden oluşur. Bu sistem tayinin hassasiyetinin, tayin sınırının, doğruluk ve kesinliğinin belirlenmesi açısından önemlidir.

Alev atomlaşmasındaki işlem sırasıyla şöyledir; nebulizer numune çözeltisini emerek spray odasına gönderir. Burada iyi bir şekilde aerosol haline getirilerek aleve gönderilir. Alevde yüksek sıcaklıkta çözücü buharlaştırılarak, oyuk katot lambadan gelen ışık ile alevdeki atomlar uyarılır ve absorblanmış ışık miktarı ölçülür (Zeev, 1994).

Eğer atomlaşma prosesini $KCl(k)=K^{+}(aq) + Cl^{-}(aq)$ eşitliğini göz önüne alarak çıkartacak olursak, 2000–3000 K' de aleve girdikten sonra;

♦ İlk önce çözücü hızlı bir şekilde buharlaşıp, katı bir aerosol oluşur;

$K^{+}(aq) + Cl^{-}(aq) = KCl\ (k)$

♦ Katı parçalar erir ve buharlaşır.

$KCl(k) = KCl(g)$

♦ Molekül veya moleküllerden ayrı teşekkül buhar tek atomlara dönüşür

$KCl(g) = K(g)+Cl(g)$

♦ Tek atomlar çarpışma ile enerji absorplar ve uyarılmış hale gelir ve iyonize olurlar,

$K(g)\rightarrow K^{*}(g)$ veya $K(g)\ )\rightarrow K^{+}(g)+e^{-}$

♦ Serbest atomlar ışık kaynağından gelen enerjiyi absorplar.

$K(g)+h\nu = K^{*}(g)$ şeklinde olur.

Nebulizerin ana görevi, numune çözeltisinin ilk önce aerosole ardından atomik buhara dönüşmesini sağlamaktır. Spray odası denen kısımda ise; numunenin istenilen boyuta getirilmesi, numunenin yakıt ve oksidant gazlar ile karıştırılması işlemleri yapılır. Burner denilen kısım bek alevinin meydana geldiği yerdir. Bek alevi de atomik buharın oluştuğu ve ışık kaynağından gelen ışığın absorbe edildiği yerdir (Lauri ve Lajunen, 1992). Alev atomik absorpsiyonunda alevin oluşturulduğu iki tür burner(yakıcı) kullanılır. Birincisi; örnek çözeltisinin yanıcı ve yakıcı gazların birbiriyle temas etmeden ayrı ayrı taşınarak yakıcı başlığın hemen çıkışında karşılaştıkları ön-karıştırmasız (turbulent) yakıcılardır. İkincisi ise; nebulizerin olduğu örnek çözeltisinin yakıcı gaz akımı ile boşluğa taşınıp, burada karıştırılarak uygun boyuttaki aerosole dönüştürülüp uygun damlacıklar halinde aleve gönderilen ön-karıştırmalı (premiks burner) yakıcılardır.

Tablo 2.2.'de en çok kullanılan alev türleri ve bunların maksimum sıcaklıkları verilmiştir. Kullanılan alev, optik olarak geçirgen olmalıdır. Yani alevin kendisi herhangi bir absorpsiyon yapmamalıdır. Tam olmayan atomlaşma, yalnız daha az atomlaşma olması değil, aynı zamanda ışık saçılmasına yol açacak katı ve sıvı taneciklerin alevde yani dolayısıyla ışık yolunda bulunması demektir.

Tablo 2.2 Atomlaşmada kullanılan alev türleri

Yanıcı	Yakıcı	Sıcaklık(^{0}C)	Maksimum yanma hızı(cm/sn)
Doğalgaz	Hava	1700-1900	39-43
Doğalgaz	Oksijen	2700-2800	370-390
Hidrojen	Hava	2000-2100	300-440
Hidrojen	Oksijen	2550-2700	900-1400
Asetilen	Hava	2100-2400	158-266
Asetilen	Oksijen	3050-3150	1100-2480
Asetilen	Nitröz Oksit	2600-2800	285

2.7.3.4.2. Elektrotermal Atomlaşma

Alev atomik absorpsiyonu basit, tekrarlanabilir ve iyi sonuçlar elde edilen bir metottur. Fakat sınırlandırılmış bir seçiciliği vardır. Birçok sayıda element için fırın teknikleri, alev tekniklerinden daha hassastır ve alev tekniği ile ölçümü mümkün olmayan 100 kat daha küçük konsantrasyonların ölçümü mümkündür (Zeev, 1994).

Elektrotermal atomlaştırıcıların seçiciliği onların atomlaştırma yeteneği ve analitin uygun bir zaman süresince işlem kısmında tutmasından dolayıdır. Genel olarak elektrotermal atomlaştırıcılarda atomlaşma 5 basamak halinde gerçekleşir. Bunlar; kurutma, külleme, atomlaşma, fırının temizlenmesi, fırının oda sıcaklığına kadar soğutulmasıdır. Kurutma numuneden çözücünün uzaklaştırıldığı basamaktır. Uçurma yavaş yavaş yapılarak numunenin tüp içinde sıçramaları önlenir.

Külleme denilen termal önzenginleştirme basamağında analit matriks bileşiklerden ayrılır. Burada matriksin ve analitin ısısal davranışı girişimlerin oluşumunun önlenmesinde önemlidir. Şöyle ki; eğer matriksin bozunması analitin atomlaşma sıcaklığından küçükse girişim meydana gelmez.

Eğer matriksin bozunması analitin atomlaşmasından büyük ise kolay buharlaşan elementlerin belirlenmesi mümkündür. Diğer bir durum da matriksin bozunması ile analitin atomlaşması aynı anda gerçekleşirse; kolay buharlaşan elementler için tipik bir olaydır. Bu durumda ölçümden önce analit ve girişim matriksi birbirinden ayırmak veya matriks modifayır kullanmak gerekir (Lauri ve Lajunen, 1992).

Atomlaşma basamağında fırın, ilgilenilen elementin gaz halinde atomlarının elde edildiği sıcaklığa kadar ısıtılır. Analizi yapılacak elemente göre fırın bu basamakta, 5 sn süreyle 2000–3000 °C arasında bir sıcaklıkta tutulur. Örnekteki elementin absorpladığı ışık bu basamakta ölçülür. Sinyaller kaydedilir ve değerlendirme için pik yüksekliği veya pik alanları ölçülür (Zeev, 1994).

Temizleme basamağı fırının sıcaklığının kısa bir süre için maksimum değere getirilerek fırının temizlenmesidir. En son basamak inert gaz ve soğutma suyuyla sıcaklığın oda sıcaklığına indirilmesidir (Lauri ve Lajunen, 1992).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. Kullanılan Cihazlar

Deneysel süreçte kullanılan cihazlar ve markaları Tablo 3.1' de verilmiştir

Tablo 3.1 Kullanılan cihazlar ve markaları

Cihaz	**Marka**	**Model**
PH metre	Orion	3 Star
Çalkalayıcılı Su Banyosu	Nüve	ST 402
Santrifüj	Hettich Zentrifugen	Rotina 38R
Manyetik Karıştırıcılı Isıtıcı	Chiltren Hotplate Magnetic	HS31
Mikrodalga Fırın	Marh Xtraction	Marsxpress
Taramalı Elektron Mikroskop	Carl Zeiss	Evo 40
FAAS	Perkin Elmer	AA800
Saf Su Cihazı	Elga	Purelab Ultra MK2
Etüv	Wiseven	WON-50
Peristaltik pompa	Ismatec	ISM834C
Hassas Terazi	Ohaus	Advanturer Pro

3.2. Kullanılan Kimyasallar ve Hazırlanışları

Deney süresince kullanılan bütün kimyasallar ve temin yerleri Tablo 3.2'de verilmiştir.

Tablo 3.2 Kullanılan kimyasallar ve temin yerleri

Kimyasalın Adı	**Temin Yeri**
HNO_3	Merck
H_2O_2	Merck
HCl	Merck
CH_3COOH	Merck
NaOH	Merck
Pb Stok	Merck
TiO_2	Alfa Aesar
CRM	China National Research Center for Certified Reference Materials

Deney süresince kullanılan bütün kimyasallar analitik saflıktadır ve ekstradan bir saflaştırma işlemi gerektirmemektedirler.

Çalışma çözeltileri 18.2 MΩ/cm iletkenliğine sahip ultra saf su ile seyreltilerek günlük hazırlanmıştır.

Deneyde 1000 mg/L' lik standart stok Pb (II) çözeltisi (%5 HNO_3 içerisinde) Eluent olarak kullanılan hidroklorik asit (%37), nitrik asit (%65), hidrojen peroksit (%35) ve asetik asit (%100) çözeltileri uygun miktarlarda alınarak ultra saf su içerisinde hazırlanmışlardır.

pH ayarlaması için kullanılan sodyum hidroksit (%99) katısından uygun miktarda alınarak ultra saf su içerisinde çözülerek hazırlanmıştır.

İmmobilize işlemi için 10 nm çapında TiO_2 (%99) nanopartikülü toz halinde kullanılmıştır.

Referans metaryali olarak GBW 07605-Tea (China National Research Center for Certified Reference Materials) kullanılmıştır.

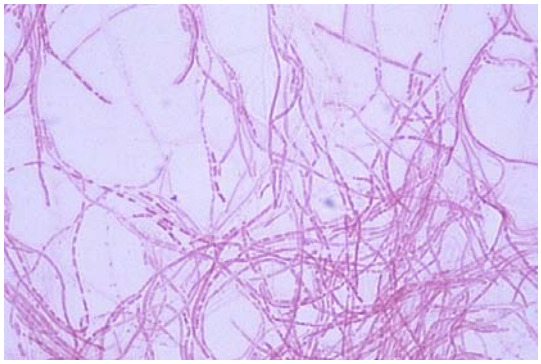
3.3. Koliform Grup Bakterileri Hakkında Genel Bilgi

Koliformlar, sıcakkanlı hayvanların bağırsaklarında yaşayan ve hayvanların fiziksel atıklarında, dışkılarında ve doğal olarak da toprakta bulunabilen, farklı türlerde bakteri tipleridir.

Koliform grup bakteriler, Enterobacteriaceae familyası içinde yer alan, fakültatif anaerob, gram negatif, spor oluşturmayan, 35 ºC' de 48 saat içinde laktozdan gaz ve asit oluşturan, çubuk şeklindeki bakterilerdir. Genellikle hareketli peritrik flagellalı olan koliform grup mikroorganizmalar glikozu gaz olusturarak hem aerobik hemde anaerobik olarak parçalarlar, nitratı nitrite indirgerler. Oksidaz negatif, katalaz pozitiftirler. Koliform' lar Eosin Metilen Blue Agar ve Endo Agar besiyerlerinde 35–37 °C' da 24 saatlik inkübasyon sonunda sarı-yeşil metalik parıltılı, koyu koloniler oluşturarak gelişirler, fekal veya fekal olmayan kaynaklardan gıdalara bulaşabilirler (Gürgün ve Halkman, 1988). Bu grupta yer alan ve gıda mikrobiyolojisi açısından önemli olan mikroorganizmalar; *Citrobacter freundii, Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli* ve *Klebsiella pneumoniae*' dir.

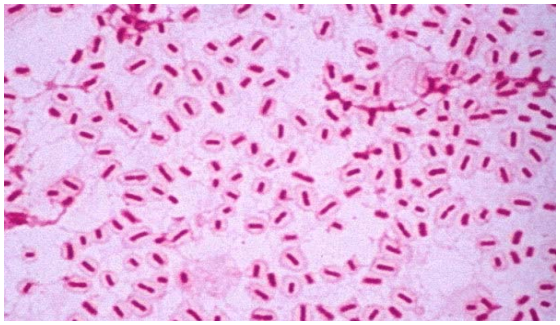
Citrobacter: *Citrobacter*' ler genelde insan dıskısında bulunurlar. Diğer koliform bakterilerin yaptığı çeşitli infeksiyonlarla *Salmonella*' larınkine benzer bağırsak infeksiyonlarına neden olurlar (Bilgehan, 1996).

Enterobacter: Bu cins içindeki bakteriler genellikle toprak ve suda seyrek olarakta insan ve bazı hayvanların bağırsak florasında bulunur. Genel kullanım besiyerlerinde ve *Enterobacteriaceae* için hazırlanmış besiyerlerinde ürerler (Bilgehan, 1996).



Şekil 3.1 Enterobacter cinsi bakterinin mikroskobik görüntüsü

Klebsiella: Bu cins, insan ve hayvanların bağırsakları ve üst solunum yolları ile toprak ve suda bulunur. *Klebsiella pneumoniae*, sıvı besiyerlerinde dipte mukoz bir çökelti yaparak ürerler. Katı besiyerlerindeki kolonileri tipik mukoid nitelikte büyük, sarımtrak gri renkte ve akıcı kolonilerdir. Nişastayı en geç 4 gün içinde parçalayarak gaz yapması bu bakteriyi diğer bagırsak bakterilerinden ayırt eden önemli bir özelliğidir (Bilgehan, 1996).



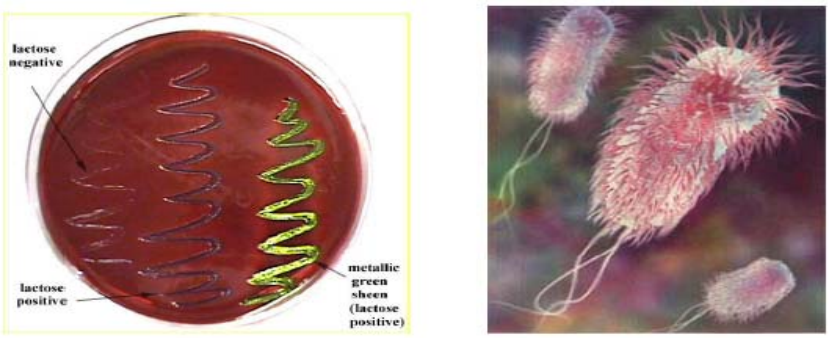
Şekil 3.2 Klebsiella cinsi bakterinin mikroskobik görüntüsü

Bu türlere ek olarak toplam koliform tanımlaması kapsamında *C. diversus, E. agglomerans, K. oxytoca, Serratia liguefadens, S. fanticola, S. rubidaea, S. odorifera, Hafnia alvei* ve *Rahnella aquatilis* türlerin adından bahsedilmektedir.

Koliform grup mikroorganizmalara pek çok gıda hammaddesinde rastlanmaktadır. Bunların başında; taze sebzeler, taze yumurta, çiğ süt, kanatlı etleri ve koliform bakımından sayıca zengin sulardan alınan kabuklu ve diğer su ürünleri gelmektedir (Gürgün ve Halkman, 1988).

Gıdalarda koliform mikroorganizmaların bulunması; kötü sanitasyon koşullarının, yetersiz veya yanlış pastörizasyon uygulamalarının, pişirme ve pastörizasyon sonrası tekrar bulaşma olduğunun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir.

Koliform grubu mikroorganizmaların hepsi dışkı kökenli değildir. Bu grupta bulunan bakterilerden normal florası insanların ve sıcakkanlı hayvanların alt sindirim sistemleri olanlar "fekal koliform" olarak tanımlanmakta ve bunlar fekal kontaminasyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedirler. Koliform grup içinde fekal koliform olarak tanımlanan bakterilerin büyük çoğunluğunun *E. coli* olduğu bilinmektedir.



Şekil 3.3 E. coli bakterisinin mikroskobik görüntüsü

Grubun diğer üyeleri toprak ve bitki kökenli olabilmektedirler. Herhangi bir örnekte *E. coli* 'ye ve/veya fekal koliform bakterilere rastlanması oraya doğrudan ya da dolaylı olarak dışkı bulaştığının ve yine bağırsak kökenli *Salmonella* ve *Shigella* gibi primer patojenlerin de olabileceğinin bir göstergesidir. Bu nedenle hiçbir gıda maddesinde, içme ve kullanma sularında, denizlerde ve göllerde *E. coli* ve fekal koliform bulunmasına izin verilmezken, bazı gıdalarda belirli sayıda koliform bakteri bulunmasına izin verilebilmektedir.

E. coli fekal kontaminasyonun bir göstergesi olması yanında genetik yapısı en iyi bilinen canlı olma özelliğine de sahiptir. Birçoğu zararsız olan bu bakterinin bazı patojenik tipleri, insan ve hayvanlarda sonucu ölüme kadar giden ishallere, yara enfeksiyonlarına, menenjit, septisemi, artheriosklerosis, hemolitik üremik sendrom, çeşitli immünolojik hastalıklar vb. gibi hastalıklara sebep olabilmektedir(Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, 2000).

3.4. Koliform Grup Bakterilerinin İmmobilizasyon için Hazırlanması

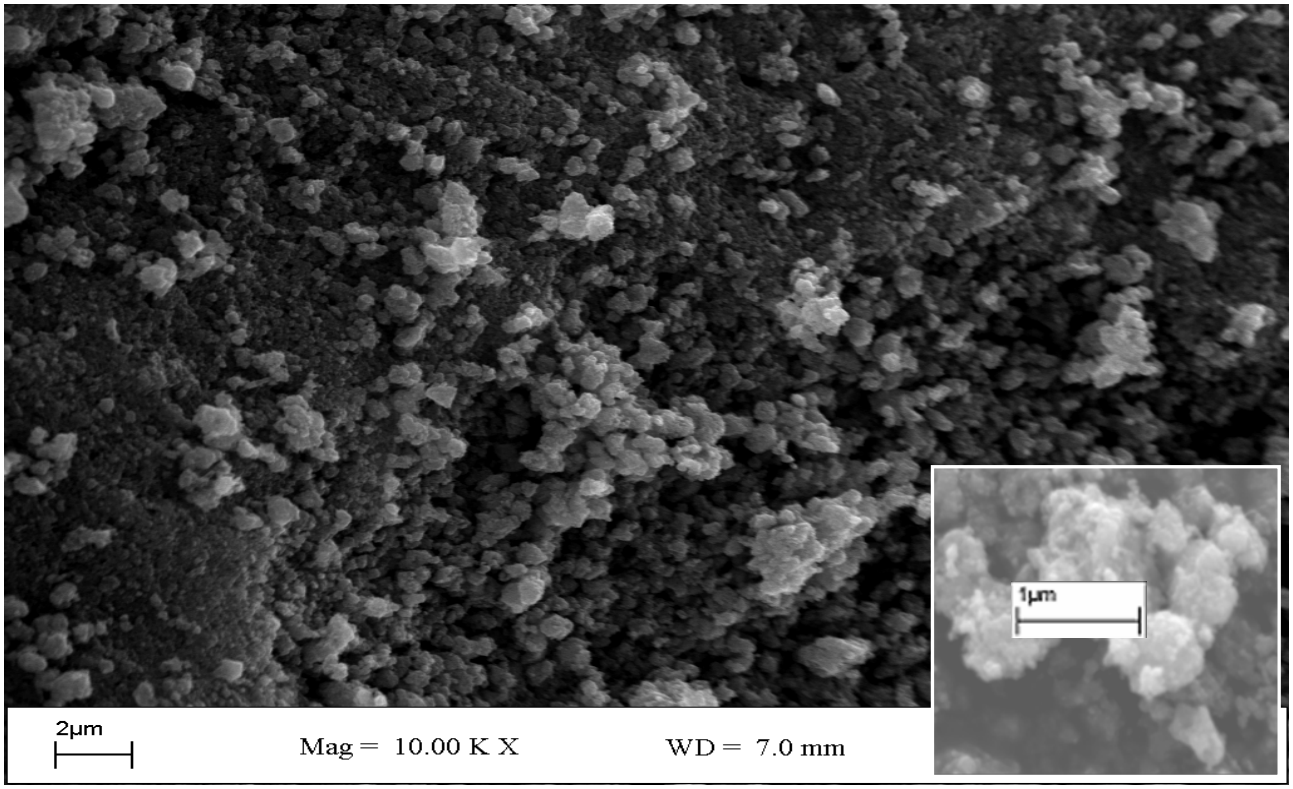
Tez çalışmasında kullanılan Koliform grup bakterileri **Edirne İl Sağlık Müdürlüğü' nden** temin edilmiştir.

Bu çalışmada koliform bakterilerinin cansız kütlesi kullanılmıştır. Koliform bakterilerini cansız biyokütle haline getirmek için üzerine 10 mL 0.1 mol/L HCl çözeltisi eklenerek 6000 devir/dk' da 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı. Daha sonra bakteri üzerine 10 mL ultra saf su eklenerek 6000 devir/dk'da 10 dakika boyunca

tekrar santrifüjlendi. Bu işlem yine 3 kez tekarlandı. Son olarak cansız biyokütle etüvde 105 °C' de kurutuldu. Böylece canlı koliform bakterisi cansız biyokütle haline getirilerek immobilizasyon için hazırlanmış oldu.

3.5. Cansız Koliform Bakterilerinin TiO_2 Nanopartikülüne İmmobilizasyonu

İmmobilize işlemi için 100 mg cansız koliform bakterileri 100 mg toz halindeki TiO_2 Nanopartikülü ile 20 mL ultra saf su içerisinde oda koşullarında 200 devir/dk' da 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra bakteri ve TiO_2 karışımı 500 devir/dk' da 10 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Son olarak bakteri TiO_2 karışımı etüvde 105 °C' de 24 saat süresince kurutularak biyosorbent olarak kullanılmak için hazır hale getirilmiştir. Koliform bakterilerinin TiO_2 nanopartiküllerine immobilizasyonuna ait SEM görüntüsü şekil 3.4' de gösterilmiştir.



Şekil 3.4 Koliform bakterisinin TiO_2 nanopartikülününe immobilizasyonuna ait SEM görüntüsü

3.6. Katı Faz Ekstraksiyon Kolonunun Hazırlanması

Katı faz ekstraksiyon kolonunu hazırlamak için 10 cm uzunluğunda ve 2.0 mm çapında PTFE (polytetrafluoroethylene) kolon kullanılmıştır. İçine öğütülerek tanecik boyutu küçültülmüş TiO_2 nanopartiküllerine immobilize olmuş koliform grup bakterisinden 26 mg tartılarak kolonun iki ucuna pamuk tıkamak suretiyle doldurulmuştur. (şekil 3.5)



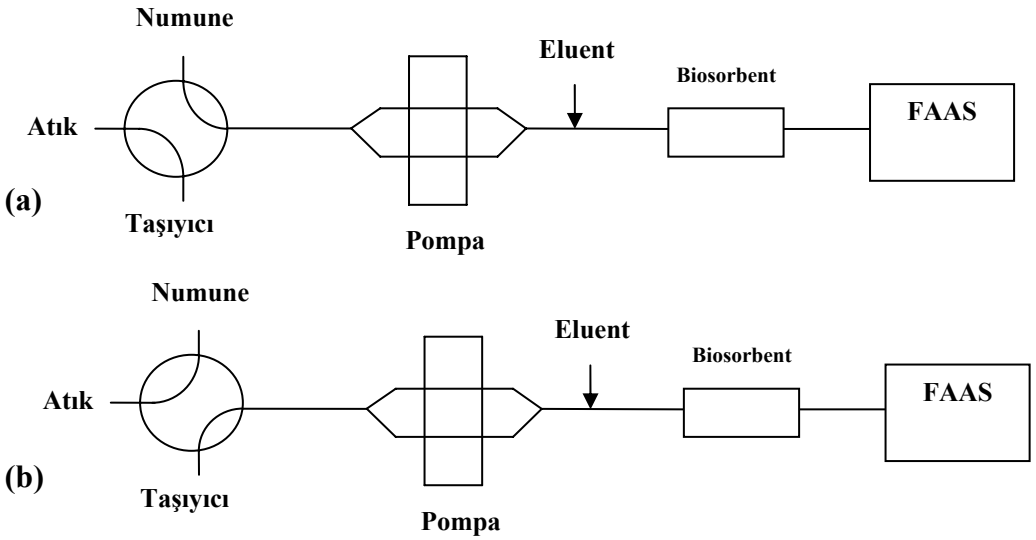
Şekil 3.5 TiO_2 nanopartiküllerine immobilize olmuş koliform grup bakterisi dolu kolon

Kolon doldurulduktan sonra dolu kısmın uzunluğu 4.0 cm' dir. Dolu kolondan önce 1.0 M HCl çözeltisi geçirilmiştir. Daha sonra kolon birkaç kez ultra saf su ile yıkanarak çalışılan pH ya şartlandırılmıştır. Kolon altı-dönerli enjeksiyon valfi ve spektrometre arasına yerleştirilmiştir.

Kolon kullanılmadığı durumlarda her türlü tıkanmalardan kaçınmak amacıyla içi ultra saf su dolu olarak bırakılmıştır.

3.7. Akış-enjeksiyon (FI) Sisteminin Hazırlanması

Şekil 3.6. de görüldüğü gibi sistemde iki-pozisyonlu valf (musluk), Ismatec peristaltik pompa ve altılı döner enjeksiyon valfi ve hepsini birbirine bağlayan PTFE tüpler kullanılmıştır. Bağlantıyı sağlayan PTFE tüplerinin çapı 0.8 mm'dir. Peristaltik pompa için sarı-mavi (1.52 mm çapında) Tygon tüp kullanılmıştır.



Şekil 3.6 Akış-enjeksiyon (FI) sisteminin şematik gösterimi

3.8. Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresinin Çalışma Parametreleri

Bu çalışmada Perkin Elmer AA 800 model Atomik Absorpsiyon Spektrofotometresi kullanılmıştır. Kurşun metali için Enstrümantal parametreler üretici firma önerisine göre ayarlanmış olup bu parametreler Tablo 3.3'de verilmiştir.

Tablo 3.3 AAS Cihazındaki Analizler İçin Çalışma Koşulları

FAAS Çalışma Parametreleri	**Pb**
Dalga Boyu (nm)	283.3
Lamba Akımı (mA)	10
Bant Genişliği (nm)	0.7
Işık Kaynağı	Oyuk Katot
Yakıt Tipi	Hava-Asetilen
Hava/Yakıt oranı (L/dk)	17.0/2.0

Spektrometre sürekli mod halinde çalıştırılmış ve pik yüksekliği ölçülmüştür.

3.9. Numunelerin Hazırlanması

Bu çalışmada referans numunesi olarak olarak GBW 07605-Tea kullanılmıştır. Referans numunesinden 1.0 g alınıp üzerlerine 6.0 mL der. HNO_3 ve 2.0 mL der. H_2O_2 ilave edilerek mikrodalga fırında çözünürleştiriliştir. Mikrodalga fırının çözünürleştirme programı sırası ile şöyledir: 2 dakika 250 Watt, 2 dakika 0 Watt, 6 dakika 250 Watt, 5 dakika 400 Watt, 8 dakika 550 Watt ve 8 dakika soğutma. Çözünürleştirme işleminden sonra numune oda sıcaklığında soğutulmuştur. Soğuyan çözelti 100 mL' lik balon jojeye konarak üzeri ultra saf su ile tamamlanmıştır. Son olarak çözelti 0.1 M sodyum hidroksit ile gerekli pH değerine ayarlanmış ve önzenginleştirme basamağı için polietilen kaplarda saklanmıştır.

Gerçek numune olarak üç farklı türden numune kullanılmıştır:

Birincisi; Edirne marketlerinden alınan üç farklı çeşit bebek mamalarıdır. İlk olarak, alınan üç çeşit bebek maması 105 °C' de 24 saat boyunca etüvde kurutulmuş ve mikrodalga fırında çözünürleştirme işlemi için polietilen kaplarda saklanmışlardır. Daha sonra polietilen kaplardaki bebek mamaları havanda homojen hale getirilmiştir. Homojen hale gelmiş olan bebek mamalarından 0.2 g ile 1.0 g arasında alınıp üzerlerine 6.0 mL der. HNO_3 ve 2.0 mL der. H_2O_2 ilave edilerek mikrodalga fırında çözünürleştirilmişlerdir. Mikrodalga fırının çözünürleştirme programı sırası ile şöyledir: 2 dakika 250 Watt, 2 dakika 0 Watt, 6 dakika 250 Watt, 5 dakika 400 Watt, 8 dakika 550 Watt ve 8 dakika soğutma. Çözünürleştirme

işleminden sonra numuneler oda sıcaklığında soğutulmuştur. Soğuyan çözeltiler 100 mL' lik balon jojelere konarak üzerleri ultra saf su ile tamamlanmıştır. Son olarak çözeltiler 0.1 M sodyum hidroksit ile gerekli pH değerine ayarlanmış ve önzenginleştirme basamağı için polietilen kaplarda saklanmışlardır.

İkincisi; Edirne marketlerinden alınan şarap ve ev yapımı şaraptır. Bu iki şarap mavi bant süzgeç kağıdından süzülmüşlerdir. Süzülen şarapların her birinden 1mL alınarak üzerlerine sırası ile 1.0 mL der. HNO_3 ve 0.5 mL der. H_2O_2 eklenerek mikrodalga fırında çözünürleştirmişlerdir. Mikrodalga fırının çözünürleştirme programı sırası ile şöyledir: 2 dakika 250 Watt, 2 dakika 0 Watt, 6 dakika 250 Watt, 5 dakika 400 Watt, 8 dakika 550 Watt ve 8 dakika soğutma. Çözünürleştirme işleminden sonra numuneler oda sıcaklığında soğutulmuştur. Soğuyan çözeltiler 100 mL' lik balon jojelere konarak üzerleri ultra saf su ile tamamlanmıştır. Son olarak çözeltiler 0.1 M sodyum hidroksit ile gerekli pH değerine ayarlanmış ve önzenginleştirme basamağı için polietilen kaplarda saklanmışlardır.

Üçüncüsü; Tunca nehrinden alınan su numunesidir. Alınan numune ilk olarak adi süzgeç kağıdı ile süzülmüş daha sonra 0.45 µm gözenek boyutlu süzgeç kağıdı ile tekrar süzülmüş ve önzenginleştirme basamağı için polietilen kaplarda saklanmışlardır.

3.10. METOD

Koliform grup bakteri biyokütlesi ile modifiye edilmiş TiO_2 nanopartikülleri hazırlanan kolona doldurulmuş ve biyokütle üzerinde Pb (II) iyonuna önzenginleştirme işlemi uygulanmıştır. Önzenginleştirme işleminin gerçekleştirilmesi için iki önemli basamak vardır. Bunlardan ilki loading denilen, analitin adsorplayıcı üzerinde alıkonması işlemidir. İkinciside elusyon denilen, alıkonan analitin kolondan ayrılması işlemidir. Bu aşamada Pb (II) iyonu için bunların optimum şartlar altında gerçekleşmesi gerekmektedir.

pH'ın alıkonmaya etkisi, numune akış hızı, eluent tipi, eluent hacmi, eluent akış hızı, ve numune hacmi optimum şartlar olarak araştırılmıştır.

Numunenin pH' sının alıkonmaya etkisinin araştırılması için pH = 2.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 değerlerinde 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltileri kullanılmıştır.

Numune akış hızı (loading flow-rate) 0.82, 1.64, 2.43, 3.24, 4.30, 4.76, 6.14, 7.41 mL/dk arasında tutularak 1.0 mg/L kurşun çözeltisinin alıkonması araştırılmıştır. Numune akış hızları 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltisinin kolondan geçirilerek hesaplanmıştır.

Kolon üzerinde alıkonan kurşunun geri kazanımı (elusyon) için 0.5 M, 1.0 M, 2.0 M ve 3.0 M hidroklorik asit, 1.0 M ve 2.0 M nitrik asit ve 1.0 M asetik asit çözeltileri kullanılmıştır.

Eluent hacmi çalışmaları için 116, 192, 288, 665, 1000 ve 2000 µL' lik hacimlerde bağlantı tüpleri (loop) kullanılarak kolon üzerinde alıkonan 1.0 mg/L kurşun çözeltisinin geri kazanımı araştırılmıştır.

Eluent akış-hızı (eluent flow-rate) 0.90, 1.72, 2.47, 3.25, 3.95, 4.76, 5.41, 6.14, 6.76 ve 7.41 mL/dk arasında tutularak kolon üzerinde alıkonan 1.0 mg/L kurşun çözeltisinin geri kazanımı araştırılmıştır.

Kalibrasyon çalışmaları için 5.0, 10 ve 15 µg/L standart kurşun çözeltilerinden 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mL kullanılmıştır. Absorbans ölçümleri için pik yükseklik sinyalleri ölçülmüştür.

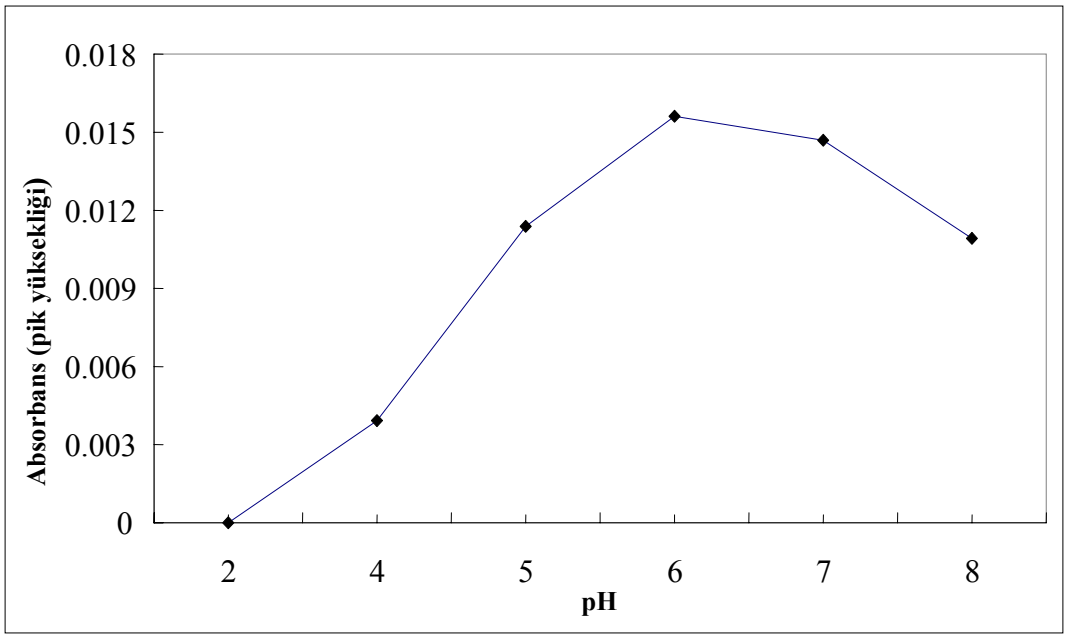
Spike çalışmaları için numuneler 5.0 ve 10 µg/L kurşun ile spike yapılarak analiz gerçekleştirilmiştir.

Bütün parametrelerin optimum koşullarının belirlenmesi çalışmalarında her defasında üç ölçüm yapılmıştır.

4. SONUÇLAR ve TARTIŞMALAR

4.1. pH Etkisi

TiO_2 nanopartikülleri üzerine immobilize edilmiş koliform grup bakterisi ile dolu kolon üzerinde kurşunun alıkonması için en uygun pH değerinin bulunması için 2.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 pH değerlerinde 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltileri hazırlandı. Bu çözeltilerin pH değerleri ayarlanırken 0.1 M sodyum hidroksit ve 0.1 M hidroklorik asit çözeltileri kullanıldı. Alıkonma işlemi için ilk olarak her bir pH değeri için 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltisi kolondan 4.76 mL/dk akış hızında geçirildi ve daha sonra aynı akış hızında, kolonu yıkamak için 45 sn boyunca ultra saf su kolondan geçirildi. Son olarak, alıkonan kurşunun geri kazanılması için 1.72 mL/dk akış hızında 192 µL 1.0 M hidroklorik asit çözeltisi kolondan geçirildi ve en yüksek pik sinyal değeri kayıt edildi. Kurşunun alıkonmasına pH' ın etkisi Şekil 4.1' de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar grafiğe aktarıldığında en yüksek pik sinyal değeri pH 6.0' da gözlemlenmiştir. Bu nedenle bundan sonraki çalışmalar pH 6.0' a ayarlanarak yapılmıştır.

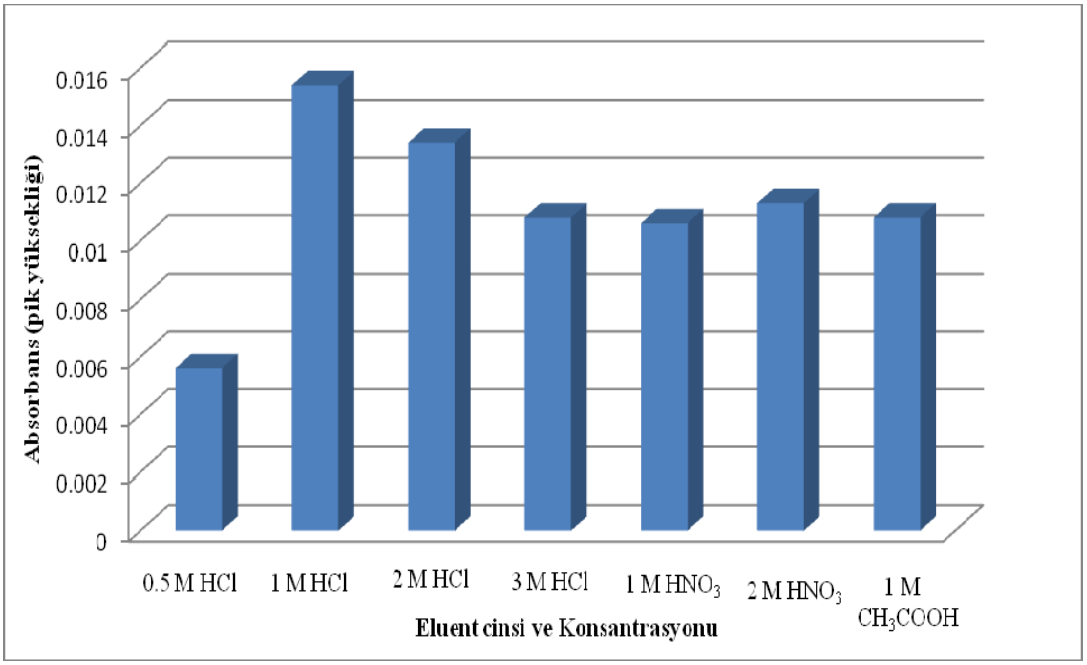


Şekil 4.1 Kurşunun kolon üzerinde alıkonmasına pH' nın etkisi

(Pb: 10 mL 1.0 mg/L, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk)

4.2. Eluent Cinsi ve Eluent Konsantrasyonu Etkisi

TiO_2 nanopartikülleri üzerine immobilize edilmiş koliform grup bakterisi ile dolu kolon üzerinde alıkonan kurşunun geri kazanılması amacıyla değişik konsantrasyonlarda değişik eluentler hazırlandı. Eluent cinsinin ve eluent konsantrsayonunun belirlenmesi çalışmasında ilk olarak kurşunun kolonda alıkonması için pH değeri 6.0 olan 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltisi kolondan 4.76 mL/dk akış hızında geçirildi ve daha sonra aynı akış hızında, kolonu yıkamak için 45 sn boyunca ultra saf su kolondan geçirildi. Son olarak, alıkonan kurşunun geri kazanılması için 1.72 mL/dk akış hızında sırası ile kolondan 0.5 M, 1.0 M, 2.0 M ve 3.0 M hidroklorik asit, 1.0 M ve 2.0 M nitrik asit ve 1.0 M asetik asit çözeltilerin her birinden 192 µL geçirildi ve en yüksek pik sinyal değeri kayıt edildi. Alıkonan kurşunun geri kazanılmasında eluent cinsi ve eluent konsantrasyonun etkisi Şekil 4.2' de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar grafiğe aktarıldığında en yüksek pik sinyal değeri 1.0 M hidroklorik asit çözeltisi için gözlemlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda elusyon çözeltisi olarak 1.0 M hidroklorik asit kullanılmıştır.

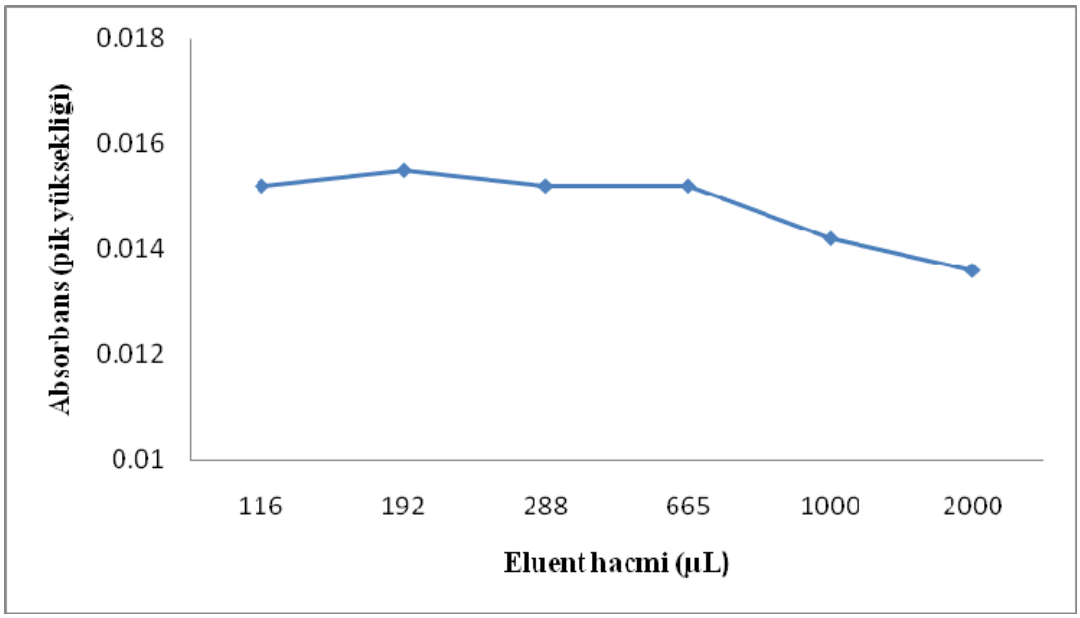


Şekil 4.2 Kurşunun geri kazanılmasında eluent cinsi ve eluent konsantrasyonun etkisi

(Pb: 10 mL 1.0 mg/L, pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk)

4.3. Eluent Hacminin Etkisi

Eluent cinsi ve konsantrsayonu belirlendikten sonra eluent hacmi belirlenmesi çalışmaları yapılmıştır. Bunun için değişik hacimlerde 1.0 M hidroklorik asit çözeltileri kullanılmıştır. Eluent hacminin belirlenmesi çalışmasında ilk olarak kurşunun kolonda alıkonması için pH değeri 6.0 olan 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltisi kolondan 4.76 mL/dk akış hızında geçirildi ve daha sonra aynı akış hızında, kolonu yıkamak için 45 sn boyunca ultra saf su kolondan geçirildi. Son olarak, alıkonan kurşunun geri kazanılması için 1.72 mL/dk akış hızında 1.0 M hidroklorik asit çözeltisinin sırası ile 116, 192, 288, 665, 1000 ve 2000 µL' lik hacimleri kolondan geçirildi ve en yüksek pik sinyal değeri kayıt edildi. Alıkonan kurşunun geri kazanılmasında eluent hacminin etkisi Şekil 4.3' de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar grafiğe aktarıldığında en yüksek pik sinyal değeri 192 µL eluent hacmi için gözlemlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda eluent hacmi için 192 µL kullanılmıştır.

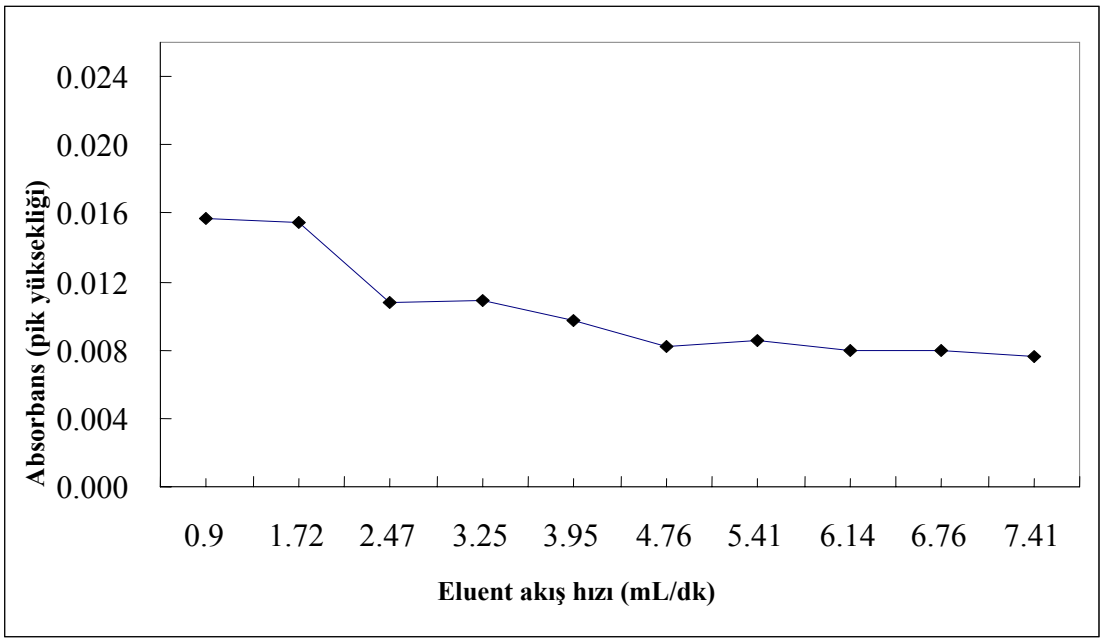


Şekil 4.3 Eluent hacminin etkisinin belirlenmesi

(Pb: 10 mL 1.0 mg/L, pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk)

4.4. Eluent Akış Hızının Etkisi

Elunet akış hızının belirlenmesi çalışmalarında ilk olarak kurşunun kolonda alıkonması için pH değeri 6.0 olan 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltisi kolondan 4.76 mL/dk akış hızında geçirildi ve daha sonra aynı akış hızında, kolonu yıkamak için 45 sn boyunca ultra saf su kolondan geçirildi. Son olarak, alıkonan kurşunun geri kazanılması için sırası ile 0.90, 1.72, 2.47, 3.25, 3.95, 4.76, 5.41, 6.14, 6.76, 7.41 mL/dk akış hızlarında 192 µL 1.0 M hidroklorik asit çözeltisi geçirildi ve en yüksek pik sinyal değeri kayıt edildi. Eluent akış hızının etkisi Şekil 4.4' de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar grafiğe aktarıldığında eluent akış hızının 1.72 mL/dk olduğu görülmektedir.

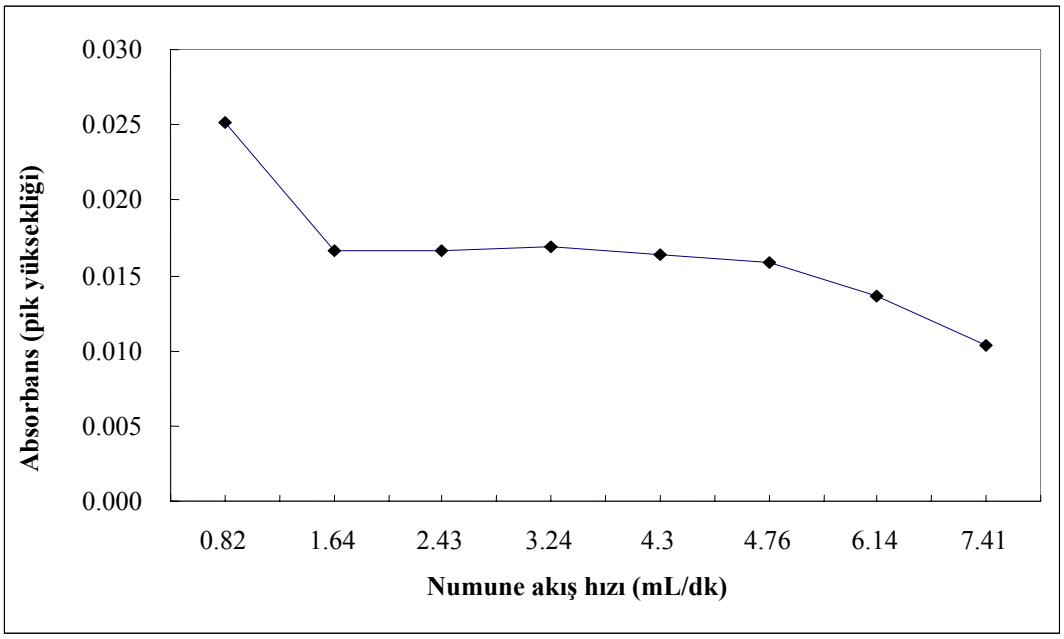


Şekil 4.4 Eluent akış hızının etkisinin belirlenmesi

(Pb: 10 mL 1.0 mg/L, pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL)

4.5. Numune Akış Hızının Etkisi

Numune akış hızının etkisinin belirlenmesi çalışmalarında ilk olarak kurşunun kolonda alıkonması için pH değeri 6.0 olan 10 mL 1.0 mg/L kurşun çözeltileri kolondan sırası ile 0.82, 1.64, 2.43, 3.24, 4.3, 4.76, 6.14, 7.41 mL/dk akış hızlarında geçirildi. Kolonu yıkamak için 45 sn boyunca ultra saf su kolondan geçirildi. Son olarak, alıkonan kurşunun geri kazanılması için 1.72 mL/dk akış hızında 192 µL 1.0 M hidroklorik asit çözeltisi geçirildi ve pik sinyal değeri kayıt edildi. Numune akış hızının etkisi Şekil 4.5' de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar grafiğe aktarıldığında numune akış hızının 4.76 mL/dk olduğu gözlemlenmiştir. Bundan sonraki çalışmalarda numune akış hızı için 4.76 mL/dk kullanılmıştır.

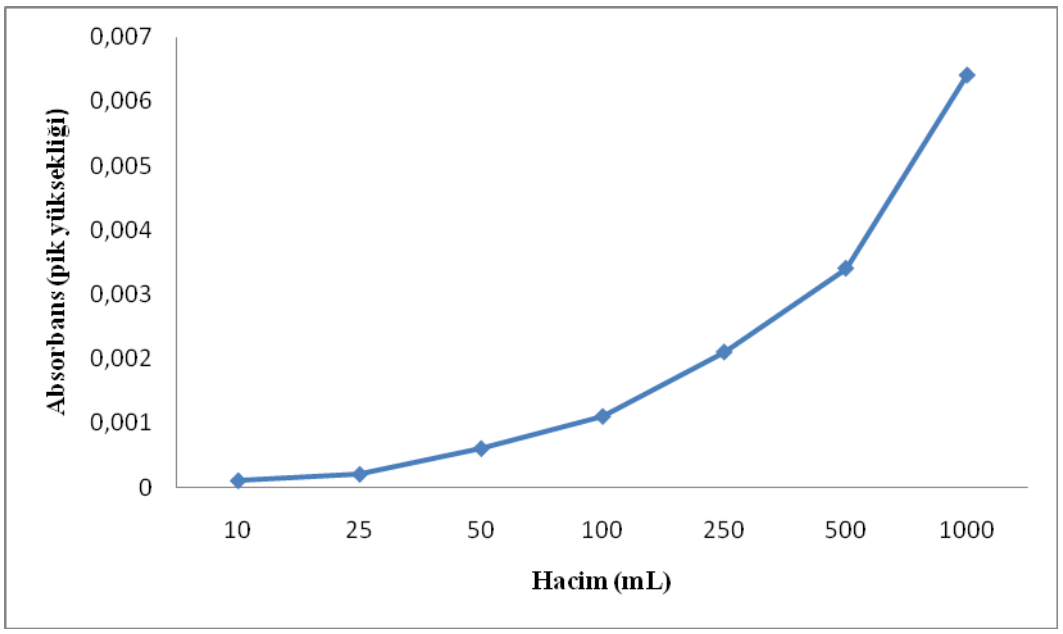


Şekil 4.5 Numune akış hızı etkisinin belirlenmesi

(Pb: 10 mL 1.0 mg/L, pH: 6.0, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk)

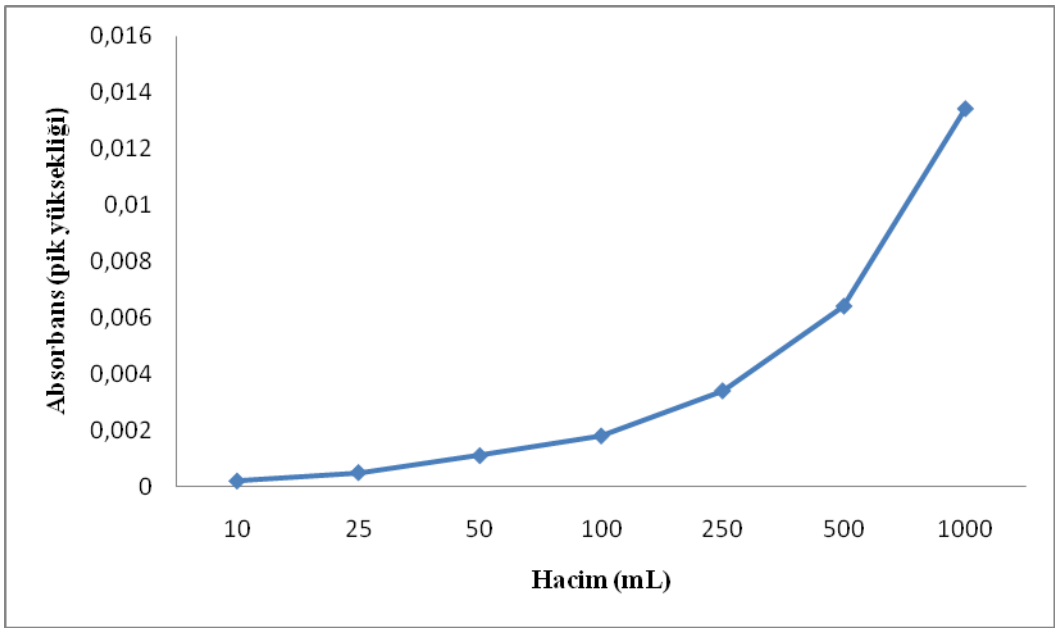
4.6. Kalibrasyon Çalışmaları

Kalibrasyon çalışmaları için 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mL' lik 5.0, 10, 15 µg/L konsantrasyonlarında kurşun çözeltileri kullanılmıştır. 5.0, 10 ve 15 µg/L konsantrasyonunda 10, 25, 50, 100, 250, 500 ve 1000 mL' lik kurşun çözeltilerinin zenginleştirilmesine ait grafikler Şekil 4.6, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8' de verilmiştir.



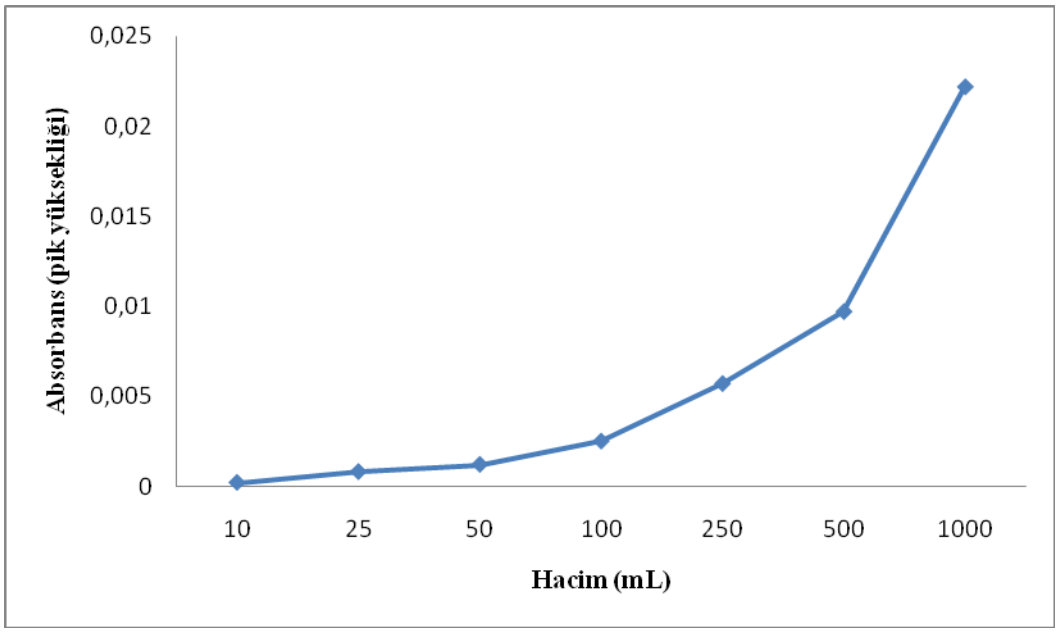
Şekil 4.6 5.0 µg/L kurşunun 10-1000 mL hacimlerinde zenginleştirilmesi

(Pb: 5.0 µg/L, pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk)



Şekil 4.7 10 µg/L kurşunun 10-1000 mL hacimlerinde zenginleştirilmesi

(Pb: 10 µg/L**,** pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk)



Şekil 4.8 15 µg/L kurşunun 10-1000 mL hacimlerinde zenginleştirilmesi

(Pb: 15 µg/L**,** pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk)

Bu zenginleştirme grafikleri kullanılarak Kalibrasyon denklemi;

A = 0.0016 [Pb (µg/L)] + 0.0006] olarak bulunmuştur.

Bu denklemde A, pik yüksekliğini göstermektedir. Kalibrasyon katsayısı (n=3) 0.9956 olarak bulunmuştur.

4.8. Gerçek Numunelerde Kurşun Tayini

Kalibrasyon denklemi bulunduktan sonra ilk olarak referans standart maddede kurşun tayini yapılmıştır. Referans madedede kurşun tayini tablo 4.1' de verilmiştir.

Tablo 4.1 Standart Referans maddede kurşun tayini

	Pb (µg/g)	
	Sertifiye değer	Bulunan değer
GBW 07605-Tea	4.4 ± 0.2	4.5 ± 0.1

(pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk, Numune hacmi: 250 mL)

Referans maddede kurşun analizinden sonra nehir suyu (Tunca Nehri), şarap, bebek maması örnekleri analiz edilmiştir. Örneklerin analizleri tablo 4.2' de verilmiştir.

Tablo 4.2 Çeşitli numunelerdeki kurşunun tayini

Numune	**İlave edilen Pb**	[a] **Bulunan Pb**	**Recovery (%)**
Nehir Suyu (µg/L)	-	-	-
	5.0 µg/L	4.9 ± 0.2	98.6
	10 µg/L	10.1 ± 0.4	101.4
Kırmızı Şarap (Ticari) (µg/L)	-	1.6 ± 0.1	-
	5.0 µg/L	6.6 ± 0.2	100.2
	10 µg/L	11.5 ± 0.8	99.5
Kırmızı Şarap (Ev Yapımı) (µg/L)	-	-	-
	5.0 µg/L	4.0 ± 0.3	98.4
	10 µg/L	9.9 ± 1.0	99.5
Bebek Bisküvisi (µg/kg)	-	53.1 ± 4.5	-
Sütlü Tahıl Karışımı Bebek Maması (µg/kg)	-	37.5 ± 2.8	-
Sebzeli ve Meyveli Püre Bebek Maması (µg/kg)	-	34.4 ± 2.1	-

[a] %95 güven aralığı

(pH: 6.0, Numune akış hızı: 4.76 mL/dk, Eluent: 1.0 M HCl, Eluent hacmi: 192 µL, Eluent akış hızı: 1.72 mL/dk, Numune hacmi: 250 mL)

Tablo 4.3 Titanyum dioksit (TiO_2) nanopartiküllere tutturulmuş *koliform* ile kurşunun ayrılması/zenginleştirilmesi ve alevli atomik absorpsiyon spektrometresi ile tayini metodunun diğer metodlar ile karşılaştırılması

Metod	Örnekler	pH	Eluent	Akış hızı mL/dk	RSD %	Teşhis Limiti µg/L	Kaynak
Diaion HP-2MG üzerine tutturulmuş *Anoxybacillus gonensis*	Su, gıda ve yosun	6.0	8 mL, 1 mol/L HNO_3	10.0	<9	2.0	(Duran vd., 2009)
Diaion HP-2MG üzerine tutturulmuş *Aspergillus fumigatus*	Su, gıda ve yol tozu	8.0	8-10 mL, 1 mol/L HCl	5.0	<7	0.52	(Soylak vd., 2006)
Diaion SP-850 üzerine yüklenmiş *Bacillus sphaericus*	Su, idrar, gıda ve toprak	6.0	8-10 mL, 1 mol/L HCl	5.0	<5	0.75	(Tüzen vd., 2007)
TiO_2 üzerine yüklenmiş *Filamentous fungal*	Su	4.0	0.288 mL, 1 mol/L HCl	9.1	<9	0.78	(Bakırcıoğlu vd., 2010)
Sepabeads SP 70 üzerine yüklenmiş *Penicillium italicum*	Su, liken, yosun ve gıda	9.0	8-10 mL, 1 mol/L HCl	5.0	-	2.70	(Mendil vd., 2008)
TiO_2 üzerine tutturulmuş *koliform*	Su, şarap ve bebek mamaları	6.0	0.192 mL, 1 mol/L HCl	4.8	<4	0.90	Bu Tez Çalışması

Tablo 4.2’ den görüldüğü gibi alevli atomik absorpsiyon spektrometresi kullanılarak TiO_2 üzerine tutturulmuş koliform grup bakterileri ile dolu kolonda kurşunun önzenginleştirilmesi ve tayini başarı ile sağlanmıştır.

Tablo 4.3’ de görüldüğü üzere literatürlerde rapor edilen kurşun tayini için mevcut biyosorpsiyon yöntemlerinin karakteristik verileri karşılaştırılmıştır. Genel olarak, TiO_2 nanopartiküllere tutturulmuş *koliform* ile gerçekleştirilen biyosorpsiyon metodu diğer yöntemlere göre verimli analit elüsyonu için düşük asit hacmi gerektirmekte ve daha hassas sonuçlar elde edilmektedir. Ayrıca teşhis limiti diğer metodlardan daha iyidir. Bunlara ek olarak bu metod sayesinde büyük bir zenginleştirme faktörüne (250 mL örnek hacmi ve 0.192 mL eluent hacmi için 1300) ulaşılmıştır. Daha önceki çalışmalarda zenginleştirme faktörü 868’dir. Eluent hacmi 192 μL’ ye kadar düşürülerek kullanılan kimyasal madde miktarı azaltılmıştır. Bu metot ile hem madde hem de hız bakımından avantaj sağlamasının yanında diğer elementlerden dolayı oluşabilecek girişimlerin etkisi de minimuma indirgenmiştir.

KAYNAKLAR

Ahmad, A.L., Bhatia, S., Ibrahim, N., Sumathi, S., (2005), "Adsorption of residual oil from palm oil mill effluent using rubber powder", Brazilian Journal of Chemical Engineering, 22.

Aksu, Z., Sag, Y., Kutsal, T., (1992), "The biosorption of copper (II) by *C. vulgaris* and *Z. ramigera*", Environ.Technol., (13) : 579-586.

Alfredo, Sanz-Medel., (1999), "Flow Analysis with Atomic Spectrometric Detectors", 13-33.

Armağan, F., (2000), "Kolonda Katı Faz Özütleme ile Bazı Eser Elementlerin Zenginleştirilmesi", Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.

Aydemir, E., (2001), " Tokat Yöresi Yesilırmak Nehrinde Bazı Fiziksel ve Kimyasal Parametrelerin Arastırılması", Yüksek Lisans Tezi, Gaziosmanpasa Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tokat.

Bakırcıoğlu, Y., Bakırcıoğlu, D., Akman, S., (2010), "Biosorption of lead by filamentous fungal biomass-loaded TiO2 nanoparticles", J Hazard Mater 178:1015–1020.

Beveridge TJ., (1976), "Murray RGE. Uptake and retention of metals by cell walls of Bacillus subtilis", J Bacteriol;127:1502–18.

Beveridge, TJ., Murray, RGE., (1980), "Sites of metal deposition in the cell wall of Bacillus subtilis", J Bacteriol;141:876–87.

Beveridge, TJ., (1999), "Structures of Gram-negative cell walls and their derived membrane vesicles", J Bacteriol;181:4725–33.

Bilgehan, H., (1996), "Klinik mikrobiyoloji, özel bakteriyoloji ve bakteri enfeksiyonları" Bilgehan Basımevi, İzmir, 45-52.

Brierley, C.L.,(1990), "Bioremediation of metal-contamined surfaces and groundwaters", Geomicrobiol. J., (8): 201-223.

Brierley, J.A., (1990), "Production and application of a *Bacillus*-based product for use in metals biosorption. Biosorption of heavy metal", (Volesky, B.,-ed) 305-312, CRC Basımevi, Boca Raton, FL.

Cabral, J.P.S., (1992), "Selective binding of metal ions to *Pseudomonas syringae* cells", Microbios, 71: 47–53.

Carito, SL., Bazil, SL., Digiacomo, G., (1967), "X-ray diffraction studies on selected bacterial cell walls", J Bacteriol;93:122–4.

Costa, A.C.A.,Leite, S.G.F., (1990), "Cadmium and zinc biosorption by *Chlorellahomosphaera"*, Biotechnol.Lett., 12,(12) : 941-944.

Crini, G., (2006), "Non-conventional low-cost adsorbents for dye removal: a review", Biores Technol; 97:1061–85.

Crist, R.H., Oberholser, K., Shank, N., Nguyen, M., (1981), "Nature of bonding between metallic ions and algal cell walls", Environ Sci Technol 15, 1212-1217.

Crowell, A.D., (1966), "Surface forces and solid-gas interface", In: E. Alison Flood (Editor), The Solid-Gas Interface. Marcel Dekker, New York.

Çubukçu, H. E., (1998), "Krom(VI), Bakır(II), Demir(II) iyonlarının tek ve çok bileşenli metal sistemlerinde *R. arrhizus*'la biyosorpsiyonunun sürekli karıştırmalı kaplarda incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 95s.

Deng, L., Su, Y., Su, H., Wang, X., Zhu, X., (2007), "Sorption and desorption of lead (II) from wastewater by green algae Cladophora fascicularis", Journal of Hazardous Materials, 143, 220-225.

Doyle RJ., Matthews TH., Streips UN., (1980), "Chemical basis for selectivity of metal ions by the Bacillus subtilis cell wall", J Bacteriol;143:471–80.

Duran, C., Bulut, VN., Gündoğdu, A., Soylak, M., Beldüz, AO., Beris, FS., (2009), "Biosorption of heavy metals by Anoxybacillus gonensis immobilized on Diaion HP-2MG", Sep Sci Technol 44:335–358.

Dziwulska, U., Bajguz, A., Godlewska-Zylkiewicz, B., (2004), "The use of algae Chlorella vulgaris immobilized on Cellex-T support for separation/ preconcentration of trace amounts of platinum and palladium before GFAAS determination", Anal Lett 37:2189–203.

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

Fang, Z., (1995), "Flow İnjektion Atomik Absorption Spectrometry".

Fiol, N., Villaescusa, I., Martínez, M., Miralles, N., Poch, J., Serarols, J., (2006), "Sorption of Pb(II), Ni(II), Cu(II) and Cd(II) from aqueous solution by olive stone waste", Sep Purif Technol;50:132–40.

Forgacs, E., Cserhati, T., Oros, G., (2004), "Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review", Environ Int; 30:953–71.

Friis, N., Myers-Keith, P., (1986), "Biosorption of uranium and lead by *Streptomyces longwoodensis*", Biotechnol. Bioeng., 28: 21-28.

Fu, Y., Viraraghavan, T., (2001), "Fungal decolorization of dye wastewaters: a review", Biores Technol;79:251–62.

Gadd, G.M., White, C., De Rome, L., (1988), "Heavy metal and radionuclide uptake by fungi and yeasts", P.R. Norris and D.P. Kelly (Editors), Biohydrometallurgy. A. Rowe, Chippenham, Wilts., UK.

Gıda Mikrobiyolojisi ve Uygulamaları, (2000), Genişletilmiş 2. Baskı; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Gıda Mühendisliği Bölümü yayını. Sim Matbaası, Ankara 522 s.

Gourdon, R., Bhende, S., Rus, E., Sofer, S.S., (1990), "Comparision of cadmium biosorption by gram-positive and gram-negative bacteria from activated sludge", Biotechnol. Lett., 12, (11) : 839-842.

Greene, B., McPherson, R., Darnall, D., (1987), "Algal sorbents for selective metal ion recovery. Metal speciation, separation and recovery", (Patterson, J.W., Pasino, R.,-eds) 315-338, Lewis, Chelsea, MI, USA.

Gürgün, V. ve Halkman, A.K., (1988), "Mikrobiyolojide sayım yöntemleri" *Gıda teknolojisi dernegi yayını* No: 7, Son Matbaacılık, Ankara, 146. 371-379.

Hazer, O., (2003), "Çevre Örneklerinde Bazı Eser Ağır Metallerin AAS ile Tayini", Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.

Horsfall, M.J., Spiff, A.I., (2005), "Effects of temperature on the sorption of Pb^{+2} and Cd^{+2} from aqueous solution by Caladium bicolor (Wild Cocoyam) biomass", Electronic Journal of Biotechnology, 8, 143-150.

Huang, C.P., Huang, C.P. and Morehart, A.L., (1990), "The removal of Cu (II) from dilute aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae*", Water Res., 24: 433-439.

Hunt, S., (1986), "Diversity of biopolymer structure and its potential for ion-binding applications. Immobilisation of ions by bio-sorption", (Eccles, H., Hunt, S.,- eds) 15-45, Ellis Horwood,Chichester.

Iupac, (1978), "Spectrochim", Acta, Part B 33, 247-269.

Jiang, W., Saxena, A., Song, B.,Ward, BB., Beveridge, TJ., Myneni, SCB., (2004), "Elucidation of functional groups on Gram-positive and Gram-negative bacterial surfaces using infrared spectroscopy", Langmuir;20:11433–42.

Kadukova, J., Vircikova, E., (2005), "Comparison of differences between copper bioaccumulation and biosorption", Environ Int;31:227–32.

Kapoor, A., Viraraghavan, T., (1997), "Heavy Metal Biosorption Sites In *Aspergillus niger*", Biorsource Technology. 61, 221-227.

Kapoor, A., Viraraghavan, T., Cullimore, D. R. (1999), "Removal Of Heavy Metals Using Fungus *Aspergilus niger*", Bioresource Technology. 70, 95-104.

Kazy, SK., Das, SK., Sar, P., (2006), "Lanthanum biosorption by a Pseudomonas sp.: equilibrium studies and chemical characterization", J Ind Microbiol Biotech;33:773–83.

Kelly, SD., Kemner, KM., Fein, JB., Fowle, DA., Boyanov, MI., Bunker, BA., Yee, N., (2002), "X-ray absorption fine structure determination of pH-dependent U-bacterial cell wall interactions", Geochim Cosmochim Acta;66:3855–71.

Keskinler B., Çakıcı A., Yıldız E., (1994), "Çevre Mühendisligi Temel işlemler ve Prosesler Ders Notları", Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

Kolenbrander, PE., Ensign, JC., (1968), "Isolation and chemical structure of the peptidoglycan of Spirillum serpens cell walls", J Bacteriol;95:201–10.

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

Lajunen, L.H.J., (1992), "Spectrochemical Analysis by Atomic Absorption and Emission", The Royal Society of Chemistry, British, 1, 55 72-116.

Lauri, A., Lajunen, H.J., (1992), "Spectrochemical Analysis by Atomik Absorption and Emission", Royal Society of Chemistry.

Lewis, D., Kiff, R. J. (1998), "The Removal Of Heavy Metals From Aqueous Effluents By Immobilized Fungal Biyomass", Environmental Technology. 9, 991-998.

Lian, N., Chang, X.J., Zheng, H., Wang, S., Cui, Y.M., and Zhai, Y.H., (2005), " Application of dithizone-modified TiO_2 nanoparticles in the preconcentration of trace chromium and lead from sample solution and determination by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry", Microhim.Acta, 151:81-88.

Lopez, A., Lazaro, N., Priego, JM., Marques, AM., (2000), "Effect of pH on the biosorption of nickel and other heavy metals by Pseudomonas fluorescens 4F39", J Ind Microbiol Biotech;24:146–51.

Lu, W-B., Shi, J-J., Wang, C-H., Chang, J-S., (2006), "Biosorption of lead, copper and cadmium by an indigenous isolate Enterobacter sp. J1 possessing high heavy-metal resistance", J Hazard Mater;134:80–6.

Macaskie, L.E., Dean, ACR., (1990), "Metal-sequestering biochemicals. Biosorption of heavy metals" (Volesky, B.,-ed) 199-248, CRC Basımevi, Boca Raton, FL.

Madrid, Y., Cámara, C., (1997), "Biological substrates for metal preconcentration and speciation", Trends Anal Chem;16:36–44.

Mann, H., (1990), "Biosorption of heavy metals by bacterial biomass. Biosorption of heavy metals", (Volesky, B.,-ed) 93-137, CRC Press, Boca Raton, FL.

Matheickal, J.T., Iyengar, L., Vencobar, C., (1991), "Sorption And Desorption Of Cu (II) By *Genoderma lucidum*", Water Pollution Research Journal Of Canada. 26, 187-200.

McLean, RJC., Beauchemin, D., Beveridge, TJ., (1992), "Influence of oxidation-state on ironbinding by Bacillus licheniformis capsule", Appl Environ Microbiol;55: 3143–9.

Mendil, D., Tüzen, 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.

Minczevski, J., Chwastowska, J., Dybezynski, D., (1982), "Separation and Preconcentration Methods in Inorganic Analysis", Ellis Horwood, Chichester.

Mullen, MD., Wolf, DC., Ferris, FG., (1989), "Beveridge F, Flemming CA, Bailey GW. Bacterial sorption of heavy metals", Appl Environ Microbiol;55: 3143–9.

Mungasavalli, D.P., Viraraghavan, T., Jin, Y.C., (2007), "Biosorption of chromium from aqueous solutions by pretreated *Aspergillus niger*: Batch and column studies", *Colloids and Surfaces A:* Physicochemical Engineering Aspects, vol. 301, no. 1-3, p. 214-223.

Natura, NC., Funaga, N., No MG., (1998), "Thin Solid Films", 322,6.

Niu, H., Volesky, B., (2003), "Characteristics of anionic metal species biosorption with waste crab shells", Hydrometallurgy;71:209–15.

Nourbakhsh, M., et al., (1994), "A comparative study of various biosorbents for removal of chromium (VI) ions from industrial waste waters", Process Biochem, 29:1-5.

Özer A., Özer D., Ekiz HI., (2004), "The equilibrium and kinetic modeling of the biosorption of copper(II) ions on Cladophora crispata. Adsorption" 10:317–26.

Pandey, A., Singh, P., (2007), "Iyengar L. Bacterial decolorization and degradation of azo dyes", Int Biodeterior Biodegrad; 59:73–84.

Parsons, JG., Gardea-Torresdey, JL., Tiemann, KJ., Gamez, G., (2003), "Investigation of trace level binding of $PtCl_6$ and $PtCl_4$ to alfalfa biomass (Medicago sativa) using Zeeman graphite furnace atomic absorption spectrometry", Anal Chim Acta;478:139–45.

Pearson, RG., (1968), "Hard and soft acids and bases, HSAB, Part I Fundamental principles", J Chem Educ;45:581–7.

Peng, T.Y., Koon, T.W., (1993). "Biosorption of cadmium and copper by *Saccharomyces cerevisiae*", Microb. Util. Renewable Resour., 8: 494-504.

Phoenix, VR., Martinez, RE., Konhauser, KO., Ferris, FG., (2002), "Characterization and implications of the cell surface reactivity of Calothrix sp", strain KC97. Appl Environ Microbiol;68:4827–34.

Remacle, J., (1990), "The cell wall and metal binding. Biosorption of heavy metals", (Volesky, B.,-ed) 83-92, CRC Basımevi, Boca Raton, FL.

Rogers, HJ., Perkins, HR., Ward, JB., (1980), "Microbial cell walls and membranes", London: Chapman and Hall.

Salton, MRJ., (1964), "The bacterial cell wall", Amsterdam: Elsevier.

San N., (1997), "Heterojen Fotokatalitik Degradasyon; Aromatik Kirleticilerin Sulu TiO_2 Suspansiyonlarında Fotokatalitik Degradasyon Kinetiğinin İncelenmesi", Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, YTÜ, İstanbul.

Scott, J.A., Palmer, S.J., (1990), "Sites of cadmium uptake in bacteria used for biosorption". Appl. Microbiol.Biotechnol., 33: 221-225.

Sherbert, GV., (1978), "The biophysical characterization of the cell surface", London: Academic pres.

Sheu, CW., Freese, E., (1973), "Lipopolysaccharide layer protection of gram-negative bacteria against inhibition by long-chain fatty acids", J Bacteriol;115: 869–75.

Skoog, D.A., (1985), "Principles of Instrumental Analysis", 3rd Ed., CBS College Publ, 271-273.

Skoog, D.A., Holler,F. J., Nieman T.A., (1997), "Enstrümental Analiz İlkeleri",5th. Ed.,Bilim Yay.

Skoog, D., West, D.M., Holler, F.J., (1999), Çeviri editörleri; Kılıç, E., Köseoğlu, F., "Analitik Kimya" Cilt.II, Bilim Yayınları.

Sonnenfeld, EM., Beveridge, TJ., Koch, AL., Doyle, RJ., (1985), "Asymmetric distribution of charge on the cell wall of Bacillus subtilis", J Bacteriol;163:1167–71.

Soylak, M., (1993), "Kayseri ve Çevresindeki Şifalı Suların Kimyasal İncelenmesi ve Tungsten Tayini İçin Yeni Bir Yaklaşım", Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kayseri.

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

Texier, AC., Andres, Y., Illemassene, M., Le Cloirec, P., (2000), "Characterization of lanthanide ions binding sites in the cell wall of Pseudomonas aeruginosa", Environ Sci Technol;34:610–5.

Tokalıoğlu, S., (1997), "Sultansazlığı Su ve Sediment Örneklerinde Metal Türlemesi ve Faktör Analizi", Doktora Tezi, Erciyes Üniversitesi, Kayseri.

Tsezos, M., Remoudaki, E., Angelatou, V., (1996), "A study of the effects of competing ions on biosorption of metals", Int Biodeterior Biodegrad;38:19–29.

Tsezos, M., Volesky, B., (1981), "Biosorption of uranium and thorium", Biotechnol. Bioeng; 23: 583-604.

Tsezos, M., Volesky, B., (1982), "The mechanism of uranium biosorption by *Rhizopus arrhizus*", Biotechnol.Bioeng., 24: 385-401.

Tsezos, M., Volesky, B., (1982), "The mechanism of thorium biosorption by *Rhizopus arrhizus*", Biotechnol.Bioeng., 24: 955-969.

Tunali, S., Çabuk, A., Akar, T., (2006), "Removal of lead and copper ions from aqueous solutions by bacterial strain isolated from soil", Chem Eng J;115:203–11.

Tüzen, M., Uluozlu, OD., Usta, C., Soylak, M., (2007) "Biosorption of copper(II), lead(II), iron(III) and cobalt(II) on Bacillus sphaericusloaded Diaion SP-850 resin", Anal Chim Acta 581:241–246.

Ucun, H., (2001), "Sarı Çam (*Pinus sylvestris*) kozalağı biyoması kullanılarak atıksulardaki ağır metallerin biyosorpsiyonu", Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum, 54 s.

Vandecasteele, C. and Block, C.B., (1993), "Modern Methods for Trace Element Determination", John Wiley&Sons Ltd., England.

Van der Wal, A., Norde, W., Zehnder, AJB., Lyklema, J., (1997), "Determination of the total charge in the cell walls of gram-positive bacteria", Colloids Surf. B Biointerfaces; 9: 81–100.

Vannela, R., Verma, SK., (2006), "Cu^{2+} removal and recovery by SpiSORB: batch stirred and up-flow packed bed columnar reactor systems", Bioprocess Biosyst Eng;29:7–17.

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

Vieira, R. H. S. F., Volesky, B., (2000), "Biosorption: a solution to pollution", Internal Microbiology 3:17-24.

Vijayaraghavan, K., Han, MH., Choi, SB., Yun, YS., (2007), "Biosorption of Reactive black 5 by Corynebacterium glutamicum biomass immobilized in alginate and polysulfone matrices", Chemosphere; 68:1838–45.

Volesky, B., (1987), "Biosorbents for metal recovery", TIBTECH; 5:96–101.

Volesky, B., Schiewer, S., (1999), "Biosorption of metals. In: FlickingerM, DrewSW, editors. Encyclopedia of Bioprocess Technology", New York:Wiley; 433–53.

Welz, B., (1985), "Atomik Absorption Spectrometry", Second Ed. VCH, 19-349.

Welz, B., Sperling M., (1999), "Atomic Absorption Spectrometry", 3rd Revised Ed.,Wıley-VCH, 149, 516.

Yalçuk, A., (1999), "Sürekli karıştırmalı reaktörlerde *Rhizopus arrhizus* ile çoklu metal karışımlarında yarışmalı biyosorpsiyonun incelenmesi", Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 167 s.

Yee, N., Fein, J., (2001), "Cd adsorption onto bacterial surfaces: a universal adsorption edge", Geochim Cosmochim Acta;65:2037–42.

Yu, J., Tong, M., Sun, X., Li, B., (2007), "A simple method to prepare poly (amic acid)-modified biomass for enhancement of lead and cadmium adsorption", Biochem Eng J;33: 126–33.

Zeev B, Alfassi., (1994), "Determination of Trace Elements", VCH: Weinheim.

Zhang, L., Zhao, L., Yu, Y. T., Chen, C. Z. (1998), "Removal Of Lead From Aqueous Solution By Non-Living *Rhizopus nigricans*", Water research. 32, 1437-1444.



Gökhan UÇAR

ÖZGEÇMİŞ

23.Ocak.1986 tarihinde Kırklareli'de doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Kırklareli'de tamamladım. 2004 senesinde Kırklareli Anadolu Lisesinden mezun olduktan sonra 2005 yılında Lisans eğitimime Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümünde başladım. 2009 senesinde Lisans eğitimimi tamamladıktan sonra aynı sene Eylül döneminde Trakya Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü Analitik Kimya Anabilim Dalında Yüksek Lisans eğitimi almaya başladım.